



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

*“IDENTIFICACIÓN DE LEPTOSPIROSIS EN
AGRICULTORES DE LA PARROQUIA
GUADALUPE DE LA PROVINCIA DE
ZAMORA CHÍNCHIPE Y SU RELACIÓN CON
FACTORES DE RIESGO”*

Tesis previa a la Obtención
del Título de Licenciado en
Laboratorio Clínico

AUTOR:

Andrés Gabriel Carrión Plaza

DIRECTORA:

Dra. Maricela del Rosario López Morocho, Mg. Sc.

Loja - Ecuador

2016

CERTIFICACIÓN DE APROBACIÓN

Dra. Maricela del Rosario López Morocho, Mg.Sc.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación denominado “IDENTIFICACIÓN DE LEPTOSPIROSIS EN AGRICULTORES DE LA PARROQUIA GUADALUPE DE LA PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE Y SU RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO”, llevado a cabo por el egresado ANDRÉS GABRIEL CARRIÓN PLAZA, previo a la obtención del título de Licenciatura en Laboratorio Clínico, ha sido dirigido y prolijamente revisado desde el inicio de su ejecución; por lo tanto, se autoriza su presentación para la calificación correspondiente.

Loja, Diciembre del 2015



Dra. Maricela del Rosario López Morocho, Mg.Sc.
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, **Andrés Gabriel Carrión Plaza** declaro ser autor (a) del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Andrés Gabriel Carrión Plaza

Firma: 

Cédula: 1104206618

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR, PARA LA
CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN
ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.**

Yo, **Andrés Gabriel Carrión Plaza**, declaro ser autor de la Tesis titulada **“IDENTIFICACIÓN DE LEPTOSPIROSIS EN AGRICULTORES DE LA PARROQUIA GUADALUPE DE LA PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE Y SU RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO”**, como requisito para optar al grado de Licenciado en Laboratorio Clínico: autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDL, en las redes de información del País y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja a los 6 días del mes de Enero del año 2016, firma el autor.

Firma:.....

Autor: Andrés Gabriel Carrión Plaza

Cedula: 1104206618

Dirección: Celi Román (Calle Adolfo Valarezo y Carlos Román)

Correo: andy_cp_080191@hotmail.com

Teléfono: 0993751496

Datos Complementarios:

Directora de Tesis: Dra. Maricela del Rosario López Morocho, Mg. Sc.

Tribunal de Grado:

Presidente: Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc.

Miembro: Lic. María del Cisne Loján González, Mg. Sc.

Miembro: Lic. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Sc.

DEDICATORIA

Dedico éste trabajo investigativo y toda mi carrera universitaria a Dios por acompañarme en todo momento, brindándome las fuerzas necesarias para continuar luchando día a día, superando todos los obstáculos que se me presenten.

A mi madre, a mi hermana y a toda mi familia, quienes me han apoyado todos estos años; por su infinito amor, cariño y comprensión, por acompañarme en las buenas y en las malas, por ayudarme a que éste sueño se haga realidad.

A todos mis amigos; por ayudarme a crecer, madurar como persona y estar siempre conmigo apoyándome en todas las circunstancias posibles.

En fin, éste proyecto está dedicado a todos y cada uno de nosotros que con gran esfuerzo y sacrificio: tanto familiares, laborales y personales, vemos hoy por sentado el más importante de nuestros logros.

AGRADECIMIENTO

Al término de una de las metas planteadas, debo agradecer principalmente a *Dios*, luz divina que guía mi vida y me ha permitido llegar hasta este momento. A mi madre, a mi hermana y a toda mi familia; fuentes de inspiración quienes de forma incondicional han estado conmigo; gracias por el apoyo y la confianza en las distintas facetas de la vida que convergen hoy en mi graduación. Los quiero por todo su amor, comprensión, motivación y constancia brindada a lo largo de mi carrera.

A la Universidad Nacional de Loja que en su visión de excelencia en Educación Superior, hicieron realidad mis sueños y aspiraciones. A mi tutora, la Dra. Mg. Sc Maricela López M, quien con su gran calidad científica y humana es un ejemplo a seguir y le agradezco sinceramente su confianza, paciencia y todo el apoyo brindado.

A los profesores que a lo largo de nuestras vida estudiantil siempre nos orientaron, guiaron y por haber mostrado verdadera capacidad al enseñar.

A los habitantes de la Parroquia Guadalupe que me colaboraron con su participación para llevar a cabo el presente trabajo investigativo. A todo el personal que labora en las instalaciones del Distrito de Salud de la ciudad de Zamora Chinchipe, así como el personal que labora en las instalaciones del Centro de Salud de la parroquia Guadalupe; por el apoyo y las facilidades que se me brindaron para efectuar el desarrollo de la investigación.

A todos los amigos con los que he compartido tantas experiencias, aventuras, desveladas y triunfos; gracias a cada uno por ayudarme a crecer como persona. Y finalmente a todas aquellas personas que de una u otra forma me ayudaron y apoyaron durante toda mi vida universitaria.

1. TÍTULO

**“IDENTIFICACIÓN DE LEPTOSPIROSIS EN AGRICULTORES DE LA
PARROQUIA GUADALUPE DE LA PROVINCIA DE ZAMORA
CHINCHIPE Y SU RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO”**

2. RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonoticobacteriana frecuente y poco diagnosticada causada por una bacteria del género *Leptospira*, de distribución mundial en áreas rurales como urbanas; asociadas a cambios climáticos extremos y a condiciones de higiene no adecuadas. Este estudio tuvo como propósito identificar los casos de leptospirosis, factores de riesgo, además de establecer la prevalencia de la enfermedad en la comunidad de Guadalupe provincia de Zamora Chinchipe. Para ello, se realizó un estudio descriptivo de tipo transversal; se determinó la presencia de anticuerpos específicos IgM contra *Leptospira spp* en los agricultores, aplicando la técnica de ensayo inmuno enzimático (ELISA); por encuesta se identificaron los principales factores de riesgo para que se presente la enfermedad. De un total de 11 muestras correspondientes al 22%, dieron positivas en la prueba de detección de anticuerpos contra *Leptospira*, en donde el mayor porcentaje de seropositividad se halló en agricultores con edades comprendidas entre 18 - 64 años de edad con un 90.9%, y con predominio en el sexo femenino con 9 casos que corresponden al 82%. La posesión de animales como perros, la presencia de roedores, la ingesta de agua sin el debido tratamiento, el uso inadecuado de vestimenta de protección para labores agrícolas, todos éstos en un 100%, fueron los principales factores de riesgo a los que se encuentran expuestos estas personas para contraer leptospirosis en esta parroquia.

Las manifestaciones clínicas frecuentes que presentaron estas personas fueron: cefalea (72.7%), dolor abdominal (63.6%), ojos amarillos (63.6%) y escalofríos (54.5%).

Palabras Clave: *Leptospirosis, factores de riesgo, anticuerpos IgM*

SUMMARY

Leptospirosis is a frequent bacterial zoonotic disease and it is not completely diagnosed, it is caused by a bacterium of the genus *Leptospira*, it is extended worldwide in rural and urban areas; these diseases are associated to extreme climate changes and inadequate hygiene conditions. This study had the purpose of identifying the cases of leptospirosis, risk factors, and to establish the prevalence of the disease in the community of Guadalupe province of Zamora Chinchipe. For developing this work, a descriptive cross-sectional study was carried out. The presence of specific IgM against *Leptospira* spp in farmers was determined by applying the technique of Immuno Enzymatic Essay (ELISA); applying the survey it was possible to identify the main risk factors for the disease. A total of 11 samples corresponding to 22% gave positive in the screening of *Leptospira* where the highest percentage of seropositivity was found in farmers aged 18-64 years with 90.9%, and the female predominance in 9 cases corresponding to 82% with. Possession of animals like dogs, rodents, water intake without proper treatment, misuse of protective clothing for farming, all these 100%, were the main risk factors which are these people exposed to leptospirosis in this parish.

The common clinical manifestations that have these people were headache (72.7%), abdominal pain (63.6%) yellow eyes (63.6%) and chills (54.5%).

Keywords: Leptospirosis, risk factors, IgM.

3. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis, afecta a los humanos y a los animales. Es causada por la bacteria el género *Leptospira*. Este padecimiento es subregistrado en muchos países debido a la dificultad del diagnóstico clínico y laboratorial(González, 2012).

Presenta una frecuencia estacional, siendo mayor su incidencia en invierno; su epidemia se asocia con cambios en el comportamiento humano, contaminación del agua (aguas residuales), animales, o a partir de un desastre natural como ciclones o inundaciones. En los humanos los síntomas presentan un gran espectro, desde infecciones asintomáticas, cuadros febriles inespecíficos, problemas gástricos, musculares, renales, meníngeos, y en raras ocasiones muerte(González, 2012).

El agente etiológico es una espiroqueta del género *Leptospira*. Existen especies patógenas y no patógenas con similitudes y diferencias antigénicas, características que permiten diferenciarlas. Las cepas patógenas de *L. interrogans* afectan tanto a animales como al hombre, esto se da cuando se produce un contacto directo con sangre, tejidos, órganos u orina de animales infectados; y las no patógenas de *L. biflexa* se encuentran en ambientes húmedos, como suelos, aguas superficiales, agua de mar e inclusive agua del grifo(Moral, 2014).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), por su importancia en América Latina, es objeto de vigilancia y de notificación obligatoria junto con la rabia, la brucelosis, la tuberculosis, la encefalitis equina y la fiebre aftosa (Epiayu, 2012).

Se estima globalmente que 10 millones de habitantes se infectan por Leptospirosis cada año, y es difícil estimar cuántos de ellos mueren. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la incidencia de la enfermedad puede variar de 0.1 a 1 caso por cada

100.000 habitantes en climas templados; y de 10 a 20 casos por 100.000 habitantes en climas tropicales (Hoz, 2014).

La incidencia de leptospirosis en América Latina se ha estimado en 12.5 casos por 100.000 habitantes, y se reportan casos de leptospirosis principalmente en Brasil (Hoz, 2014).

Ecuador experimenta con frecuencia brotes, epidemias de enfermedades transmisibles potencialmente epidémicas, sin que se haya desarrollado la suficiente capacidad nacional y local en lo referente a salud para enfrentar estos problemas fuertes.

En la provincia de Zamora Chinchipe, la Leptospirosis según datos del Departamento de Epidemiología, en el año 2013 se registraron 10 casos confirmados por laboratorio; para el año 2014, la cifra se redujo a 8 casos confirmados por laboratorios y, en el año 2015 se han reportado 13 casos de Leptospirosis confirmados por laboratorio hasta la semana de vigilancia epidemiológica 22.

Esta provincia, enfrenta serios problemas de inestabilidad climática, sus periodos de lluvias o de verano, en muchos casos logra un descontrol y desatención al medio ambiente de los pobladores del sector rural y urbano marginal así como de los lugares donde se acumulan las heces fecales de diversos animales y que en épocas de lluvias contaminan las aguas de los ríos, que son aprovechados por la población para su consumo y uso exclusivo del hogar.

Esta es una realidad propia de la población rural de Zamora Chinchipe, frente a ello se ha implementado programas de prevención, cercos epidemiológicos, mejoramiento higiénico sanitario, etc.; con lo cual la población responde en baja proporción del problema causa - efecto para la salud, hasta que estén contagiados.

Dentro de estas condiciones, el presente trabajo de investigación es factible de ser realizado, porque genera un beneficio de conducta hacia la salud de la población, demostrando que es mejor prevenir que contraer la enfermedad.

Se trata de un estudio descriptivo de corte transversal, el cual se lo llevo a cabo en el Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner de la provincia de Zamora Chinchipe. Se procedió a tomar una muestra de sangre, previo consentimiento informado, a los agricultores de la parroquia Guadalupe; estas muestras fueron analizadas por duplicado mediante el método de Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA) para detectar la presencia de anticuerpos IgM contra *Leptospira*; además se llevó un registro de las edades y sexo de las personas que intervinieron en la investigación.

Una vez obtenidos los resultados de las pruebas, se procedió a aplicar una encuesta a las personas con un resultado positivo, con la finalidad de identificar los factores de riesgo más importantes para que se presente la enfermedad; además, se identificaron las diferentes manifestaciones clínicas que las mismas presentaban, para correlacionarlas con los resultados de las muestras analizadas.

De las 50 muestras analizadas, 11 de ellas correspondientes al 22%, dieron un resultado positivo para el test contra *Leptospira*; con un resultado negativo se obtuvieron 34 muestras que corresponden al 68% y, 5 muestras correspondientes al 10% obtuvieron un resultado dudoso para el test contra *Leptospira*. Además, se determinó que la población más afectada con la enfermedad son personas de sexo femenino en un 82% con edades comprendidas entre los 18-64 años de edad en un 90.9%. También se pudieron identificar que los principales factores de riesgo para que se presente la enfermedad en estas personas fueron: la posesión de animales como perros, la presencia

de roedores, el consumo de agua sin el debido tratamiento y el uso inadecuado de ropa protectora para la realización de las actividades agrícolas, todos estos en un 100%.

Finalmente se correlacionaron los resultados de las pruebas positivas para *Leptospira* con la presencia de manifestaciones clínicas en las personas, siendo estas las más frecuentes: cefalea (72.7%), dolor abdominal (63.6%), ojos amarillos (63.6%) y escalofríos (54.5%).

4. REVISIÓN DE LA LITERATURA

4.1 Definición de Leptospirosis

Es una enfermedad zoonótica, multiorgánica que suele evolucionar de forma bifásica. El pronóstico es generalmente benigno y su curso autolimitado. Algunos pacientes desarrollan una enfermedad más grave y prolongada con ictericia, vasculitis, insuficiencia renal aguda, etc (Herrerías , Diaz, & Jimenez, 2011).

4.2 Epidemiología

En el mundo, la enfermedad de forma endémica ocurre en los trópicos. La magnitud de la enfermedad en países tropicales fue ilustrada en un estudio prospectivo de población hospitalaria, basado en cuadros de fiebre aguda, en Iquitos (Perú). Entre junio 2003 y marzo 2004, 633 pacientes febriles fueron evaluados; 321 tenían evidencias serológicas de leptospirosis aguda (Medicina Interna, 2012).

La incidencia de leptospirosis en algunos países endémicos parece estar aumentando. En Tailandia por ejemplo, la incidencia aumentó treinta veces entre 1995 y 2000. La razón de este aumento es desconocida; sin embargo, las hipótesis incluyen un aumento en la población de ratas e inundaciones estacionales. La importancia de la exposición a aguas contaminadas es ilustrada en dos brotes, uno en Taiwán observado durante la inundación en ocasión de un tifón; un segundo brote ocurrió en India siguiendo a la exposición de agua infectada en un canal (Medicina Interna, 2012).

Dado que cada vez más viajeros participan en actividades recreacionales, turismo aventura etc., el riesgo de desarrollar esta infección ha aumentado. Por lo tanto, los clínicos deben estar atentos al regreso de estos pacientes, debiendo interrogar sobre actividades desarrolladas durante el viaje (Medicina Interna, 2012).

4.3 Agente Etiológico

Las leptospiras pertenecen al orden Spirochaetales de la familia Leptospiraceae del género *Leptospira* que comprende dos especies: la *Leptospira Biflexa*, saprofita de vida libre; y *Leptospira Interrogans* que incluye 20 serotipos patógenos agrupados en 23 subgrupos, patógena para los animales y el hombre. La *Leptospira* es una bacteria muy fina, de 6 a 20 um de largo y de 0.1 a 0.2 um de ancho, flexible, helicoidal, con las extremidades incurvadas en forma de gancho, extraordinariamente móvil, aerobia estricta, que se cultiva con facilidad en medios artificiales. Puede sobrevivir largo tiempo en el agua o en ambiente húmedo, templado, con pH neutro o ligeramente alcalino (Braselli, 2010).

4.3.1 Tipos de Leptospiras

Dentro de las leptospiras patogénicas tenemos: *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira kirschneri*, *Leptospira noguchii*, *Leptospira alexanderi*, *Leptospira weilii*, *Leptospira alstoni*. En cuanto a las *Leptospiras* intermedias se encuentran: *Leptospira inadai*, *Leptospira fainei*, *Leptospira broomii*; y, al hablar de *Leptospiras* no patogénicas, se encuentran: *Leptospira biflexa*, *Leptospira meyeri*, *Leptospira wolbachii*, *Leptospira vanthielii*, *Leptospira terpstrae*, *Leptospira yanagawae* (Garretty & Chóez, 2011).

4.3.2 Reservorios

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; transfieren las *Leptospiras* a sus crías en útero o el periodo neonatal, favoreciendo la cadena de transmisión. Los portadores son aquellos animales que mantienen las *Leptospiras* viables y con capacidad de multiplicarse en sus riñones, excretándolas

intermitentemente por la orina; muchos de estos pueden tener serología negativa (Céspedes, 2007).

Los reservorios más importantes son mamíferos pequeños que pueden transmitir la infección a los animales domésticos y a los humanos. La transmisión depende de muchos factores como el clima, la densidad y el grado de contacto entre el reservorio y los hospederos accidentales. Los roedores pueden ser reservorios de diferentes serovares, pero las ratas generalmente son reservorios de serovares como *Icterohaemorrhagiae* y *Ballum*, y los ratones son reservorios para el serogrupo *Ballum*. Los animales domésticos también son reservorios accidentales; los cerdos albergan a los serovares Pomona, Tarassovi y Bratislava; las ovejas, Hardjo y Pomona; los perros, Canicola; y el ganado vacuno puede albergar serovares como Grippotyphosa, Pomona y Hardjo (Céspedes, 2007).

Las *Leptospiras* en el agua, a temperatura ambiente, permanecen viables durante varios meses con un pH de 7,2 a 8,0 bajo las condiciones del laboratorio; la supervivencia en agua de río es más corta pero es prolongada a bajas temperaturas. En aguas servidas domésticas disminuye el tiempo de supervivencia a pocas horas; en tierra ácida (pH 6,2) sobreviven por siete semanas, y en lodo de tierra por lo menos tres semanas. También se piensa que los rezagos de detergentes han reducido la supervivencia de la *Leptospira* en los desagües, pues se inhiben a concentraciones bajas de detergente. Cuando la tierra se contamina con la orina de ratas infectadas la *Leptospira* sobrevive durante aproximadamente dos semanas (Céspedes, 2007).

4.3.3 Factores de Riesgo

El riesgo de infección depende de la exposición a animales infectados o a ambientes contaminados, que a su vez se relaciona con las condiciones sanitarias y de higiene en las diferentes áreas, tanto en los domicilios como en su entorno inmediato.

Debido a que hay un número grande de potenciales fuentes de infección y diferentes oportunidades para la transmisión, los grupos en riesgo pueden diferir de un área a otra, dependiendo tanto de las características ambientales como sociales. Los grupos poblacionales más expuestos son aquellos que trabajan o viven en áreas sujetas a condiciones precarias de vivienda, sin saneamiento, o en contacto con fuentes de aguas residuales o suelos contaminados con orina de roedores infectados o de otros animales domésticos y silvestres(Moral, 2014).

4.3.4 Transmisión

La transmisión se da por contacto de la piel, especialmente si esta excoriada, o de las membranas mucosas, con agua, tierra húmeda o vegetación contaminadas con la orina de animales infectados, como ocurre al nadar, por la inmersión accidental o por excoriaciones ocupacionales; contacto directo con la orina o tejidos de animales infectados; a veces por la ingestión de alimentos contaminados con orina de ratas infectadas y, una que otra vez, por inhalación de gotitas de aerosoles de líquidos contaminados(Chin, 2010).

4.3.5 Modo de Transmisión

4.3.5.1 Transmisión Directa

La transmisión directa generalmente origina casos aislados. Se produce por contacto con sangre, tejidos, órganos u orina de animales infectados y excepcionalmente por ingesta de agua o alimentos contaminados, en presencia de lesiones de la orofaringe o esofágicas(Moral, 2014).

4.3.5.2 Transmisión Indirecta

La transmisión indirecta es la más frecuente y generalmente ocasiona brotes epidémicos. Se produce por el contacto de las mucosas y/o piel con agua, lodo, terrenos o vegetación contaminada con orina de animales infectados(Moral, 2014).

4.3.6 Patogenia

La *Leptospira* penetra en el hombre a través de la piel erosionada o mucosas sanas, difunde rápidamente y después de 48 horas se la encuentra en todos los tejidos, con localización especial en riñón, hígado, corazón, músculo esquelético(Forbes, Sahm, & Weissfeld, 2009).

Las leptospiras patógenas invaden con rapidez el torrente sanguíneo después de su ingreso y se diseminan a todos los sitios del cuerpo, por ejemplo al sistema nervioso central y a los riñones. Las cepas virulentas muestran quimiotaxis hacia la hemoglobina así como la capacidad de migrar a través de los tejidos del huésped(Braselli, 2010).

4.3.7 Formas Clínicas

4.3.7.1 Forma Anictérica

En esta forma, la enfermedad suele tener un curso benigno, con fiebre de 39-40°C de inicio brusco y escalofríos, acompañada de mialgias y cefalea. Las mialgias pueden ser generalizadas o localizadas en los músculos de las pantorrillas, paravertebrales, cinturas escapular y pelviana. La cefalea es intensa y de predominio fronto-orbitario y hasta puede presentarse como un síndrome meníngeo, con meningitis aséptica. En este período puede ser confundida con el inicio de enfermedades como influenza, dengue, hantavirus, fiebre hemorrágica Argentina, rickettsiosis, malaria, triquinosis o por formas agudas causadas por citomegalovirus, virus de Epstein Barr y otras virosis(Moral, 2014).

4.3.7.2 Forma Ictérica

En algunos pacientes la fase septicémica inicial evoluciona a una enfermedad icterica grave, con disfunción renal, fenómenos hemorrágicos, alteraciones hemodinámicas cardiacas, pulmonares y neurológicas. En este caso, los síntomas y signos que preceden a la ictericia suelen ser más intensos y de mayor duración que en la forma anictérica.

Esta forma clínica se acompaña de dolor a la palpación abdominal y hepatomegalia en aproximadamente 70% de los casos(Moral, 2014).

4.3.7.3 Síndrome pulmonar Hemorrágico Grave

El compromiso pulmonar, puede manifestarse como una neumonía aguda, en general del tipo de las “neumonías atípicas” o en su forma más grave como hemorragia pulmonar. Los pacientes pueden presentar escasa sintomatología respiratoria: tos seca y en ocasiones hemoptisis; las formas graves transcurren con disnea, taquipnea, esputo hemoptoico o hemoptisis. Las alteraciones radiológicas se caracterizan por infiltrados intersticiales focales o difusos. La hemorragia pulmonar, alveolar, cursa como un síndrome de distrés respiratorio, en general anictérico, sin nefropatía grave y recuento de plaquetas normal o discretamente descendido(Moral, 2014).

4.3.8 Manifestaciones Clínicas

La expresión clínica de la infección por *Leptospira* varía ampliamente en el ser humano, con oscilaciones que van desde procesos totalmente asintomáticos, que son los más frecuentes, pasando por las formas de evolución generalmente benignas, hasta el desarrollo de cuadros graves ictero-hemorrágicos con colapso vascular y serio compromiso de funcionamiento hepático-renal que puede ser de evolución fatal(Céspedes, 2007).

4.3.9 Diagnóstico Clínico de Leptospirosis

La mayoría de las infecciones por *Leptospira* spp. cursan de manera subclínica, aunque en algunas ocasiones, puede darse casos de enfermedad grave. La sintomatología es inespecífica y común a un gran número de afecciones, observándose ictericia, hemoglobinuria, hematuria, evidencia de daño renal, meningitis e incluso mortalidad(Ojeda, 2012).

4.3.10 Técnicas de Diagnóstico

4.3.10.1 Examen Directo

4.3.10.1.1 Frotis directo en microscopio de campo oscuro

Se puede observar directamente en diferentes fluidos tales como sangre, orina, líquido cefalorraquídeo. Este método es bajo en sensibilidad y especificidad, se requiere de mucha experticia para obtener un resultado confiable(Epiayu, 2012).

4.3.10.1.2 Microscopía de campo claro

Coloración de rojo congo e impregnación Argéntica. Estos métodos son empleados para aumentar la sensibilidad del examen directo y se utilizan en estudios histopatológicos(Epiayu, 2012).

4.3.10.1.3 Microscopía de Fluorescencia

Es empleado extensivamente en la demostración de Leptospiras en el campo de la veterinaria utilizando muestras biológicas(Epiayu, 2012).

4.3.10.2 Detección de Antígeno

Estos métodos ofrecen mayor sensibilidad y especificidad que el examen directo en campo oscuro. Se han empleado métodos como el radioinmunoensayo, el método inmunoenzimático (ELISA), la contraelectroforesis(Epiayu, 2012).

4.3.10.3 Aislamiento de Leptospiras

El éxito del aislamiento de las Leptospira depende de muchos factores, por lo cual es importante conocer la fase de la enfermedad en la que se encuentra el paciente, considerar la fecha de inicio de síntomas, si el paciente ha recibido tratamiento, el tiempo de la toma de la muestra y la recepción en el laboratorio, las condiciones de la toma y envío de la muestra y los medios de cultivo. Durante la fase de leptospiremia las muestras de elección serían la sangre y el líquido cefalorraquídeo y durante la fase inmune las muestras de orina(Epiayu, 2012).

4.3.10.4 Métodos Serológicos

Estos se pueden separar en pruebas género específicas y pruebas serovar específica(Epiayu, 2012).

4.3.10.4.1 Aglutinación macroscópica en placa

Este es un método rápido de aglutinación descrito por Galton y Col donde empleaba diversos serovares de *Leptospira* que eran formolados y se enfrentaban al suero de paciente(Epiayu, 2012).

4.3.10.4.2 Aglutinación macroscópica en placa con antígeno termo resistente

Este antígeno fue elaborado por Mazonelli y Col utilizando cultivos de *Leptospira* inactivados con calor. Este es una prueba rápida que requiere solo 1 gota de antígeno y

1gota de suero que se mezclan y se dejan en agitación en un rotador por cinco minutos para luego visualizar la macroaglutinación(Epiayu, 2012).

4.3.10.4.3 Hemaglutinación indirecta

Esta prueba es bastante sensible, específica y de gran utilidad para el diagnóstico temprano de la infección por *Leptospira*, pero es laboriosa y no sustituye a la prueba MAT(Epiayu, 2012).

4.3.10.4.4 Pruebas Inmunoenzimáticas

Para detectar anticuerpos del tipo IgG e IgM. Se han realizado diferentes modificaciones a la técnica y su uso se ha extendido como alternativa a la prueba MAT(Epiayu, 2012).

4.3.10.4.5 Inmunofluorescencia indirecta

Es una técnica ampliamente utilizada, tan sensible y específica como el ELISA pero requiere de reactivos y del microscopio de fluorescencia que encarecen la prueba(Epiayu, 2012).

4.3.10.4.6 Lepto – Dry–Dot

Esta técnica consiste de partículas de látex coloreadas y sensibilizadas con un antígeno de *Leptospira* que es secado directamente sobre una lámina de cartulina especial para observar aglutinación. Es una prueba rápida, de fácil ejecución y lectura tiene una sensibilidad de un 90 % y una especificidad de un 92% (Epiayu, 2012).

4.3.10.5 Pruebas moleculares

4.3.10.5.1 Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR)

Permite realizar un diagnóstico rápido o confirmar un caso mediante la detección de ADN de *Leptospiras* en muestras de orina, suero o LCR, lo cual representa una ventaja durante la fase temprana de la enfermedad cuando el cuadro clínico resulta confuso (Epiayu, 2012).

4.3.11 Muestras para análisis de Leptospirosis

4.3.11.1 Sangre con Heparina para Cultivo

El cultivo de la sangre después de los 10 días de la aparición de la enfermedad no es recomendado, ya que las leptospiras han desaparecido en su mayoría de la sangre y los anticuerpos habrán comenzado a ser detectables en el suero permitiendo el serodiagnóstico (Epiayu, 2012).

4.3.11.2 Sangre coagulada o Suero para serología

Deben obtenerse preferiblemente dos muestras con un intervalo de varios días en base a la fecha de aparición o inicio de la enfermedad y el tiempo probable de seroconversión (Epiayu, 2012).

4.3.11.3 Orina para cultivo

Las leptospiras mueren rápidamente en la orina por lo que el uso de orina para cultivo puede ser valioso solamente cuando es posible obtener una muestra limpia que

pueda ser inoculada en un medio de cultivo apropiado en no más de 2 horas después de haber sido recogida(Epiayu, 2012).

4.3.11.4 Muestras postmortem

Es importante coleccionar muestras del mayor número de órganos posibles, incluyendo cerebro, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, pulmones, riñones, hígado, páncreas y corazón, y si es posible, sangre del corazón, para serología. Las muestras postmortem deben ser obtenidas asépticamente y tan pronto como sea posible después de la muerte; deben ser inoculadas en el medio de cultivo lo más rápido que se pueda(Epiayu, 2012).

4.3.11.5 Líquido Cefalorraquídeo y dializado para cultivo

Las leptospiras pueden aislarse durante la primera semana de enfermedad. Para el aislamiento de las leptospiras se emplea un medio semisólido con albumina bovina-Tween 80. El crecimiento en el medio de cultivo habitualmente se detecta después de dos semanas de incubación a 30°C, pero puede llegar a necesitar seis o más semanas(Kelley, 2008).

4.3.12 Prevención

La profilaxis sanitaria es esencial en el control de la leptospirosis en una población humana, y deben basarse en dos puntos esenciales: el control de hospedadores de mantenimiento silvestres y el control de hospedadores domésticos(Kestler, 2013).

Entre las medidas preventivas generales figura la vacunación de animales de granja. Además, para la prevención de la Leptospirosis se recomienda el uso de ropa protectora, la adopción de medidas de control contra roedores y la evitación de exposiciones recreativas, por ejemplo, la evitación de las lagunas de agua dulce (Forbes, Sahm, & Weissfeld, 2009).

5. METODOLOGÍA

5.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es un estudio descriptivo de corte transversal.

5.2 ÀREA DE ESTUDIO

Agricultores de la parroquia Guadalupe, una zona rural del cantón Zamora perteneciente a la provincia de Zamora Chinchipe, situada al noroeste de la misma. Está limitada: al Norte con la provincia del Azuay, siguiendo la Cordillera de Cordoncillo; y, con la Provincia de Morona Santiago, en la línea de la Cordillera de Yacuambi, el río Chuchumletza aguas abajo, hasta la confluencia con el Zamora, y de ésta en línea recta hacia el este, hasta la Cordillera del Cóndor; al Sur, con el Perú, en el curso de los Ríos Blanco, Canchis y la Quebrada de San Francisco; al Este con el Perú; y, al Oeste con la provincia de Loja. Está poblada en su mayoría por colonos y por dos grupos étnicos totalmente diferenciado, Los Saraguros y los Shuaras.

5.3 UNIVERSO Y MUESTRA

5.3.1 UNIVERSO: habitantes de la parroquia Guadalupe de la provincia de Zamora Chinchipe.

5.3.2 MUESTRA: 50 personas dedicadas a la agricultura de distintos barrios de la parroquia Guadalupe.

5.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

5.4.1 Criterios de Inclusión

- Habitantes de la parroquia Guadalupe dedicadas a la agricultura y dispuestos a colaborar con la investigación.

5.4.2 Criterios de Exclusión

- Habitantes de la parroquia Guadalupe con una ocupación diferente a la agricultura.
- Personas que se encuentren tomando medicamentos como Doxiciclina, ya que esto altera los resultados.

5.5 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

5.5.1 Desarrollo de la Fase Pre-Analítica

- Solicitud de autorización dirigida al Director del Distrito de Salud N.- 19D01 de la provincia de Zamora Chinchipe, Dr. Manuel Albarracín **(anexo 1)**
- Solicitud de autorización dirigida a la encargada del Laboratorio Clínico del Distrito de Salud N.- 19D01 de la provincia de Zamora Chinchipe, Lcda. María Eugenia Calva. **(anexo 2)**
- Oficio remitido por el director del Distrito de Salud N.- 19D01 de Zamora Chinchipe hacia el director de Centro de Salud de la parroquia Guadalupe solicitando apoyo y facilidades para llevar a cabo el trabajo investigativo **(anexo 3)**
- Aplicación del Consentimiento Informado **(anexo 4)**
- Aplicación de un formato de registro para los pacientes **(anexo 5)**
- Protocolo de toma de muestra sanguínea mediante el método Vacutainer **(anexo 6)**
- Protocolo para conservación y transporte de muestras sanguíneas. **(anexo 7)**

5.5.2 Desarrollo de la Fase Analítica

- Técnica de micro ELISA para Leptospira IgM.(**anexo 8**)

5.5.3 Desarrollo de la fase Post-Analítica

- Aplicación de encuesta a pacientes con resultados positivos para Leptospira (**anexo 9**)
- Formato para entrega de resultados(**anexo 10**)
- Entrega de resultados al encargado del laboratorio del Distrito de Salud N.- 19D01 de la Provincia de Zamora Chinchipe
- Para el control de calidad se remitieron las muestras de los pacientes con resultado positivo en la prueba de Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA) con el fin de efectuar la detección de anticuerpos IgM contra Leptospira, al Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) de la ciudad de Guayaquil para obtener un resultado confirmatorio mediante la prueba de microaglutinación en placa (MAT), con la finalidad de corroborar resultados (**anexo 11**)
- Certificación de haber llevado a cabo el trabajo investigativo y análisis del mismo en el Distrito de Salud N.- 19D01 de la provincia de Zamora Chinchipe(**anexo 12**)

5.6 ANALISIS Y TABULACIÓN DE DATOS

Para la presentación de los resultados obtenidos en el proceso investigativo, se hizo uso del programa Microsoft Excel, los mismos serán representados de manera porcentual mediante tablas y gráficos.

6. RESULTADOS

TABLA 1

ANTICUERPOS ESPECÍFICOS (IGM) CONTRA LEPTOSPIRA

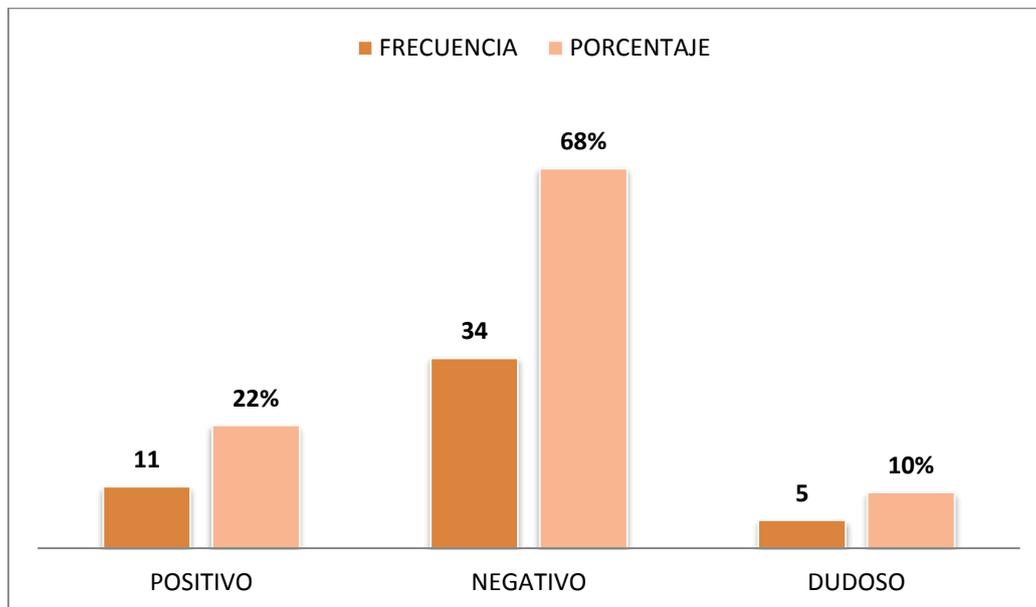
RESULTADO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
POSITIVO	11	22%
NEGATIVO	34	68%
DUDOSO	5	10%
TOTAL	50	100%

Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

GRÁFICO 1

ANTICUERPOS ESPECÍFICOS (IGM) CONTRA LEPTOSPIRA



Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

INTERPRETACION.- Se analizó un total de 50 muestras de suero sanguíneo, de las cuales 11 resultaron positivas para el test contra Leptospira IgM correspondiente al 22%. En el caso de los resultados dudosos, se debe analizar nuevamente la muestra; y si aún se sigue obteniendo un resultado dudoso, se recomienda analizar la muestra con un método diferente.

TABLA 2

FRECUENCIA POR EDAD DE LOS CASOS POSITIVOS DE LEPTOSPIRA

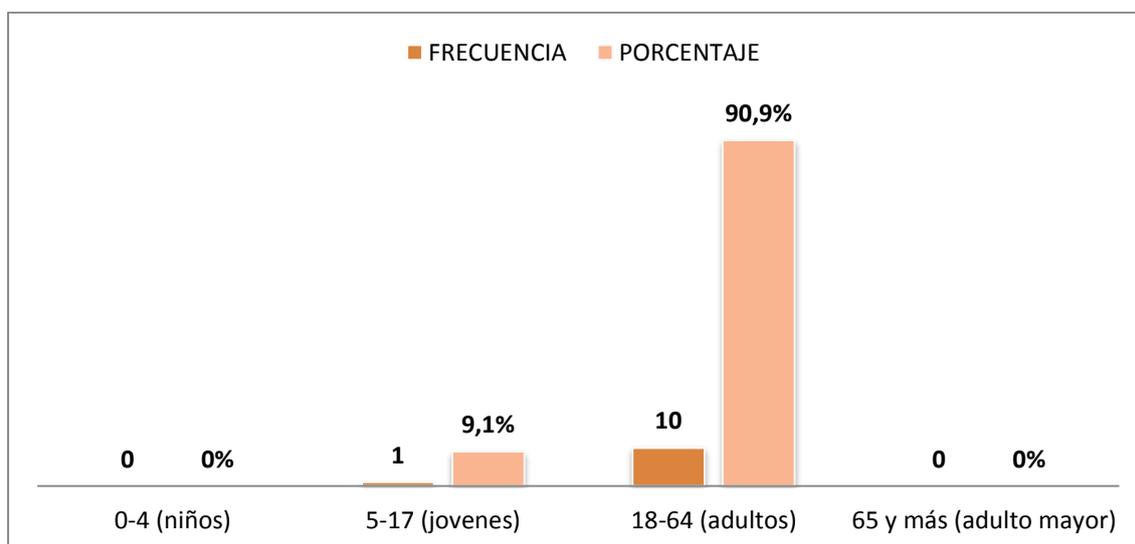
GRUPO ETARIO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
0-4 años (niños)	0	0%
5-17 años (jóvenes)	1	9,1%
18-64 años (adultos)	10	90,9%
65 años y más (adulto mayor)	0	0%
TOTAL	11	100%

Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

GRÁFICO 2

FRECUENCIA POR EDAD DE LOS CASOS POSITIVOS DE LEPTOSPIRA



Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

INTERPRETACION.- De las 11 muestras que resultaron positivas en la prueba para detección de anticuerpos IgM contra Leptospira; se identificó que la población mayormente afectada eran personas adultas con edades comprendidas entre los 18-64 años de edad, probablemente porque estas son personas que se encuentran en una edad laboralmente activa. Para realizar esta tabla nos basamos en los grupos etarios del Ministerio de Salud Pública.

TABLA 3

FRECUENCIA POR SEXO DE LOS CASOS POSITIVOS DE LEPTOSPIRA

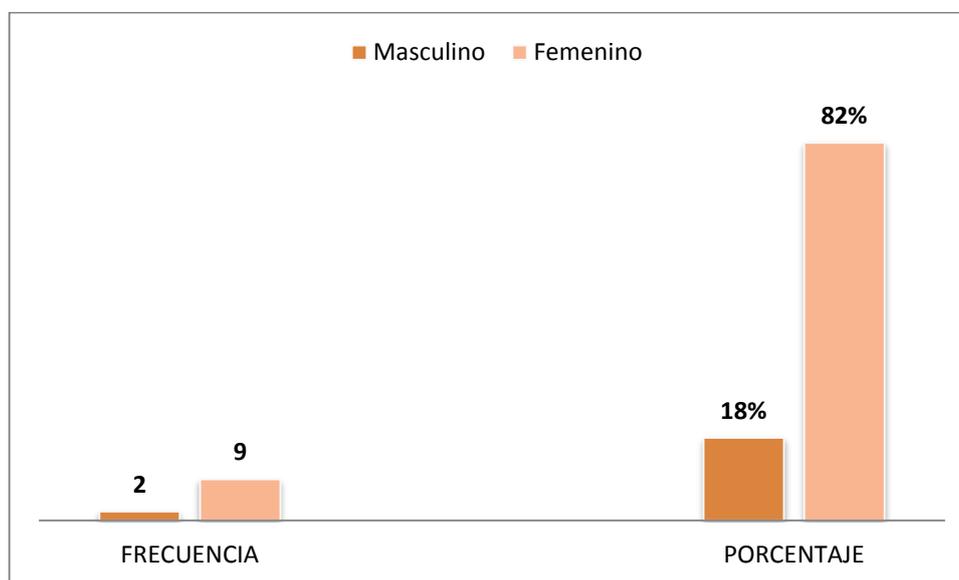
SEXO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
MASCULINO	2	18%
FEMENINO	9	82%
TOTAL	11	100%

Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

GRÁFICO 3

FRECUENCIA POR SEXO DE LOS CASOS POSITIVOS DE LEPTOSPIRA



Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

INTERPRETACIÓN.- De las 11 muestras que resultaron positivas en la prueba de detección de anticuerpos contra Leptospira, observamos que el género mayormente afectado fue el sexo femenino con 9 casos correspondientes al 82%.

TABLA 4

FACTORES DE RIESGO PARA LA PRESENCIA DE LEPTOSPIROSIS

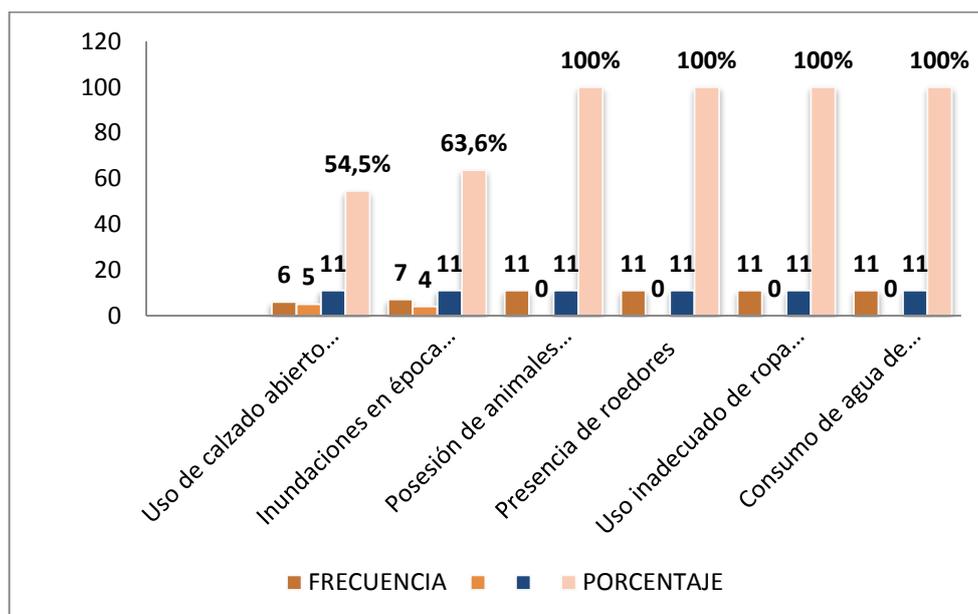
FACTORES DE RIESGO	FRECUENCIA			PORCENTAJE
	SI	NO	TOTAL	
Uso de calzado abierto (zapatillas)	6	5	11	54,5%
Inundaciones en época invernal	7	4	11	63,6%
Posesión de animales (perros)	11	0	11	100%
Presencia de roedores	11	0	11	100%
Uso inadecuado de ropa protectora para realizar actividades agrícolas	11	0	11	100%
Consumo de agua de quebrada/río	11	0	11	100%

Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

GRÁFICO 4

FACTORES DE RIESGO PARA LA PRESENCIA DE LEPTOSPIROSIS



Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

INTERPRETACION.- En cuanto a los principales factores de riesgo para que se presente la enfermedad en las 11 personas que obtuvieron un resultado positivo en la prueba de detección de anticuerpos específicos IgM contra *Leptospira* se encuentran la posesión de animales como perros, la presencia de roedores en sus hogares, el consumo de agua directamente de la quebrada y el uso inadecuado de ropa protectora para realizar sus actividades agrícolas, todos ellos en un 100%.

TABLA 5

PRESENCIA DE MANIFESTACIONES CLÍNICAS CON LA DEMOSTRACIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS IgM CONTRA LEPTOSPIRA

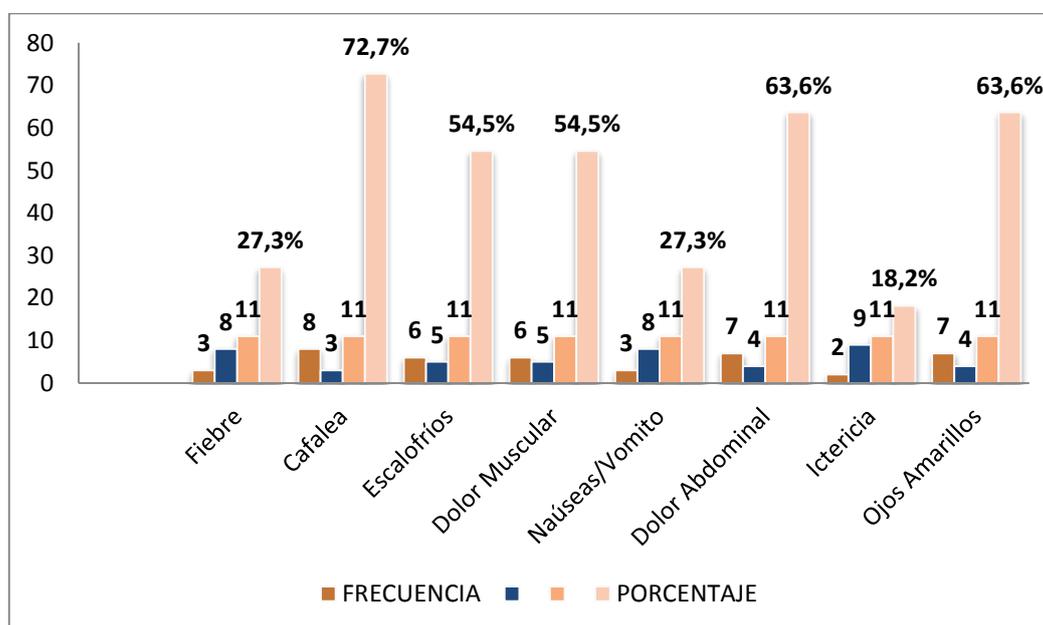
SINTOMATOLOGÍA	FRECUENCIA			PORCENTAJE
	SI	NO	TOTAL	
Fiebre	3	8	11	27,3%
Cefalea	8	3	11	72,7%
Escalofríos	6	5	11	54,5%
Dolor Muscular	6	5	11	54,5%
Náuseas/Vomito	3	8	11	27,3%
Dolor Abdominal	7	4	11	63,6%
Ictericia	2	9	11	18,2%
Ojos Amarillos	7	4	11	63,6%

Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

GRÁFICO 5

PRESENCIA DE MANIFESTACIONES CLÍNICAS CON LA DEMOSTRACIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS IgM CONTRA LEPTOSPIRA



Fuente: Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del Hospital JuliusDopfner

Elaborado por: Andrés Gabriel Carrión Plaza

INTERPRETACION.- Dentro de las manifestaciones clínicas más comunes que presentaron las personas con un resultado positivo para la prueba de detección de anticuerpos específicos IgM contra Leptospira tenemos: cefalea con 72.7%, dolor abdominal y ojos amarillos con un 63.7% y escalofríos y dolor muscular con un 54.5%.

7. DISCUSIÓN

La leptospirosis es una infección aguda con un amplio espectro de manifestaciones clínicas producida por espiroquetas del género leptospira que infecta principalmente a los animales, tanto de vida libre como domésticos, los cuales constituyen las principales fuentes de infección para el hombre (Suárez, 2009).

Esta investigación se la realizó con 50 muestras de suero sanguíneo de pacientes que según los criterios de inclusión eran personas dedicadas a las actividades agrícolas, obteniendo un total de 11 casos positivos determinados mediante la técnica de Detección de Anticuerpos IgM contra Leptospira por el método Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA); los datos obtenidos demuestran una prevalencia de Leptospirosis equivalente al 22%; la frecuencia según la edad de los casos positivos de Leptospira es mayor en personas con edades comprendidas entre los 18-64 años de edad con un 90.9% y el género en el cual hubo mayor predominio de casos positivos de Leptospira corresponde al género femenino con un 82%.

De acuerdo a la determinación de los principales factores de riesgo para que se presente la enfermedad se encuentran posesión de animales (perros), presencia de roedores, uso inadecuado de ropa protectora para realizar actividades agrícolas y el consumo directo de agua de quebrada/río, todos ellos con un porcentaje del 100%.

En cuanto a la relación de manifestaciones clínicas con la demostración de anticuerpos específicos contra Leptospira predomina la cefalea con un 72.7%, seguido del dolor abdominal y la presencia de ojos amarillos con un porcentaje del 63.6%.

En un estudio llevado a cabo en personas con antecedentes de fiebre en la provincia de Manú, Madre de Dios, Perú en el año 2010, se obtuvo una prevalencia de

Leptospirosis del 36.6%; este estudio fue llevado a cabo en 89 personas utilizando el método de Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA) (Z, M, Condori, J, & A, Prevalencia de Leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la Provincia de Manu, Madre de Dios, Perú, 2010); en relación con este estudio los resultados presentan cierta similitud en donde el porcentaje de esta es del 22% empleando el método antes mencionado.

En un estudio realizado en pacientes con leptospirosis, ingresados en el Hospital General Docente “Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso” de Santiago de Cuba durante el 2005 indica que la enfermedad fue más frecuente en el sexo masculino con un 85,5 % y los grupos etarios más afectados fueron las personas con edades comprendidas entre 15 a 54 años de edad (Olivares, 2009); este último dato se asemeja a los datos obtenidos en este estudio, ya que en el mismo los grupos etarios más afectados con la enfermedad fueron las personas con edades comprendidas entre los 18-64 años de edad; a diferencia del género, en donde el sexo más afectado fue el sexo femenino con un 82%.

Los factores de riesgo más sobresalientes en este estudio fueron la posesión de animales, la presencia de roedores, el uso inadecuado de ropa protectora para realizar actividades agrícolas y el consumo directo de agua de quebrada o río; los cuales muestran cierta similitud con un estudio llevado a cabo en el 2014 en un asentamiento del área urbana de la ciudad de Guatemala por Lic. María Luisa García Masaya, Lic. Mariana Elizabeth Herrera García, Lic. Aliz Marisol Pérez Vásquez, Lic. Leticia del Carmen Castillo Signor, Lic. Ronald Omar Kestler Ordóñez, en donde indica que los factores de riesgo más importantes para que se presente la enfermedad fueron la posesión y tipo de mascotas, el piso de tierra y la falta de tratamiento de la basura, a

pesar de no mostrar una asociación significativa(Lic. María Luisa García Masaya, 2014).

Al analizar las manifestaciones clínicas en el grupo de pacientes estudiados, se encontraron algunas de estas propias de la leptospirosis humana como fueron cefalea, dolor abdominal, ojos amarillos, dolor muscular y fiebre, esta última en un porcentaje del 27.3%; valor llamativo en comparación con los datos del estudio realizado por Tomás Valle Pimienta, Yosdania Lago Díaz, Anicia Cabrera Prado, Olga Lidia Linares Medina, Mariela Ramos Ibarra en el año 2014 en una propuesta de intervención educativa en donde la fiebre tuvo una frecuencia del 100% en todos los casos de Leptospirosis, seguida de mialgia, artralgia y la cefalea con el mismo porcentaje(Tomás Valle Pimienta, 2014).

8. CONCLUSIONES

- ✓ En esta investigación se logró identificar la presencia de anticuerpos IgM contra *Leptospira* en personas dedicadas a trabajos de agricultura, encontrándose un total de 11 casos positivos (22%) asociados a factores de riesgo ocupacionales, medio ambiente y saneamiento básico.

- ✓ La población mayormente afectada fueron las personas de sexo femenino con edades comprendidas entre los 18-64 años de edad, esto se debe a que son personas que se encuentran en una edad laboralmente activa.

- ✓ Se pudo determinar de acuerdo a las prevalencias encontradas en la población en estudio que, la ocupación y la presencia de animales como perros y roedores, tienen una relación directa con la seropositividad del resultado de la investigación.

- ✓ Al relacionar la presencia de manifestaciones clínicas con los resultados positivos contra el test de *Leptospira*, se concluye que si existe correlación patológica entre la detección de anticuerpos contra *Leptospira* y la presencia de manifestaciones clínicas, principalmente la cefalea, dolor abdominal y los ojos amarillos.

9. RECOMENDACIONES

- ✓ A pesar del estudio efectuado, se requiere llevar a cabo mayor investigación en otras parroquias y provincias del país, en donde se encuentren presentes las condiciones favorables para la presencia de la enfermedad, de tal manera que obtengamos un registro completo de la situación epidemiológica de la enfermedad en todo el país.
- ✓ La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica y además de interés en salud pública, es recomendable que las autoridades de las distintas instituciones de salud a nivel nacional le dediquen más atención a la misma, y con ello llegar a fortalecer las acciones de la salud entre la gestión del riesgo y la de salud pública.
- ✓ Fortalecer las acciones de información, educación y comunicación para ampliar el conocimiento de la comunidad sobre la enfermedad, además del uso importante de los elementos de protección personal en las personas que llevan a cabo actividades donde existe un alto riesgo de contraer la enfermedad.
- ✓ Es recomendable fortalecer los laboratorios a nivel nacional mediante la implantación de la prueba fundamental para confirmar el diagnóstico de la Leptospirosis, la Microaglutinación en placa (MAT); e implantar nuevas estrategias para evitar la pérdida de casos probables ante las dificultades para la toma de la muestra.

10. BIBLIOGRAFÍA

Braselli, A. (2010). *Leptospirosis*. Obtenido de <http://www.infecto.edu.uy/revisiontemas/tema25/leptospirosis.htm>

Carreño, M., & Cedeño, G. (2013). *Determinar a Infeccion por Leptospira spp. en perros de la parroquia Calderon de la provincia de Manabí en el año 2013*. Recuperado el Octubre de 2014, de <http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/8551/1/MARIO%20Y%20MARGARITA%20TESIS%20LEPTOSPIROSIS.pdf>

Céspedes, M. (2007). *Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente*. *Scielo Perú*, 2.

Céspedes, M. (2005). *Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*.

Chin, J. (2010). *El Control de las Enfermedades Transmisibles*. Estados Unidos: Asociacion Estadounidense de Salud Publica.

Coromoto, A., Aranguren, Y., & Clavijo, A. (2044). *Epidemiología y Diagnóstico de la Leptospirosis como Fundamentos de Estrategias de Control*. *Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela*.

Exterior, A. d. (Junio de 2012). *Leptospirosis-Epidemiologia y Situacion Mundial*. Recuperado el Octubre de 2014, de 6. http://www.amse.es/index.php?option=com_content&view=article&id=184:leptospirosis-epidemiologia-y-situacion-mundial&catid=42:inf-epidemiologica&Itemid=50

Forbes, B., Sahn, D., & Weissfeld, A. (2009). *Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires: Medica Panamericana.

Garcia, R., Reyes, A., Basilio, D., Ramirez, M., & Rivas, B. (Febrero de 2013). *Leptospirosis; un Problema de Salud Publica*. Recuperado el Octubre de 2014, de <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2013/pt131g.pdf>

Garretty, M., & Chóez, G. (2011). *FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA LEPTOSPIROSIS EN LA PARROQUIA CALDERÓN DEL CANTÓN PORTOVIEJO-PROVINCIA DE MANABÍ, DURANTE ENERO A DICIEMBRE DEL 2010*. Recuperado

el Miércoles de Enero de 2015, de [http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/4981/1/Tesis%20\(26\).pdf](http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/4981/1/Tesis%20(26).pdf)

González, J. (Septiembre de 2012). *Manual de procedimientos estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Leptospirosis*. Recuperado el Octubre de 2014, de 9. http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/14_2012_Manual_Leptospirosis_vFinal_21nov12.pdf

Herrerías , J., Diaz, A., & Jimenez, M. (2011). *Tratado de Patología*. Sevilla: Universidad de Sevilla.

Hoz, F. (Junio de 2014). *Protocolo de Vigilancia en Salud Publica*. Recuperado el Octubre de 2014, de 3. <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Leptospirosis.pdf>

Humana, L. N. (s.f.). *Epidemiología y estado de situación de la Leptospirosis Humana en Argentina Vanasco,B*. Recuperado el Octubre de 2014, de <file:///C:/Users/PC/Downloads/Vanasco.pdf>

Kelley. (2008). *Medicina Interna*. Buenos Aires: Medica Panamericana.

Kestler, R. (Enero de 2013). *Prevalencia de anticuerpos anti Leptospira spp en la población de dos asentamientos de la ciudad de Guatemala*. Recuperado el Enero de 2015, de <http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/informes2012/INF-2012-33.pdf>

Lic. María Luisa García Masaya, L. M. (2014). Seroprevalencia de leptospirosis humana en un asentamiento del área urbana de la ciudad de Guatemala. *Scielo*, 2-3.

M.C, C. (Marzo de 2012). *Factores que condicionan el diagnostico de la Leptospirosis*. Recuperado el Octubre de 2014, de 2. http://tesis.luz.edu.ve/tde_arquivos/161/TDE-2014-01-24T08:43:36Z-4418/Publico/epiayu_gonzalez_mary_carmen.pdf

Masaya, L. M., García, L. M., Vásquez, L. A., Signor, L. L., & Ordóñez, L. R. (2013). Seroprevalencia de leptospirosis humana en un asentamiento del área urbana de la ciudad de Guatemala. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 1.

Medicina Interna. (Mayo de 2012). *Leptospirosis*. Recuperado el Octubre de 2014, de <http://www.elrincondelamedicinainterna.com/2012/05/leptospirosis.html>

Ministerio de Salud. (2015). *Vigilancia Laboratorial de Leptospirosis Humana*. Recuperado el Enero de 2015, de <http://www.ins.gob.pe/portal/jerarquia/4/562/vigilancia-laboratorial-de-leptospirosis-humana/jer.562>

Moral, M. (Abril de 2014). *Guia para el Equipo de Salud*. Recuperado el Octubre de 2014, de 1. <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000489cnt-guia-medica-leptospirosis.pdf>

Ojeda, F. (2012). *DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS BOVINA, MEDIANTE LA PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN EN PLACA, EN EL CANTÓN QUILANGA, PROVINCIA DE LOJA*. Recuperado el Enero de 2015, de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5466/1/tesi%20final%20LEPTOSPIROSIS%20EN%20EL%20CANTON%20QUILANGA.pdf>

Olivares, A. T. (2009). Caracterización clinicoepidemiológica de pacientes con leptospirosis. *Scielo*, 1-2.

Organizacion panamericana de la Salud, & Organizacion Mundial de la Salud. (2008). *Leptorpirosis humana: Guia para el Diagnostico, Vigilancia y Control*. Recuperado el Octubre de 2014, de <http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/guia-esp.pdf>

Pambio. (Noviembre de 2008). *Leptospira IgM ELISA*. Obtenido de 4. http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Intranet/Download/Hojas_Seguridad/Ingles/ElisaIgM.pdf

Poggi, M., & Cedeño, G. (2011). *Factores de riesgo asociados a la Leptospirosis en la parroquia Calderon del cantón Portoviejo de la provincia de Manabí durante Enero a Diciembre del 2010*. Recuperado el Octubre de 2014, de [http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/4981/1/Tesis%20\(26\).pdf](http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/4981/1/Tesis%20(26).pdf)

Publica, M. d. (Enero de 2012). *Guia de Control y Manejo de Leptospirosis*. Recuperado el Octubre de 2014, de <http://www.bvsops.org.uy/pdf/leptos.pdf>

Pública, M. d. (Mayo de 2013). *Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica*. Recuperado el Octubre de 2014, de

https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/manual_de_procedimientos_sive-alerta.pdf

Rivero, S., & Rago, M. (2011). Leptospirosis: revision del tema a proposito de dos casos. *Medicina de Emergencia*, 12.

Rodriguez, I., & Torres, L. (Enero de 2010). *Estudio Serologico de Leptospirosis en mataderos del Estado Bolivar y Soledad, Estado Anzoátegui*. Recuperado el Octubre de 2014, de <http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/2194/1/11%20TESIS.%20QX9%20R696e.pdf>

Salud, I. N. (s.f.). *Vigilancia Laboratorial de Leptospirosis Humana*. Recuperado el Octubre de 2014, de 5. <http://www.ins.gob.pe/portal/jerarquia/4/562/vigilancia-laboratorial-de-leptospirosis-humana/jer.562>

Salud, M. d. (Octubre de 2010). Leptospirosis. *Lineamientos para la Vigilancia y Control de la Leptospirosis en El Salvador*, 7.

Suárez, A. (2009). Caracterización clinicoepidemiológica de pacientes con leptospirosis. *Medisan*, 1.

Tomás Valle Pimienta, Y. L. (2014). Epidemiología de la leptospirosis humana: propuesta de intervención educativa. *Scielo*, 1-2.

Valero, V. P. (18 de Noviembre de 2009). *Manual de Calidad Laboratorio Clínico*. Recuperado el 2015, de <http://www.hospitalregionaldemalaga.es/LinkClick.aspx?fileticket=IbzhXkPHBiU%3D&tabid=162>

Z, M. C., M, M. O., Condori, P., J, L. B., & A, M. G. (2010). Prevalencia de Leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la Provincia de Manu, Madre de Dios, Perú. *Scielo Perú*, 1-2.

Z, M. C., M, M. O., Condori, P., J, L. B., & Glenney, M. (2003). Prevalencia de Leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la Provincia de Manu, Madre de Dios, Perú. *Scielo Perú*, 1.

Zabala, F. (2013). *Leptospirosis*. Recuperado el Octubre de 2014, de http://www1.paho.org/dor/images/stories/archivos/dengue_colera_2013/07_Leptospirosis_DD_dengue_Dr_Fausta_Sabala.pdf?ua=1

Zuñiga, I., & Caro, J. (Diciembre de 2012). *Panorama epidemiológico de la Leptospirosis, Estados Unidos Mexicanos 2000-2010*. Recuperado el Octubre de 2014, de http://www.amimc.org.mx/revista/2013/33_2/panorama.pdf

11. ANEXOS

Anexo N.- 1

Loja, 20 de Mayo de 2015

Dr. Manuel Albarracín
DIRECTOR DEL DISTRITO DE SALUD DE LA PROVINCIA DE ZAMORA
CHINCHIPE

Ciudad.-

De mis consideraciones:

Yo, **Andrés Gabriel Carrión Plaza**, portador de CI No.1104206618, estudiante de la carrera de **Laboratorio Clínico** de la **Universidad Nacional de Loja**, por medio de la presente me dirijo a usted de la manera más respetuosa, deseándole los mejores éxitos en sus funciones laborales, y a la vez solicitarle de la manera más comedida se me autorice el permiso correspondiente para llevar a cabo el desarrollo de la parte práctica del proyecto de tesis titulado "Identificación de Leptospirosis en agricultores de la parroquia Guadalupe de la provincia de Zamora Chinchipe y su relación a los factores de riesgo" lo cual implica la recolección de muestras de sangre y el uso del equipo de micro ELISA, con el fin de poder cumplir los objetivos planteados en la investigación.

Por la atención prestada a la presente, desde ya le anticipo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente.



Andrés Gabriel Carrión Plaza
ESTUDIANTE

mSP	DISTRITO 19001
	YACUAMBI - ZAMORA - SALUD
RECEPCION DE DOCUMENTOS	
Fecha:...	20-05-15 Hora: 09:40
Nombre:...	Andrés Gabriel Carrión Plaza
Anexos:.....	

Anexo N.- 2

Loja, 20 de Mayo de 2015

Dra. María Eugenia Calva
**ENCARGADA DEL LABORATORIO CLÍNICO DEL DISTRITO DE SALUD DE
LA PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE**

Cuidad.-

De mis consideraciones:

Yo, **Andrés Gabriel Carrión Plaza**, portador de CI No. **1104206618**, estudiante de la carrera de **Laboratorio Clínico** de la **Universidad Nacional de Loja**, por medio de la presente me dirijo a usted de la manera más respetuosa, deseándole los mejores éxitos en sus funciones laborales, y a la vez solicitarle de la manera más comedida se me autorice el permiso correspondiente para llevar a cabo el desarrollo de la parte práctica del proyecto de tesis titulado **“Identificación de Leptospirosis en agricultores de la parroquia Guadalupe de la provincia de Zamora Chinchipe y su relación a los factores de riesgo”** lo cual implica la recolección de muestras de sangre y el uso del equipo de micro ELISA, con el fin de poder cumplir los objetivos planteados en la investigación.

Por la atención prestada a la presente, desde ya le anticipo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente.


20-05-2015



Andrés Gabriel Carrión Plaza
ESTUDIANTE

Anexo N.- 3



Ministerio
de Salud Pública

Coordinación Zonal 7 - Salud
Dirección Distrital 19D01 – YACUAMBI-ZAMORA-SALUD



Memorando Nro. MSP-CZ7-DDS-19D01-2015-1575-M

Zamora, 20 de mayo de 2015

PARA: Sr. Dr. Alan Nell Fuentes Bajaña
Director del Subcentro de Guadalupe

ASUNTO: SE BRINDE APOYO Y FACILIDADES PARA DESARROLLAR
INVESTIGACION DE LEPTOSPIROSIS

De mi consideración:

Mediante el presente me permito comunicar que a partir de la presente fecha el pasante de la Universidad Nacional de Loja en Licenciatura de Laboratorio Clínico ANDRES GABRIEL CARRION PLAZA, CI: 1104206618; como parte de su desarrollo de trabajo de tesis cuyo tema es: "**IDENTIFICACION DE LEPTOSPIROSIS EN AGRICULTORES DE LA PARROQUIA GUADALUPE DE LA PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE Y SU RELACION A LOS FACTORES DE RIESGO**", por la importancia de la investigación y frente al incremento de casos en el distrito, se autoriza el desarrollo de esta investigación.

Por su intermedio, además se brinde todo el apoyo y de el acompañamiento respectivo del personal del CS. de Guadalupe durante el desarrollo del presente trabajo, con el compromiso de los resultado obtenidos de la presente investigación socializar a la comunidad y al personal salud de su acertada jurisdicción.

Por la atención a la presente le anticipo mi agradecimiento.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Documento firmado electrónicamente

Dr. Manuel Fernando Albarracin Delgado
DIRECTOR DE LA DIRECCIÓN DISTRITAL 19D01 YACUAMBI - ZAMORA - SALUD (E)

Copia:
Srta. Mgs. Rosita Grimaneza Galvez Figueroa
Especialista Distrital de Vigilancia Epidemiológica 2



Anexo N.- 4



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha:

No.- Paciente:

La persona participante procederá a leer o escuchar el siguiente consentimiento informado antes de firmarlo. En caso que el participante no supiere escribir, procederá a firmar con la huella digital del dedo pulgar.

Yo, Andrés Gabriel Carrión Plaza, estudiante de carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, estoy llevando a cabo mi proyecto de investigación en personas agricultores de la parroquia Guadalupe de la provincia de Zamora Chinchipe, con la finalidad de determinar si usted ha padecido de la enfermedad llamada Leptospirosis y además averiguar si se encuentra en riesgo de adquirirla.

Yo, _____ con CI. _____. Por medio del presente comunico mi participación voluntaria en el presente proyecto investigativo, y que además he sido informado de todos los aspectos respecto al tema de investigación titulado: “Identificación de Leptospirosis en agricultores de la parroquia Guadalupe de la provincia de Zamora Chinchipe y su relación a los Factores de Riesgo”. Además, afirmo que todos los datos obtenidos en el presente estudio, están basados en la verdad.

1. Se me realizará una extracción de sangre venosa de 10ml; dicho procedimiento no representara ningún riesgo para mi salud.
2. La muestra sanguínea será utilizada únicamente para realizar las pruebas incluidas en el proyecto investigativo.
3. Los resultados obtenidos en las pruebas, serán entregados únicamente a mi persona, y no podrán ser entregados a terceros sin mi autorización.
4. En el proceso investigativo no será utilizado mi nombre, con la finalidad de preservar mi integridad personal.
5. El presente proyecto investigativo, no está realizado con fines de lucro.

En constancia firmo a continuación:

Nombre completo: _____

Número de cédula: _____

Fecha: ____/____/____

Firma del participante: _____

Anexo N.- 5

REGISTRO DE PACIENTES					
No.	Nombre	Edad	Procedencia	Observaciones	Resultado
1		58	Guadalupe	Dolor muscular, ojos amarillos	Positivo
2		30	Guadalupe		Dudoso
3		27	Guadalupe		Negativo
4		22	Guadalupe		Negativo
5		49	Guadalupe		Negativo
6		38	Guadalupe		Positivo
7		33	Guadalupe		Negativo
8		32	Guadalupe		Negativo
9		48	Guadalupe		Negativo
10		41	Guadalupe		Dudoso
11		28	Guadalupe		Negativo
12		25	Cantzama		Negativo
13		20	Cantzama		Negativo
14		24	Cantzama		Negativo
15		28	Cantzama		Negativo
16		22	Cantzama	Dolor abdominal, ojos amarillos	Positivo
17		24	Cantzama	Dolor de huesos, ojos amarillos	Positivo
18		56	Cantzama		Negativo
19		29	Cantzama		Negativo
20		33	Piunza		Negativo
21		33	Piunza	Ojos amarillos	Positivo
22		16	Piunza		Negativo
23		16	Piunza		Negativo
24		26	Piunza		Negativo
25		32	Piunza		Dudoso
26		21	Piunza		Dudoso
27		23	Piunza	Dolor muscular, dolor de cabeza	Positivo
28		38	Piunza	Dolor de cabeza, ojos amarillos	Positivo
29		53	Piunza		Dudoso

30		60	Piunza		Negativo
31		47	Piunza	Dolor muscular, ojos amarillos	Positivo
32		16	Piunza	Dolor muscular, escalofríos	Positivo
33		20	Piunza	Mareos, dolor muscular	Positivo
34		52	Piunza		Negativo
35		23	Piunza		Negativo
36		24	Piunza		Negativo
37		34	Piunza		Negativo
38		78	Piunza		Negativo
39		20	Piunza		Negativo
40		20	Piunza		Negativo
41		32	Piunza		Negativo
42		25	Piunza	Dolor abdominal, ojos amarillos	Positivo
43		24	Piunza		Negativo
44		28	Piunza		Negativo
45		49	Piunza		Negativo
46		43	Piunza		Negativo
47		70	Piunza		Negativo
48		9	Piunza		Negativo
49		13	Piunza		Negativo
50		46	Guadalupe		Negativo

Anexo N.- 6

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS PARA LA TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA

Propósito:

El siguiente manual se ha elaborado de forma sencilla y práctica para que su contenido sea de fácil aplicación por el personal que desarrolla estas actividades diarias, en lo que respecta a la toma de muestra de sangre venosa.

Alcance:

Este manual va dirigido al personal que labora en el laboratorio y a los estudiantes que llevan a cabo sus prácticas dentro del mismo, ya que estamos en la capacidad de ir corrigiendo algunos errores y en si formándonos como excelentes profesionales.

Terminología:

- **Extracción venosa:** es el método que se lleva a cabo cuando se requieren mayores volúmenes de sangre para el diagnóstico de laboratorio. Se lo puede llevar a cabo por medio de un catéter ya conectado al paciente o por el método de venopunción.
- **Sangre:** se trata de un líquido ligeramente alcalino (pH 7.4), viscoso, de color rojo brillante a oscuro, constituye alrededor del 7% del peso corporal. Se halla compuesta por elementos formes (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) suspendidos en un componente líquido denominado plasma. La sangre es un medio de transporte ideal para llevar los nutrientes a todo el organismo y a la vez desplaza los productos de desecho para su respectiva eliminación.

Responsable:

Personal del laboratorio clínico.

Descripción del procedimiento:

➤ Recursos materiales:

- Jeringa o Sistema al vacío (capsula para vacutainer)
- Aguja vacutainer, preferiblemente 21G
- Torniquete
- Torundas de algodón
- Alcohol al 70 %
- Tubos al vacío
- Guantes

➤ **Procedimiento:**

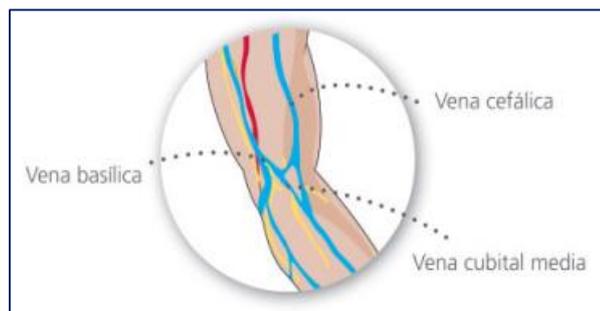
Previa a la extracción sanguínea, hay algunas consideraciones que el paciente debe tener en cuenta:

- Evitar el estrés antes y durante la toma de la muestra.
- No hacer ejercicios vigorosos durante tres días antes de tomar la muestra.
- No ingerir bebidas alcohólicas antes y durante la toma de la muestra.
- Permanecer en ayunas durante 12 horas antes de la toma de la muestra.
- No fumar antes ni durante la toma de la muestra.
- Los pacientes en reposo no deberán cambiar de postura al momento de la toma de muestra.

Los pasos fundamentales para llevar a cabo una buena extracción sanguínea son:

- Leer cuidadosamente la solicitud de pedido de exámenes y proceder a preparar el material necesario.
- Colocar al paciente de manera adecuada (sentado o tendido).
- Verificar los datos del paciente con los de la solicitud de pedido de exámenes.
- Preguntar al paciente si se encuentra en ayuno de 8-12 horas.

- Informar al paciente la manera en que se llevara a cabo el proceso de extracción.
- Extendemos el brazo del paciente para inspeccionar y palpar la vena.
- Le decimos al paciente que apriete el puño con fuerza para examinar el brazo y elegir la vena adecuada para la extracción.



- Generalmente todas las venas son palpables; se recomienda llevar a cabo una buena visualización y palpación de la vena con la finalidad de tener información sobre la localización y dirección de la vena.
- En caso de que las venas del antebrazo y fosa antecubital presenten dificultad para su palpación y localización, se recomienda pedir al paciente abrir y cerrar el puño varias veces después de haberle colocado el torniquete o golpear ligeramente con los dedos índice y medio la zona de punción.

- Procedemos a desinfectar al área donde se hará la extracción con alcohol isopropílico al 70% con movimientos circulares. Debemos tomar en cuenta que una vez desinfectada la zona de punción ya no se debe palpar de nuevo la vena.
- Colocamos el torniquete a una distancia de 10cm. por encima del lugar de punción y luego canalizamos la vena, una vez que la sangre ha empezado a fluir, retiramos el torniquete
- No debemos tener colocado el torniquete por mucho tiempo (más de 1 minuto), debido a que se pueden producir alguna alteración en la estructura de las células o analitos que se van a determinar.
- Durante la punción, la capsula debe encontrarse en un ángulo de 30 a 45° con respecto al brazo y la aguja debe introducirse con el bisel hacia arriba y acorde a la dirección en que se encuentra la vena.
- Cuando se trata de una punción en el dorso de la mano, debe realizarse con una aguja de tamaño y grosor adecuado
- Luego se introduce el tubo en la capsula, y con ayuda de los dedos índices y medio mantenemos firme el sistema de extracción y con el dedo pulgar presionamos el tubo dentro de la capsula. Una vez que la sangre empieza a fluir, retiramos el torniquete y pedimos al paciente que abra el puño.
- El personal de toma de muestra debe asegurarse de extraer el volumen adecuado de sangre y tomar en cuenta el orden de llenado de los tubos. Al momento de realizar la extracción, el orden de los mismos es el siguiente:
 1. frascos de hemocultivos
 2. tubos secos (sin aditivos).
 3. tubos de coagulación.
 4. tubos de hemograma (EDTA)
 5. tubos con otros aditivos (heparina de litio y oxalato potásico y fluoruro sódico.)
- Procedemos a mezclar los tubos varias veces por movimiento de inversión para asegurar una mezcla homogénea de la sangre con el anticoagulante.
- Finalmente retiramos la aguja y colocamos una torunda de algodón aplicando presión sobre la zona de punción, para luego colocar un apósito (curita) en la misma.
- Una vez obtenida la muestra, procedemos a rotularla, ya sea con algún código, numeración o con los datos del paciente.

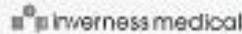
(Valero, 2009)

Anexo N.- 7

CONDICIONES DE OBTENCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS

Pruebas	Muestras	Período de Toma de muestra	Cantidad	Transporte	Conservación
Serología	Suero agudo	5-10 días de inicio de los síntomas.	1 vial (2 ml.)	Cadena de frío a 4-8°C	-20° C a -70° C
	Suero convaleciente	15 a 30 días de inicio de los síntomas.	1 vial (2 ml.)	Cadena de frío a 4-8°C	-20° C

(Ministerio de Salud, 2015)



Inverness Medical Innovations Australia Pty Ltd
 312 Sevenson Way, Rockdale, Sinnamon Park, QLD 4073 Australia
 T: +61 (0) 7 3363 7100 F: +61 (0) 7 3363 7199
 E: enquiries@invernessmedical.com.au www.panbio.com

Prohibida su venta o distribución en los Estados Unidos de América
PRUEBA LEPTOSPIRA IgM ELISA

Nº de catálogo E-LEP01ME-LEP01M05

APLICACIÓN

La prueba Leptospira IgM ELISA de Panbio (Panbio Leptospira IgM ELISA) se utiliza para la detección cualitativa de los anticuerpos IgM para la Leptospira en suero, como ayuda al diagnóstico clínico de pacientes con síntomas clínicos coherentes con la leptospirosis.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa aguda que afecta tanto al hombre como a los animales. Está originada por espiroquetas del género Leptospira. En la actualidad, existen más de 250 serovarios patógenos de la especie, *Leptospira interrogans*¹.

La presentación de la infección puede oscilar desde subclínica hasta grave². Generalmente, el inicio de la infección es súbito, con síntomas como dolor de cabeza, fiebre, dolores musculares, infección conjuntival, meningitis y dolores abdominales. Pueden producirse complicaciones graves tales como fallo hepato renal e implicación del sistema nervioso central, especialmente si se retrasa el diagnóstico y el tratamiento. Otros síntomas documentados son depresión e irritabilidad².

El ser humano es el huésped accidental en la leptospirosis y se infecta a través del contacto con orina o heces de animales infectados (por ejemplo, ganado), o agua y suelos contaminados con orina animal infectada. El organismo se introduce en el cuerpo a través de cortes o quemaduras en la piel, o a través de membranas mucosas. Por tanto, las infecciones pueden estar relacionadas con actividades profesionales o recreativas. La transmisión de un individuo a otro es poco frecuente.

Los anticuerpos IgM aparecen tres días después de la infección y pueden persistir hasta cinco meses, aunque se han registrado casos de anticuerpos IgM que han permanecido durante años e incluso toda la vida³.

La detección de un anticuerpo específico del tipo IgM frente al antígeno específico de género *Leptospira* mediante la prueba ELISA es un valioso procedimiento de exploración selectiva para el diagnóstico de infecciones graves^{4,5}. Se trata de una alternativa aceptable a las pruebas de fijación del complemento y de aglutinación específicas del género. La presencia de un nivel importante o creciente de IgM se considera una señal de presunta infección de leptospira activa.

La prueba Leptospira IgM ELISA de Panbio ha demostrado ser capaz de detectar infecciones originadas por una serie de serovarios *L. interrogans*: hardjo, pomona, copenhageni, australis, madanasi, Anamastis, nikolava, calderoni, canicola, grippityphosa, szajkjak, qaziman y tarassovi⁶.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El suero que contiene anticuerpos frente al antígeno de la leptospira, cuando está presente, se combina con el antígeno de la leptospira adherido a la superficie de poliestireno de los micropocillos. El suero sobrante se elimina por lavado y se añade un conjugado de peroxidasa y anti-IgM humana. Los micropocillos se lavan y se añade un sistema de sustrato incoloro, tetrametilbenidina/peróxido de hidrógeno (Cromógeno TMB). El sustrato se hidroliza por la enzima y el cromógeno cambia a color azul. Después de interrumpir la reacción con ácido, la TMB se vuelve amarilla. La aparición de color indica la presencia de anticuerpos IgM de Leptospira en la muestra en estudio.

MATERIALES QUE SE SUMINISTRAN

Nota: E-LEP01M05 = 5 x E-LEP01M

1. Micropocillos Recubiertos con Antígeno de Leptospira – (12 x 5 pocillos). Listos para su uso. Los micropocillos no utilizados se deben volver a sellar y almacenar con el secante. Estable a 2-8°C hasta su caducidad.
2. Tampón de Lavado (20x) – Una botella de 60 mL de solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2-7,6) concentrada 20x, con Tween 20 y conservante (Proclin™ al 0,1%). Puede cristalizar a bajas temperaturas. Para corregirlo, incubar a 37°C hasta que esté transparente. Mezclar bien. Diluir una

parte del tampón de lavado con 19 partes de agua destilada. El tampón diluido puede almacenarse durante una semana (2-25°C).

3. Diluyente de la Muestra – Dos frascos de 50 mL (Rosa). Listo para su uso. Solución salina tamponada con Tris (pH 7,2-7,6) con conservantes (Proclin™ al 0,1%) y aditivos. Estable a 2-8°C hasta su caducidad.
4. Anti-IgM Humana Conjugada con AHRP – Un frasco de 15 mL (Amarillo). Listo para su uso. Anti-IgM humana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano con conservante (Proclin™ al 0,1%) y estabilizantes de proteínas. Estable a 2-8°C hasta su caducidad.
5. Cromógeno TMB (TMB) – Un frasco de 15 mL. Listo para su uso. Mezcla de 3,3',5,5'-tetrametilbenidina y peróxido de hidrógeno en un tampón citrato-ácido cítrico (pH 3,5-3,8). Estable a 2-8°C hasta su caducidad.
6. Control Reactivo – Un vial de tapón Negro con 200 µL de suero humano (contiene azida sódica al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable a 2-8°C hasta su caducidad.
7. Calibrador – Un vial de tapón Naranja con 400 µL de suero humano (contiene azida sódica al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable a 2-8°C hasta su caducidad.
8. Control Negativo – Un vial de tapón Blanco con 200 µL de suero humano (contiene azida sódica al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable a 2-8°C hasta su caducidad.
9. Solución de Fajcso – Una botella con tapón Rojo de 15 mL. Listo para usar. Ácido tartárico 1M. Estable a 2-25°C hasta su caducidad.

Proclin™ 200 es una marca registrada de Rohm and Haas Company.



Precaución (Dn - Noche) Precaución de seguridad para el calibrador y el control:

La concentración de azida sódica en estos componentes se clasifica como dañina y está sujeta a las siguientes frases de riesgo (R22, R32) "Toxica por ingestión" y "Libera gases muy tóxicos en contacto con los ácidos".

OTROS MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- (1) Micropipetas de precisión ajustables con puntas desechables (capacidad 5-1000 µL)
- (2) Agua desionizada
- (3) Sistema de lavado de micropocillos
- (4) Lector de micropocillos con filtro de 450 nm
- (5) Cronómetro
- (6) Bureta graduada
- (7) Matraz
- (8) Tubos de ensayo para diluir los sueros

PRECAUCIONES PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO

- (i) En todo el material de origen humano utilizado para preparar los controles, se ha analizado la presencia de anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana 1 y 2 (VIH 1 y 2), la hepatitis C (VHC) y el antígeno de superficie de la hepatitis B, siendo negativa en todos ellos. No obstante, ningún método ofrece una garantía completa y los pocillos recubiertos con el antígeno se deben manipular como material potencialmente infeccioso. Los centros para el control y prevención de enfermedades y las instituciones sanitarias nacionales (de EE.UU.) recomiendan la manipulación con nivel de seguridad biológica 2 de todos los agentes potencialmente infecciosos.
- (ii) Esta prueba sólo se debe realizar en suero. No está establecido su uso con sangre total, plasma u otro tipo de muestras.
- (iii) No se deben usar sueros liofilizados o lipémicos, o en los que se evidencie hemólisis o crecimiento bacteriano.

- (iv) No inactivar los sueros por calentamiento.
- (v) Todos los reactivos se deben equilibrar a temperatura ambiente (20-25°C) antes de comenzar el ensayo. El ensayo se ve afectado por las variaciones de temperatura. No extraer los micropocillos de la bolsa cerrada hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente (20-25°C).
- (vi) Dispensar los reactivos directamente desde los frascos con puntas de pipeta limpias. De no hacerlo así, los reactivos se pueden contaminar.
- (vii) Los micropocillos no utilizados se deben volver a sellar inmediatamente y almacenar con el secante. De no hacerlo así, se producirán resultados erróneos.
- (viii) Sistema de sustrato:
 - (a) Dado que la TMB es susceptible de contaminarse con iones metálicos, no permitir que el sistema de sustrato entre en contacto con superficies metálicas.
 - (b) Evitar la exposición prolongada a la luz directa.
 - (c) Algunos detergentes pueden interferir con el funcionamiento de la TMB.
 - (d) La TMB puede tener un color azul claro, lo que no afecta a la actividad del sustrato ni a los resultados del ensayo.



- (ix) Algunos componentes del estuche contienen ácido sódico que puede formar compuestos de ácido metálico muy explosivos al reaccionar con las tuberías de plomo o cobre. Para evitar la acumulación de ácido en los desagües, verter abundante agua después de desechar estos reactivos.
- (x) La azida sódica inhibe la actividad del conjugado. Para añadir el conjugado se deben usar puntas de pipeta limpias, de forma que la azida sódica no se traslade desde otros reactivos.

PARA OBTENER MÁS INFORMACIÓN DE SEGURIDAD, CONSULTE LA HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD DEL MATERIAL (MSDS) DISPONIBLE EN INVERNESS MEDICAL INNOVATIONS AUSTRALIA.

EXTRACCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La sangre obtenida por punción venosa se debe coagular a temperatura ambiente (20-25°C) y centrifugar a continuación, según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Approved Standard - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3-A5, 2005).

El suero se debe separar en cuanto sea posible y conservar refrigerado (2-8°C) o congelado (< -20°C) si el análisis no se realiza antes de dos días. Para el almacenamiento, se recomienda no utilizar congeladores con descongelación automática. No se recomienda el uso de suero icterico, hemolizado, lipémico o con crecimiento bacteriano. El CLSI proporciona recomendaciones sobre la conservación de las muestras de sangre (Approved Standard - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18-A3, 2004).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Nota: Asegúrese de que todos los reactivos se han estabilizado a temperatura ambiente (20-25°C) antes de comenzar el ensayo. Si se realiza el ensayo fuera de los intervalos de tiempo y temperatura indicados, se pueden obtener resultados no válidos. Se deben repetir los ensayos que se obtengan fuera de dichos intervalos.

PROCEDIMIENTO ELISA



- (i) Extraiga el número necesario de micropocillos de la bolsa de aluminio e insértelos en el soporte de tras. Son necesarios cinco micropocillos para Control Negativo (N), Control Reactivo (R) y Calibrador (CAL) por triplicado. Asegúrese de que los restantes micropocillos no utilizados se guardan en la bolsa de aluminio bien sellada.
- (j) Utilizando tubos de ensayo o placas de microtitulación adecuados, diluir el Control Reactivo, el Control Negativo, el Calibrador del punto de corte por triplicado y las muestras del paciente.
 - (a) A 10 µL de suero añadir 1000 µL de Diluyente de Muestra. Mezclar bien. Alternativamente,
 - (b) A 10 µL de suero añadir 90 µL de Diluyente de Muestra. Tomar 20 µL del suero diluido y añadir 180 µL de Diluyente de Muestra. Mezclar bien.
- (k) Pipetear 100 µL de muestra diluida del paciente, los Controles y Calibrador en sus micropocillos respectivos.
- (l) Cubra la placa e incúbelo durante 30 minutos a 37°C ± 1°C.
- (m) Lave seis (6) veces con el Tampón de Lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado más adelante).
- (n) Pipetee 100 µL del conjugado HRP y anti-IgM humana en cada pocillo.
- (o) Cubra la placa e incúbelo durante 90 minutos a 37°C ± 1°C.
- (p) Lave seis (6) veces con el Tampón de Lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado más adelante).
- (q) Pipetee 100 µL de TMB en cada pocillo.
- (r) Incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C), cronometrando desde la primera adición. Aparecerá una coloración azul.
- (s) Pipetee 100 µL de la Solución de Parada en todos los pocillos en el mismo orden y con los mismos intervalos de tiempo que cuando añadió TMB. Mezcle bien. El color azul cambiará a amarillo.
- (t) Antes de 30 minutos, lea la absorbancia de cada pocillo a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de 600-650 nm.

Nota: Si dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fije el filtro de referencia entre 600-650 nm. Si se leen los micropocillos a 450 nm sin un filtro de referencia, se pueden obtener valores de absorbancia superiores debido al fondo.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

En el procedimiento ELISA, es fundamental seguir un procedimiento de lavado eficaz para eliminar los componentes o la muestra que no ha formado complejos.

A. Lavadora de placas automática

- (1) Aspire completamente todos los pocillos.
- (2) Llene los pocillos hasta el borde (300 µL) durante el ciclo de lavado.
- (3) Al terminar los seis (6) lavados, invierta la placa y golpéela firmemente sobre papel secante para garantizar que se elimina todo el tampón.
- (4) El mantenimiento de las lavadoras de placas automáticas debe ser continuo para garantizar un lavado eficaz. Se deben seguir las instrucciones de limpieza del fabricante en todo momento.

B. Lavado manual

- (1) Deseche el contenido de la placa en un contenedor adecuado.
- (2) Llene los pocillos de Tampón de Lavado con un frasco flexible. Evite la formación de burbujas con el tampón de lavado, ya que se reduce la eficacia. Elimine el Tampón de Lavado de los pocillos inmediatamente.
- (3) Vuelva a llenar los pocillos con Tampón de Lavado y elimine inmediatamente.
- (4) Repita el paso (3) otras cuatro veces. El procedimiento con Tampón de Lavado debe repetirse seis (6) veces en total.
- (5) Después del último lavado, elimine el contenido de los pocillos y golpee la placa sobre el papel secante para garantizar que se ha eliminado todo el tampón.

CÁLCULOS

NOTA IMPORTANTE: El factor de calibración es específico de cada lote y se encuentra detallado en la hoja de especificaciones. Obtenga el valor del factor de calibración antes de comenzar los cálculos.

- (1) Calcular la media de la absorbancia de los triplicados del calibrador y multiplicar por el factor de calibración. Éste es el valor del punto de corte.
- (2) Puede calcularse un valor de índice dividiendo la absorbancia de la muestra entre el punto de corte (calculado en el paso (1) anterior).

Como alternativa,

- (3) Pueden calcularse unidades Pambio multiplicando el valor de índice (calculado en el paso (2) anterior) por 10.

Valor de índice = $\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Valor del punto de corte}}$

Ejemplo: Absorbancia de la Muestra A = 0,049
Absorbancia de la Muestra B = 0,070

Absorbancia media del calibrador = 0,802
Factor de calibración = 0,62
Valor del punto de corte = $0,802 \times 0,62 = 0,497$

Muestra A $(0,049/0,497) = 1,91$ Valor de índice
Muestra B $(0,070/0,497) = 0,14$ Valor de índice

Unidades Pambio = Valor de índice X 10

Muestra A $1,91 \times 10 = 19,1$ unidades Pambio
Muestra B $0,14 \times 10 = 1,4$ unidades Pambio

CONTROL DE CALIDAD

Cada ensayo contiene un Calibrador y Controles Reactivo y Negativo, cuyos valores aceptables se encuentran en la hoja de especificaciones adjunta. Los Controles Negativo y Reactivo están previstos para controlar un fallo sustancial del reactivo. El Control Reactivo no asegurará la precisión del valor de punto de corte del ensayo. El ensayo no es válido y se debe repetir si las lecturas de absorbancia de los Controles o del Calibrador no cumplen las especificaciones. Si el ensayo no es válido, no se puede emitir el informe de los pacientes.

Los requisitos del control de calidad (CC) deben realizarse de acuerdo con las normas o requisitos de acreditación locales, regionales o nacionales y los procedimientos de control de calidad estándar del laboratorio.

Es recomendable que el usuario consulte las recomendaciones del CLSI C24-A y 42 CFR 493.1255 sobre prácticas adecuadas de control de calidad.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

ÍNDICE	UNIDADES PAMBIO	RESULTADO
<0,9	<9	Negativo
0,9 - 1,1	9 - 11	Dudoso
>1,1	>11	Positivo

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Negativo	No hay anticuerpo IgM detectable. Si no se detectan anticuerpos IgM específicos y se sospecha de una infección reciente, se puede confirmar con otra prueba de una muestra transcurridos de 7 a 14 días.
Dudoso	Se debe repetir el estado de las muestras dudosas. Las muestras que sigan dando un resultado dudoso tras la repetición, se deben volver a repetir utilizando otro método, o bien se debe extraer otra muestra.
Positivo	Presencia de anticuerpo IgM detectable.

A continuación se indica un método recomendado para presentar los resultados obtenidos. Los resultados siguientes se obtuvieron con la prueba Leptospira IgM ELISA de Pambio. Los valores obtenidos con otros métodos no son intercambiables. La magnitud

del resultado medido por encima del punto de corte no indica la cantidad total de anticuerpo presente. El resultado se presentará como positivo, negativo o dudoso.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA Y VALORES ESPERADOS

1. El diagnóstico clínico se debe interpretar junto a los signos y síntomas clínicos del paciente. Los resultados de esta prueba no son diagnósticos por sí solos y se deben valorar junto a los demás datos clínicos y síntomas del paciente.
2. Los resultados obtenidos en pacientes inmunodeprimidos se deben interpretar con precaución.
3. No se debe utilizar para realizar exploraciones selectivas en la población general. El valor predictivo positivo depende de la probabilidad de que el organismo esté presente. El estudio se debe realizar sólo en pacientes con síntomas clínicos o cuando se sospeche una exposición.
4. La seroepidemiología de una población puede variar con el tiempo y en las distintas regiones geográficas. En consecuencia, el punto de corte puede necesitar un ajuste basado en los estudios locales.
5. No se ha establecido las características de funcionamiento para la determinación visual del resultado.
6. En la leptospirosis, el anticuerpo IgM suele estar presente durante los primeros 5 o 10 días después del inicio de la enfermedad. La presencia de IgM específico en una muestra independiente puede indicar una infección reciente. Un resultado positivo de una única muestra se debe considerar como una posible infección reciente, o bien, si está acompañada de una presentación clínica de apoyo, como un diagnóstico de presunción.
7. Niveles crecientes de anticuerpo específico en sueros parados se consideran una señal serológica de infección reciente. La imposibilidad de demostrar al menos un aumento o descenso de las unidades de anticuerpo IgM en muestras de suero recogidas consecutivamente puede incluir una infección reciente por parte de *Leptospira* spp.
8. Esta prueba se ha diseñado como una prueba de exploración selectiva. Por tanto, un porcentaje reducido de pacientes con otras infecciones agudas (por ejemplo, fiebre Q) puede arrojar un resultado positivo. Por consiguiente, todos los sueros que arrojen un resultado positivo deben enviarse a un laboratorio de referencia para confirmar el anticuerpo específico IgM y para el registro epidemiológico.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Se analizaron 252 sueros identificados con la prueba Leptospira IgM ELISA de Pambio dentro de un estudio interno. Los sueros identificados como MAT incluyeron 57 muestras seropositivas y 195 muestras seronegativas de *Leptospira*. Los resultados se resumen en la tabla 1.

Tabla 1
Sensibilidad y especificidad serológicas de la prueba Leptospira IgM ELISA de Pambio

Identificación del suero	Prueba ELISA de Pambio		Total
	Positivo	Negativo	
Seropositivo (+)	55	2	57
Seronegativo (-)	3	192	195
Total	58	194	252

Sensibilidad serológica = $\frac{55}{57} = 96,5\%$ (95% CI 91,8-99,8%)
Especificidad serológica = $\frac{192}{195} = 98,5\%$ (95% CI 96,7-99,7%)
Concordancia serológica = $\frac{247052}{247052} = 99,9\%$ (95% CI 99,4-99,9%)
Intervalo de confianza

Nota: La sensibilidad y especificidad "serológicas" se refieren a la comparación de los resultados del ensayo de Pambio respecto a otros ensayos utilizados normalmente para diagnosticar la leptospirosis. No se ha intentado correlacionar los resultados del ensayo con la ausencia o la presencia de enfermedades. No se puede juzgar la exactitud de la comparación para predecir la enfermedad. Dado que los estudios mencionados se realizaron en una población retrospectiva preseleccionada, no se pueden realizar ni otros cálculos de los valores predictivos positivo y negativo del ensayo.

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad de la prueba Leptospira IgM ELISA de Pambio se determinó estudiando tres veces ocho sueros con tres números de lote distintos de la prueba de Pambio en tres días distintos. La precisión diaria, entre los distintos días y entre los distintos lotes,

así como la precisión total, se estimaron mediante el análisis de la varianza (ANCOVA, tipo II). Los resultados se exponen en la tabla 2.

Tabla 2
Resultados de reproducibilidad
Medidas de precisión (utilizando el valor índice*) de
la prueba Leptospira IgM ELISA de Panbio

Muestra	n	Medio	Diaris		Entre días		Entre lotes		Total	
			DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV
Positivo	27	2,42	3,14	5,7%	0,27	3,0%	0,09	3,8%	0,17	4,9%
Punto de corte	27	1,00	4,03	3,4%	0,93	0,0%	0,00	0,0%	0,03	3,2%
Negativo	27	0,09	0,01	10,2%	3,93	3,2%	0,90	0,0%	0,01	10,0%
#1	27	3,31	0,19	5,8%	5,18	5,7%	0,67	20,1%	0,90	19,2%
#2	27	3,32	0,16	4,9%	5,13	3,9%	0,83	18,8%	0,96	19,8%
#3	27	2,91	0,22	7,6%	5,16	5,5%	0,75	25,2%	0,89	23,8%
#4	27	1,83	0,10	6,6%	0,00	0,0%	0,31	22,0%	0,27	17,8%
#5	27	1,83	0,05	4,8%	0,03	3,3%	5,18	18,8%	0,17	12,8%
#6	27	1,30	0,11	8,2%	0,06	4,2%	5,18	13,1%	0,13	14,1%
#7	27	0,85	0,08	7,9%	0,04	4,8%	0,06	6,2%	0,19	16,2%
#8	27	0,77	0,05	6,6%	0,00	0,0%	0,04	5,2%	0,04	7,8%

Todos los valores se calculan como valores índice (punto de corte con DC)
DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación

Nota: Los resultados de desviación estándar se ha redondeado al segundo decimal para la tabulación.
*El valor índice se calcula dividiendo la absorbancia de la muestra entre el valor del punto de corte.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se estudió un panel compuesto por 60 muestras procedentes de pacientes con enfermedades confirmadas (distintas de la leptospirosis) para establecer la especificidad analítica de la prueba Leptospira IgM ELISA de Panbio. Las muestras procedían de pacientes cuyas enfermedades podrían originar una reacción cruzada. En cada una de las muestras incluidas en el estudio se identificó el diagnóstico de la enfermedad antes de aplicar la prueba Leptospira IgM ELISA de Panbio. En la tabla 3 se resumen los resultados.

Tabla 3
Análisis de reactividad cruzada
de la prueba Leptospira IgM ELISA de Panbio

Tipo de enfermedad	Muestras totales	Resultado positivo de ELISA de Panbio
Virus de Epstein-Barr	10	0/10
Virus del río Ross	10	0/10
Brucella	10	0/10
Gripe A	7	0/7
Gripe B	7	1/7
Fiebre Q	5	1/5
Tifus de los matorrales	10	2/10
Total	60	4/60

REFERENCIAS

- Smythe, L., Dohnt, M., Norta, M., Symonds, M. and Scott, J. (1997). Review of leptospirosis notifications in Queensland 1985 to 1995. *CDI* 21:17-20.
- Turner, L.H. (1993). Leptospira II Serology. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg.* 82:880-899.
- Benenson, A. (Ed). (1985) *Control of Communicable Diseases Manual: an official report of the American Public Health Association* (16th edn.). The Association, Washington.
- Winalow, W.E., Merry, D.J., Piro, M.L. and Devine, P.L. (1997). Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. *J. Clin. Microbiol.* 35:1938-1942.
- Terpstra, W.J., Lighthart, G.S. and Schoone, G.J. (1995). ELISA for the detection of specific IgM and IgG in Human Leptospirosis. *J. Gen. Micro.* 131:377-385.
- Adler, B. and Faine, S. (1980). Epidemiology of human leptospirosis in Australia. *CDI Bulletin* 8(2):2-4.
- U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1990). p. 8-16. In (ed.) Richmond JY, McGinley RW, *Guidelines: Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

EC REP

Representante autorizado:
MedMark Europe
11, rue Emile Zola - BP 2332
38033 Grenoble Cedex 2 - Francia
Tel: +33 (0) 470 864 322
Fax: +33 (0) 470 171 982



Anexo N.- 9



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
Área de la Salud Humana
Carrera de Laboratorio Clínico



Edad:

Sexo:

Barrio:

1. ¿Cuántas personas viven en su casa?

1-3 _____ 4-6 _____ mayor a 6 _____

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

Tierra _____
Cemento _____
Baldosa (cerámica) _____
Tabla _____

3. ¿Qué tipo de calzado utiliza?

Zapato _____
Zapatillas _____
Botas _____

¿Con qué frecuencia? Siempre () A veces () Nunca ()

4. ¿Cómo es su servicio sanitario?

Inodoro _____
Letrina _____
Entierro _____

5. ¿Sufren inundaciones durante la época invernal?

Sí _____ No _____

6. ¿Qué tipo de agua utiliza para beber?

Clorada (tratada) _____
Directo de la llave (entubada) _____
Compra agua (bidón) _____

Agua directamente de quebrada o río _____

7. ¿Qué tipo de animales tiene en su vivienda?

Perro _____
Cerdo _____
Vaca _____
Otro _____

8. ¿Existe presencia de roedores en su casa o alrededores?

Sí _____ No _____

Cuales: ratas () cobayos () cuyes () conejos ()

9. ¿Qué tipo de vestimenta utiliza cuando realiza sus labores agrícolas?

Gafas para proteger los ojos _____
Camiseta _____
Camisa manga larga _____
Guantes _____
Pantalón _____
Pantaloneta _____
Botas _____

10. ¿Usted consume el agua de la quebrada o río cuando sale a realizar sus actividades agrícolas?

Sí _____ No _____

11. ¿Ha presentado cuadros febriles (fiebre) últimamente?

Sí _____ No _____

Hace que tiempo: menos de 15 días () 30-60 días () más de 60 días ()

12. ¿Ha presentado alguno de estos síntomas durante los últimos 10 días?

Cefalea (dolor de cabeza) _____
Escalofrío _____
Dolor muscular _____
Náuseas, vómito _____
Dolor abdominal _____
Ictericia (color amarillento de la piel) _____
Confusión o depresión _____

Anexo N.- 10

FORMATO PARA ENTREGA DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS CONTRA LE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRA IgM

 Ministerio de Salud Pública			MINISTERIO DE SALUD PUBLICA “HOSPITAL JULIUS DOPFNER” LABORAROTIO VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA										
Semana epidemiológica	Ingreso muestra	# Lab.	Nombres	Edad	Sexo	Dirección	Cantón – parroquia	Provincia	Área	Días	Resultado Leptospira IgM	Fecha reporte	Observación

Nota: Se recomienda siempre para detección de ANTICUERPOS IgM se debe tomar la muestra pasado los 5 días de síntomas esto para tener mayor fiabilidad en el resultado.

VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA – HPJD
2607-333

Anexo N.- 11

RESULTADOS DE MAT DE PACIENTES DE GUADALUPE QUE FUERON CONSIDERADOS DENTRO DE TESIS 2015 (INDETERMINADOS Y POSITIVOS)

COD. INSPI	NOMBRE	EDAD	TIPO DE MUESTRA	RESULTADO INSPI
731	AMAY PINEDA CARMEN	24 AÑOS	Suero	Positivo <i>Leptospira</i> Cynopteri 1:200 Celledoni 1:200
732	AMAY PINEDA GLENDA CRISTINA	22 AÑOS	Suero	Positivo <i>Leptospira</i> Cynopteri 1:200
733	ANTUN YAWUAK MARIA CLEMENCIA	58 AÑOS	Suero	Positivo <i>Leptospira</i> Celledoni 1:400 Bataviae Swart 1:200
734	CARRION DAVALOS RUTH MAGALI	25 AÑOS	Suero	Positivo <i>Leptospira</i> Cynopteri 1:200 Grippotyphosa 1:200
735	AWAK WASHAPA ISIDRO MARCELINO	16 AÑOS	Suero	Positivo <i>Leptospira</i> Grippotyphosa 1:200 Bataviae Swart 1:200
736	GUAMAN LEON PRISCILA JACKELINE	23 AÑOS	Suero	Positivo <i>Leptospira</i> Cynopteri 1:200 Grippotyphosa 1:200
737	GUAMAN PAQUI DOLORES NOEMI	33 AÑOS	Suero	NEGATIVO Anticuerpos Anti – <i>Leptospira</i> IgM
738	GUAMAN PAQUI MIRIAM AGUEDA	38 AÑOS	Suero	NEGATIVO Anticuerpos Anti – <i>Leptospira</i> IgM
739	GUARDERAS GUAMAN MAYRA PATRICIA	21 AÑOS	Suero	NEGATIVO Anticuerpos Anti – <i>Leptospira</i> IgM
740	LOZANO PUCHAICELA ROSA HETELBINA	32 AÑOS	Suero	NEGATIVO Anticuerpos Anti – <i>Leptospira</i> IgM
741	MORILLO GUALAN KATLEN ANDREINA	20 AÑOS	Suero	Positivo <i>Leptospira</i> Bataviae Swart 1:200
742	MOROCHO POMA ANGEL BENIGNO	30 AÑOS	Suero	NEGATIVO Anticuerpos Anti – <i>Leptospira</i> IgM
743	TENE MINGA MARIA MERCEDES	41 AÑOS	Suero	NEGATIVO Anticuerpos Anti – <i>Leptospira</i> IgM

Anexo N.- 12

 Ministerio de Salud Pública



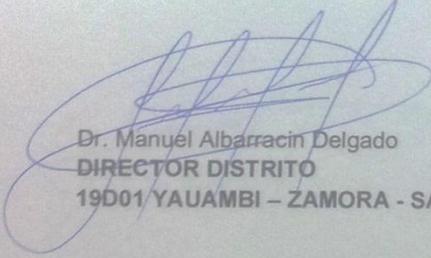
DIRECCION DISTRITAL 19D01 YACUAMBI-ZAMORA-SALUD

CERTIFICACION:

Que Sr: **ANDRES GABRIEL CARRION PLAZA**, portador de la CI: 1104206618, realizo su trabajo de investigación (toma y análisis de muestras) previa autorización de la Dirección Distrital 19D01 YACUAMBI – ZAMORA – SALUD, cuyo tema es: **"IDENTIFICACION DE LEPTOSPIROSIS EN AGRICULTORES DE LA PARROQUIA GUADALUPE DE LA PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE Y SU RELACION CON LOS FACTORES DE RIESGO"**; durante la misma se desarrolló con total profesionalismo; además reposan en la institución copias de los resultados obtenidos de los pacientes investigados.

Zamora; 25 mayo de 2015

Es todo cuanto puedo certificar.


Dr. Manuel Albarracín Delgado
DIRECTOR DISTRITO
19D01 YAUAMBI – ZAMORA - SALUD



24 de Mayo y Av. Alonso de Mercadillo
Teléfonos: 07 (2) 606 042 605 148 ext: 104
www.salud.gob.ec 

ANEXO FOTOS

FOTOGRAFÍAS DE DESARROLLO DEL TRABAJO INVESTIGATIVO EN LAS PERSONAS DEDICADAS A LA AGRICULTURA EN LA PARROQUIA GUADALUPE

Fase Preanalítica



Fig.1 Llenado del consentimiento informado por parte de las personas dispuestas a participar en la investigación.



Fig.2 Toma de muestra sanguínea

Fase Analítica



Fig.3 Separación de sueros sanguíneos



Fig.4 Procesamiento y análisis de las muestras

Fase Postanalítica



Fig.5 Entrega de los resultados al Director y Encargada del Laboratorio del Distrito de Salud N.- 19D01 de la provincia de Zamora Chinchipe

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN DE APROBACIÓN.....	ii
AUTORÍA.....	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS.	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
1. TÍTULO	1
2. RESUMEN	2
SUMMARY	3
3. INTRODUCCIÓN	4
4. REVISIÓN DE LA LITERATURA	8
4.1 Definición de Leptospirosis	8
4.2 Epidemiología.....	8
4.3 Agente Etiológico	9
4.3.1 Tipos de Leptospiras	9
4.3.2 Reservorios.....	9
4.3.3 Factores de Riesgo	10
4.3.4 Transmisión	11
4.3.5 Modo de Transmisión.....	11
4.3.5.1 Transmisión Directa	11
4.3.5.2 Transmisión Indirecta	11
4.3.6 Patogenia.....	12
4.3.7 Formas Clínicas.....	12
4.3.7.1 Forma Anictérica	12
4.3.7.2 Forma Ictérica.....	12
4.3.7.3 Síndrome pulmonar Hemorrágico Grave	13
4.3.8 Manifestaciones Clínicas	13
4.3.9 Diagnóstico Clínico de Leptospirosis	13
4.3.10 Técnicas de Diagnóstico.....	14
4.3.10.1 Examen Directo	14
4.3.10.1.1 Frotis directo en microscopio de campo oscuro	14
4.3.10.1.2 Microscopía de campo claro.....	14

4.3.10.1.3	Microscopía de Fluorescencia	14
4.3.10.2	Detección de Antígeno.....	14
4.3.10.3	Aislamiento de Leptospiras.....	14
4.3.10.4	Métodos Serológicos	15
4.3.10.4.1	Aglutinación macroscópica en placa.....	15
4.3.10.4.2	Aglutinación macroscópica en placa con antígeno termo resistente.....	15
4.3.10.4.3	Hemaglutinación indirecta	15
4.3.10.4.4	Pruebas Inmunoenzimáticas	15
4.3.10.4.5	Inmunofluorescencia indirecta	15
4.3.10.4.6	Lepto – Dry–Dot	16
4.3.10.5	Pruebas moleculares	16
4.3.10.5.1	Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR)	16
4.3.11	Muestras para análisis de Leptospirosis	16
4.3.11.1	Sangre con Heparina para Cultivo.....	16
4.3.11.2	Sangre coagulada o Suero para serología.....	16
4.3.11.3	Orina para cultivo	16
4.3.11.4	Muestras postmortem	17
4.3.11.5	Líquido Ceforraquídeo y dializado para cultivo.....	17
4.3.12	Prevención.....	17
5.	METODOLOGÍA.....	18
5.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN	18
5.2	ÀREA DE ESTUDIO.....	18
5.3	UNIVERSO Y MUESTRA	18
5.3.1	UNIVERSO.	18
5.3.2	MUESTRA.	18
5.4	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSION.....	18
5.4.1	Criterios de Inclusión.....	18
5.4.2	Criterios de Exclusión.....	19
5.5	TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	19
5.5.1	Desarrollo de la Fase Pre-Analítica	19
5.5.2	Desarrollo de la Fase Analítica.....	20
5.5.3	Desarrollo de la fase Post-Analítica.....	20
5.6	ANALISIS Y TABULACIÓN DE DATOS	20
6.	RESULTADOS.....	21

7. DISCUSIÓN	26
8. CONCLUSIONES	29
9. RECOMENDACIONES	30
10. BIBLIOGRAFÍA	31
11. ANEXOS	36
ÍNDICE GENERAL.....	58
ÍNDICE DE TABLAS	61
ÍNDICE DE ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N.-1 Anticuerpos específicos (IgM) contra Leptospira.....	21
Tabla N.- 2Frecuencia por edad de los casos positivos de Leptospira.....	22
Tabla N.-3Frecuencia por sexo de los casos positivos de Leptospira.....	23
Tabla N.-4 Factores de riesgo para la presencia de Leptospirosis.....	24
Tabla N.-5 Presencia de manifestaciones clínicas con la demostración de anticuerpos específicos IgM contra Leptospira.....	25

ÍNDICE DE ANEXOS

Pág.

ANEXO N. 1: Solicitud de autorización y desarrollo del Trabajo de Investigación dirigida al director del Distrito de Salud N.- 19D01.....	36
ANEXO N.-2: Solicitud de autorización y desarrollo del Trabajo de Investigación dirigida a la encargada del Laboratorio Clínico del Distrito de Salud N.- 19D01.....	37
ANEXO N.-3: Oficio de solicitud de apoyo y facilidades para llevar a cabo el trabajo investigativo.....	38
ANEXO N.-4: Consentimiento Informado.....	39
ANEXO N.-5: Formato de registro para los pacientes.....	40
ANEXO N.-6: Protocolo de toma de muestra sanguínea mediante el método Vacutainer.....	42
ANEXO N.-7: Protocolo para conservación y transporte de muestras sanguíneas.....	45
ANEXO N.-8: Técnica de micro ELISA para Leptospira IgM.....	46
ANEXO N.-9: Encuesta.....	50
ANEXO N.-10: Formato para entrega de resultados.....	52
ANEXO N.-11: Resultados de muestras mediante la Técnica de MAT.....	53
ANEXO N.-12: Certificado de haber llevado a cabo el trabajo investigativo y análisis del mismo en el Distrito de Salud N.- 19D01.....	54