

Seroprevalencia de leptospirosis en Ensenada, Baja California, México

Seroprevalence of leptospirosis in Ensenada, Baja California, Mexico

Jorge Field-Cortázares¹
Angélica María Escárcega-Ávila²
Alberto Barreras-Serrano²
Sergio Antonio Romero-Valenzuela²
Luis Tinoco Gracia²

RESUMEN

La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica causada por la espiroqueta *Leptospira interrogans*; entre sus vectores destacan ratas, perros, bovinos y cerdos. Los síntomas son fiebre, escalofríos, derrame conjuntival, epistaxis, mialgias, cefalea intensa, náusea, vómito, faringitis, hepatomegalia y exantema. No hay estudios previos y se considera que no existe esta enfermedad en Ensenada. En este contexto, el objetivo de la investigación es estimar la seroprevalencia de leptospirosis, mediante Inmunofluorescencia (IFI) en humanos atendidos en tres laboratorios de diagnóstico clínico en Ensenada, Baja California, México. El presente es un estudio transversal, efectuado en el lapso comprendido entre octubre del 2011 y septiembre del 2012. Se colectaron 116 muestras de pacientes de Ensenada, Baja California. Los sueros sanguíneos fueron analizados para la detección de *Leptospira interrogans* implementado IFI del laboratorio FULLER, que detecta anticuerpos IgG contra *Leptospira interrogans*. Los resultados muestran que la seroprevalencia de leptospirosis fue del 15.5% (95% IC 8.9-22.1) en humanos de 1-75 años con antecedente de cefalea, de los cuales 10 fueron hombres y 8 mujeres. De ahí que la seroprevalencia fue mayor que la reportada en otras partes del país, por consiguiente, se debería incluir en los diagnósticos diferenciales del sector salud.

Palabras clave: leptospirosis, Leptospira, Zoonosis, Espiroqueta.

Fecha de recepción: 22 de noviembre de 2017

Fecha de aceptación: 15 de marzo de 2018

1 Departamento de Pediatría e Infectología, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California (UABC).

2 Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California (UABC).

Correspondencia: *Dr. Jorge Field Cortázares, Departamento de Pediatría e Infectología, Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Ave. Reforma y Blvd. Sánchez Zertuche, Fracc. Valle Dorado, Ensenada, B. C. Correo electrónico: Jorge_field_c@hotmail.com

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonotic disease caused by the spirochete *Leptospira interrogans*; among its vectors stand out: rats, dogs, cattle and pigs. The symptoms are fever, chills, conjunctival effusion, epistaxis, myalgia, intense headache, nausea, vomiting, sore throat, rash and hepatomegaly. There are no previous studies and it is considered that this disease does not exist in Ensenada. To estimate the seroprevalence of Leptospirosis It was used the serological of immunofluorescence assay (IFI) in humans of Ensenada, Baja California, Mexico, treated in 3 clinical analysis laboratories. The present transversal study was carried out between October 2011 and September 2012. We collected 116 samples of patients from Ensenada, Baja California. A total of 116 patient samples were collected from Ensenada, Baja California. The blood sera were analyzed for the detection of *Leptospira interrogans* implemented IFI from the laboratory FULLER, which detects IgG antibodies against *Leptospira interrogans*. The seroprevalence of Leptospirosis was 15.5% (95% IC 8.9-22.1) in humans aged 1-75 years with a history of headache, of which 10 were men and 8 were women. The prevalence was higher than that reported in other parts of the country, for what should be included in the differential diagnosis of the health sector.

Keywords: Leptospirosis, Leptospira, Zoonosis, Spirochete.

INTRODUCCIÓN

El término leptospirosis proviene del griego *leptos* (delgado) y *speira* (espiral), ha existido por miles de años, sin embargo, se describió por primera vez en 1886 por Adolph Weil, al describir un tipo particular de ictericia acompañada por esplenomegalia, disfunción renal, conjuntivitis y erupción cutánea, nombrada posteriormente enfermedad de Weil. El agente etiológico *Leptospira interrogans* fue aislado y demostrado por primera vez por Arthur Stimson en 1907, quien observó espiroquetas con extremos curvos en los riñones de un paciente y creyó que habían muerto a causa de la fiebre amarilla y las nombró *Spirochaeta interrogans*.^{1,2} El género *Leptospira* orden *Spirochetales*, familia *Leptospiraceae* incluye más de 20 especies de las cuales 9 son patógenas y 5 patógenas intermedias con más de 250 serovariedades. Es una bacteria patógena que infecta a humanos y animales. Aproximadamente, mide 0.1-0.5 x 6-20 μm y es fuertemente móvil, gira alrededor de su eje longitudinal, se mueve de manera alterna y es aerobia estricta. Su agente causal más importante es *L. interrogans*; su similitud con el signo de interrogación le ha dado su nombre.³

La leptospirosis es una enfermedad que se adquiere por la penetración de la bacteria por piel o mucosas, al contacto con agua, suelos o superficies contaminadas con la orina de animales infectados. Los vectores más

importantes son ratas, perros, bovinos y cerdos.⁴ En la primera etapa se manifiesta con fiebre, escalofríos, derrame conjuntival, epistaxis, mialgias, cefalea intensa, náusea, vómito, faringitis, hepatomegalia y exantema. En fase anictérica, como fiebre baja o meningitis leve; se puede presentar como síndrome de Weil, con cefalea, exantema, miocarditis, neumonía, insuficiencia hepática, insuficiencia renal, leptospiruria, daño a sistema nervioso central y la muerte.^{3,5-9}

Afecta mundialmente a comunidades rurales y urbanas, la incidencia es mayor en áreas tropicales debido a inundaciones en áreas densamente pobladas. Se estima que al año hay más de 500,000 casos en el mundo con una mortalidad mayor al 10%.⁴

En México, existe un subregistro de la enfermedad por la dificultad para confirmar el diagnóstico, confusión con otras enfermedades y falta de análisis de laboratorio en casos con sintomatología leve. En el 2010, la tasa nacional era de 0.45 casos por cada 100,000 habitantes, con mayor incidencia en Hidalgo, Sinaloa, Veracruz, Tabasco, Sonora y Yucatán (0.22-9.8); el grupo de edad más afectado fue de 50-59 años con predominio del sexo masculino.¹⁰

En un estudio aprobado por la UNAM y publicado en 2015, donde se analizaron datos del INEGI y estadísticas del SUIVE; demuestra que Baja California, Durango,

Guanajuato, Querétaro y Zacatecas, nunca reportaron casos de leptospirosis en el periodo de 2000-2010.¹¹

OBJETIVO

Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue estimar la seroprevalencia de leptospirosis mediante el método serológico de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en humanos con antecedente de cefalea en los últimos seis meses, que acudieron a cualquiera de los tres laboratorios de análisis clínicos participantes en la ciudad de Ensenada, Baja California, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

El presente estudio transversal se realizó en el lapso comprendido entre octubre del 2011 y septiembre del 2012, incluyó 116 muestras de humanos de ambos sexos, mayores de un año hasta 75 años de edad, quienes acudieron a uno de los tres laboratorios clínicos que participaron de la zona urbana de Ensenada, Baja California. Los análisis de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Salud Pública Veterinaria del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC).

Este estudio cumplió con los lineamientos de la declaración de Helsinki en materia de investigación y ética. Fue requisito que los pacientes contaran con carta de consentimiento informado y autorización del padre o tutor cuando así lo requirió el caso.

Toma de muestras

El procedimiento para la toma, procesamiento, identificación y conservación de muestras de sangre se realizó de la siguiente manera: se recolectaron 2-3 ml de sangre en tubos al vacío sin anticoagulante de 3 ml, destinados para las pruebas serológicas, por punción venosa radial cubital previa antisepsia de la región con alcohol isopropílico. Las muestras sanguíneas colectadas fueron identificadas con números y centrifugadas a 3,500 RPM durante 10 minutos para obtener el suero para la realiza-

ción de IFI. El suero obtenido de cada muestra fue depositado en contenedores de 1.5 ml de capacidad, así como identificado y almacenado a -20°C hasta el momento de realizar las pruebas serológicas.

Análisis serológico

Las muestras fueron colectadas por personal adscrito al laboratorio clínico correspondiente. Las 116 muestras de sueros humanos fueron sometidas a IFI siguiendo las instrucciones del fabricante del kit LEG-120 Leptospirosis IgG IFA Kit FULLER® destinado a la detección y semi-cuantificación de anticuerpos IgG humanos contra *Leptospira Interrogans*, el cual tiene una sensibilidad de 95% y una especificidad de 92%. La dilución de los sueros fue de 1:64. Se utilizaron como control positivo y negativo los proporcionados en el kit. El control positivo se colocó en los pozos a diferentes diluciones, como lo recomienda el fabricante: 1:64, 1:128 y 1:256. Una vez obtenidas las diluciones, se colocaron 10 μl en los pozos de las placas de IFI y se incubaron a $37^{\circ}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 30 min, después se enjuagaron tres veces con PBS y se secaron. Después se colocaron 10 μl del conjugado y se incubaron a $37^{\circ}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 30 min en una incubadora oscura, después se enjuagaron tres veces con PBS y se secaron para ser observados en el microscopio de inmunofluorescencia.

RESULTADOS

De las muestras sanguíneas de los 116 pacientes estudiados, 18 resultaron positivos a *Leptospira Interrogans*, por el método serológico de IFI, es decir, un valor de seroprevalencia de 15.5% (95% IC 8.9-22.1).

La distribución de la seroprevalencia según los grupos de edad fue la siguiente: grupo 1 (1-17 años) = 7.6% (1/13); grupo 2 (18-47 años) = 14.6% (13/89); y grupo 3 (48-75) = 20.0% (4/20). De los 116 pacientes analizados, 41 fueron del sexo masculino y de éstos diez fueron positivos, 24.3% (95% IC 11.2-37.5); y 75 pacientes fueron del sexo femenino, de los cuales ocho resultaron positivos, 10.6% (95% IC 3.6-17.6). Como dato

circunstancial, todos los pacientes incluidos en el estudio coincidieron en tener un historial de cefalea en los últimos seis meses.

DISCUSIÓN

En la ciudad de Ensenada, B. C., México, no se cuenta con estudios previos que demuestren la existencia de enfermedad de leptospirosis en humanos.¹¹

La prueba que se utilizó en este trabajo es de alta eficacia, ya que tiene una sensibilidad de 95% y una especificidad del 92%, además puede detectar *Leptospira interrogans*, incluyendo los serogrupos *canicola*, *hardjo*, *pyrogenes*, *panama*, *pomona*, *tarassovi*, *icterohaemorrhagiae*, *gryppotyphosa*, *wolffi* y *brastislava*, que han sido estudiados en la República Mexicana.^{12,13}

Con este trabajo descriptivo, de las 116 muestras incluidas en el este estudio, se encontraron 18 muestras positivas a leptospirosis por IFI, por ende, lo que se reportó seroprevalencia de 15.5% (18/116), mayor que la reportada en otras partes del país.¹¹ Tal situación debe tomarse en cuenta en el sector salud como diagnóstico diferencial en la región, por la falta de un acertado diagnóstico y por la mortalidad que, se ha demostrado, va en aumento.¹⁴ Además, es necesario investigar cuáles huéspedes están involucrados, ya que pueden ser ratas, ratones, murciélagos, zarigüeyas, kinkajúes, gatos y lobos marinos.¹⁵⁻²²

Con estas evidencias serológicas de leptospirosis, que pueden tener reacciones cruzadas, es necesario realizar diagnósticos de confirmación, como es el caso de PCR con iniciadores específicos.¹⁵ Con técnicas moleculares para detectar ADN de *Leptospira*.²³⁻²⁷ Este tipo de estudios permiten postular la existencia de leptospirosis en el Estado de Baja California, puesto que se considera que no existe.¹¹

Es importante conocer la magnitud del problema de salud pública por leptospirosis en la región para establecer programas de medicina preventiva acordes a los casos, ya sea el control del vector o reservorios, progra-

mas de vacunación, de tratamiento y/o cambios de cultura de salud.²⁸

CONCLUSIONES

La seroprevalencia obtenida en este estudio fue mayor que la reportada en otras partes del país, por consiguiente se debe incluir en los diagnósticos diferenciales del sector salud.

Existe la necesidad de realizar otros estudios científicos para confirmar los casos seropositivos a leptospirosis, además para identificar el vector, así como su distribución en Ensenada, Baja California.

Los resultados del estudio permiten llamar la atención de los trabajadores de salud, especialmente médicos clínicos y epidemiólogos para que tomen en consideración la situación, así como proponer la realización de más trabajos de investigación para establecer programas de prevención y control de la enfermedad.

REFERENCIAS

1. CDC. Etimología: Leptospira. Emer Infec Dise Jour, 2013; 19: 392.
2. Adler B. Leptospira and leptospirosis. Ben Adler Ed. Springer 2015.
3. Romero-Cabello R. Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3 ed: Editorial Médica Panamericana, 2007. 1029-1036.
4. Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, et al. Harrison: principios de medicina interna. 18 ed: Editorial Mc-Graw Hill: México, 2012. 1392-1396.
5. Gasem MH, Farida H, Ahmed A, et al. Are Pathogenic Leptospira Species Agents of Community-Acquired Pneumonia? Case Reports of Leptospirosis Presenting as Pneumonia. J Clin Microbiol, 2016; 54: 197-199.
6. Murdoch DR, Woods CW, Zimmerman MD, et al. The etiology of febrile illness in adults presenting to Patan Hospital in Kathmandu, Nepal. Am J Trop Med Hyg, 2004; 70: 670-675.

7. Navinan MR, Rajapakse S. Cardiac involvement in leptospirosis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, 2012; 106: 515-520.
8. Segura ER, Ganoza CA, Campos K, et al. Clinical Spectrum of Pulmonary Involvement in Leptospirosis in a Region of Endemicity, with Quantification of Leptospiral Burden. *Clin Infec Dis*, 2005; 40: 343-351.
9. Zaltzman M, Kallenbach JM, Goss GD, et al. Adult respiratory distress syndrome in *Leptospira canicola* infection. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1981; 283: 519-520.
10. CONAVE. Leptospirosis. Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica. *Epidemiológica DgdESdSGTIdCNpIV*, ed, 2012. (Verificar si es revista o libro, si es libro falta lugar, editorial y páginas, si es revista reducir el nombre, incluir número y páginas.
11. Sánchez-Montes S, Espinosa-Martínez DV, Ríos-Muñoz CA, et al. Leptospirosis in Mexico: Epidemiology and Potential Distribution of Human Cases. *PLoS ONE* 2015; 10: e0133720.
12. Jiménez-Coello M, Vado-Solís I, Cárdenas-Marrufo MF, et al. Serological survey of canine leptospirosis in the tropics of Yucatan Mexico using two different tests. *Act Trop*, 2008; 106: 22-26.
13. Wong M, Katz AR, Li D, et al. *Leptospira* Infection Prevalence in Small Mammal Host Populations on Three Hawaiian Islands. *Am J Trop Med Hyg*, 2012; 87: 337-341.
14. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lan Infec Dis*, 2003; 3: 757-771.
15. Acevedo-Whitehouse K, de la Cueva H, Gulland F, et al. Evidence of *Leptospira interrogans* infection in California sea lion pups from the Gulf of California. *J Wildl Dis*, 2003; 39: 145-151.
16. Benacer D, Mohd Zain SN, Amran F, et al. Isolation and Molecular Characterization of *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* Isolates from the Urban Rat Populations of Kuala Lumpur, Malaysia. *Am J Trop Med Hyg*, 2013; 88: 704-709.
17. Bunnell J, Hice C, Watts D, et al. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *Am J Trop Med Hyg*, 2000; 63: 255-258.
18. Cameron CE, Zuerner RL, Raverty S, et al. Detection of Pathogenic *Leptospira* Bacteria in Pinniped Populations via PCR and Identification of a Source of Transmission for Zoonotic Leptospirosis in the Marine Environment. *J Clin Microbiol*, 2008; 46: 1728-1733.
19. Franco Bessa TA, Spichler A, Berardis Chapola EG, et al. The Contribution of Bats to Leptospirosis Transmission in Sao Paulo City, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, 2010; 82: 315-317.
20. Magnarelli LA, Anderson JF, Apperson CS, et al. Spirochetes in ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in white-tailed deer from Connecticut, New York State, and North Carolina. *J Wildl Dis*, 1986; 22: 178-188.
21. Matthias MA, Diaz MM, Campos KJ, et al. DIVERSITY OF BAT-ASSOCIATED LEPTOSPIRA IN THE PERUVIAN AMAZON INFERRED BY BAYESIAN PHYLOGENETIC ANALYSIS OF 16S RIBOSOMAL DNA SEQUENCES. *Am J Trop Med Hyg*, 2005; 73: 964-974.
22. Arbour J, Blais M-C, Carioto L, et al. Clinical Leptospirosis in Three Cats (2001-2009). *J Am Anim Hosp Assoc*, 2012; 48: 256-260.
23. Ahmed SA, Sandai DA, Musa S, et al. Rapid Diagnosis of Leptospirosis by Multiplex PCR. *MJMS*, 2012; 19: 9-16.
24. Bourhy P, Bremont S, Zinini F, et al. Comparison of Real-Time PCR Assays for Detection of Pathogenic *Leptospira* spp. in Blood and Identification of Variations in Target Sequences. *J Clin Microbiol*, 2011; 49: 2154-2160.

25. Agampodi SB, Matthias MA, Moreno AC, et al. Utility of Quantitative Polymerase Chain Reaction in Leptospirosis Diagnosis: Association of Level of Leptospiremia and Clinical Manifestations in Sri Lanka. *Clin Infect Dis*, 2012; 54: 1249-1255.
26. Felt SA, Wasfy MO, El-Tras WF, et al. Cross-Species Surveillance of *Leptospira* in Domestic and Peri-Domestic Animals in Mahalla City, Gharbeya Governorate, Egypt. *Am J Trop Med Hyg*, 2011; 84: 420-425.
27. Palaniappan R, Chang Y, Chang C, et al. Evaluation of lig-based conventional and real time PCR for the detection of pathogenic leptospire. *Molec Cell Prob*, 2005; 19: 111-117.
28. Littman MP. Canine borreliosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2003; 33: 827-862.