

Prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la Región Metropolitana

Cecilia Perret P¹, Katia Abarca V¹, Jeannette Dabanch P¹,
Verónica Solari G^{1,2,a}, Patricia García C³, Soledad Carrasco L⁴,
Roberto Olivares C¹, Patricia Avalos^{5,a}.

Risk factors and frequency of positive antibodies for leptospirosis in a sub urban population near Santiago

Background: Leptospirosis is a zoonotic disease and its incidence is known in Chile since 2002, when it was incorporated as a disease that must be reported to health authorities. A serologic survey for leptospirosis was performed in humans and animals from a farm in a semi urban area in Santiago Chile, after the death of a farmer due to Weil disease in that place. **Aim:** To report the prevalence of antibodies against leptospirosis and to determine exposure to infection risk factors in the humans and domestic animals studied in this survey. **Material and methods:** Antibodies were detected by IgM immunodot and indirect haemagglutination test in 61 humans (43 male, aged 5 to 70 years) and by microscopic agglutination test (MAT) in 44 animals. A questionnaire was applied to determine their exposure to risk factors for infection with *Leptospira*. **Results:** Seventy two percent of the studied population were farm workers and 70% had activities that required contact with water from canals, 41% cleaned closed places where rodents were present. Other risk factors detected were lack of sewage and waste disposal, high level of rodent infestation and disposal of faeces into canals used for watering. Two humans (3.3%) and six animals (1 bovine and 5 rodents) had positive antibodies. Among animals, antibodies against *Leptospira* serovar pomona and icterohaemorrhagiae were detected. **Conclusions:** In Chile, leptospirosis exists not only in rural areas but semi urban ones close to Santiago, although the prevalence is low. Education is necessary among semi urban population to avoid infection (Rev Méd Chile 2005; 133: 426-31). (**Key Words:** Leptospirosis; *Leptospira interrogans*; Weil disease)

Recibido el 17 de agosto, 2004. Aceptado en versión corregida el 6 de enero, 2005.

¹Comité de Infecciones Emergentes, Sociedad Chilena de Infectología. ²SESMA. Unidad de Epidemiología, ³Laboratorio Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁴Servicio de Salud Metropolitano Central, Unidad de Epidemiología, ⁵Laboratorio y Estación Cuarentenaria y Pecuaria, Servicio Agrícola y Ganadero. Santiago de Chile.

^aMédico veterinario

Correspondencia a: Dra. Cecilia Perret P. Departamento de Pediatría, Pontificia Universidad Católica de Chile. Comité de Infecciones Emergentes, Sociedad Chilena de Infectología. Marcoleta 391, 4° piso. Fono: 6866825. Fax: 6387457. E mail: cperret@med.puc.cl

La leptospirosis es una zoonosis presente en nuestro país, cuya incidencia se conoce a partir del año 2000, cuando fue incorporada como enfermedad de notificación obligatoria a través de vigilancia de laboratorio. En el año 2002 es enfermedad de notificación obligatoria caso a caso¹, registrándose ese año 22 casos con una tasa de 0,14/100.000 hab, en su mayoría hombres relacionados con actividades laborales de riesgo². En 2003 se notificaron 33 casos, concentrados en los Servicios de Salud de Ñuble y Maule, con una tasa de 0,2/100.000 hab³. En el mundo se ha descrito una incidencia de 0,1-1/100.000 en países con clima templado y 10-100/100.000 hab en países tropicales⁴. La seroprevalencia en algunas zonas de riesgo en Chile ha sido de 22%, como en Valdivia⁵.

El agente causal es una espiroqueta del género *Leptospira*, especie *interrogans*, la cual tiene distintos serogrupos y serovares. *Leptospira* infecta a mamíferos produciendo desde infecciones asintomáticas hasta enfermedad grave. Los roedores sólo presentan infección asintomática. El hombre y otros mamíferos que enferman son considerados hospederos terminales y no representan riesgos de transmisión ya que tienen un corto período de excreción renal de *Leptospira*. Por el contrario, los animales infectados, que no desarrollan enfermedad, pueden excretar *Leptospira* a través de la orina por tiempo prolongado, generalmente durante toda su vida⁴. Estos constituyen la principal fuente de transmisión al contaminar el ambiente, especialmente aguas de riego, fuente de infección más frecuente al hombre. En ocasiones, otros productos o tejidos derivados de estos animales pueden ocasionar la infección al hombre por el contacto directo con piel o mucosas. El reservorio de *Leptospira* en sectores rurales lo constituyen los bovinos, porcinos, equinos y roedores silvestres. En las zonas urbanas, éste está constituido principalmente por roedores⁶⁻⁸ y probablemente perros. Se le considera una enfermedad ocupacional, ya que se presenta principalmente en personas relacionadas con actividades agrícolas, veterinarios, limpiadores de alcantarillados, trabajadores de mataderos y desratizadores¹. Sin embargo, también se ha asociado a actividades recreacionales, como la inmersión en aguas de riego. Un ejemplo de este mecanismo es el brote que afectó a 84 personas de Linares, VII región, que enfermaron

al bañarse en una piscina con agua de canales de riego¹.

El diagnóstico de leptospirosis se basa fundamentalmente en la sospecha clínica y en la detección de anticuerpos séricos. Los métodos de cultivo, si bien son confirmatorios, son de alta complejidad, baja sensibilidad (45%) y demorosos, por lo que no son de gran utilidad clínica⁹. Las técnicas de biología molecular como PCR no están disponibles ampliamente.

La determinación de anticuerpos es la forma más utilizada para el diagnóstico de esta enfermedad. La determinación de IgM por ELISA o por test rápidos inmunocromatográficos permite diagnosticar infección aguda. Diversos estudios han mostrado sensibilidad variable entre 36 y 100% para ELISA y entre 52 y 94% para los métodos inmunocromatográficos¹⁰⁻¹⁷ que son más sencillos, rápidos y no requieren equipamiento.

La técnica de hemaglutinación indirecta (HAI) determina anticuerpos totales (IgM e IgG) por lo que no permite diferenciar infección reciente de pasada. Es útil para estudios de seroprevalencia y es la recomendada por el Centro de Control de Enfermedades en Atlanta para su uso en laboratorios clínicos, ya que presenta una sensibilidad de 92% y una especificidad de 97% respecto del MAT¹⁸.

El test de aglutinación microscópica (MAT) es considerado el método serológico definitivo por su alta especificidad y porque diagnostica el serovar infectante. Determina anticuerpos totales (IgM e IgG), mediante aglutinación con antígenos de distintos serovares de *Leptospira*, por lo que una muestra de suero aislada no permite hacer el diagnóstico de infección aguda. Se requiere seroconversión o aumento de títulos en dos muestras de suero consecutivas. Existe reacción cruzada entre los anticuerpos de los distintos serovares, especialmente al comienzo de la infección. Es técnicamente complejo y requiere de personal entrenado para su interpretación. Por estas razones se reserva para laboratorios de referencia. La sensibilidad del MAT es variable, dependiendo del número de serovares incluidos en el panel. Un resultado puede ser falsamente negativo si el serovar infectante no se encuentra dentro de los antígenos utilizados para la prueba⁹.

A pesar de la disponibilidad de estas técnicas, el diagnóstico de leptospirosis aún plantea dificulta-

des. Los anticuerpos tipo IgM aparecen luego de 5-10 días de iniciada la sintomatología y pueden durar elevados por varios meses o años. De esta forma, muestras analizadas precozmente pueden ser falsamente negativas y muestras tardías pueden ser falsamente positivas de enfermedad aguda. La seroconversión o el incremento de títulos de anticuerpos, en al menos cuatro veces entre dos muestras, se considera confirmatorio de infección aguda por *Leptospira*. Basado en todas estas consideraciones, el resultado serológico de una muestra aislada, debe ser analizado en conjunto con el cuadro clínico y los antecedentes epidemiológicos de exposición para su adecuada interpretación.

En el verano de 2002, se diagnosticaron en la Región Metropolitana 3 casos de leptospirosis. Uno de ellos correspondió a un trabajador de un fundo aledaño a Santiago, quien falleció luego de presentar la forma grave de leptospirosis (enfermedad de Weil). El diagnóstico fue mediante ELISA IgM y MAT, la cual demostró anticuerpos anti-*L canicola* en títulos 1:102.400 y anti-*L icterohaemorrhagica* en títulos de 1:3.200.

Este paciente motivó el presente estudio, cuyos objetivos fueron determinar la frecuencia de anticuerpos anti-*Leptospira* en humanos expuestos a riesgo ocupacional o residencial y la seroprevalencia en los animales domésticos y silvestres de esa zona. También evaluar la presencia de factores de riesgo ambientales o conductuales conocidos para la infección por *Leptospira* con el fin de realizar actividades destinadas a la prevención de esta enfermedad.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio descriptivo y colaborativo de varias instituciones consistente en una visita epidemiológica al fundo donde vivía el caso índice, para evaluar la situación ambiental y hábitos de la población tales como: actividades con agua de regadío, disposición de excretas, eliminación de basura y limpieza de sitios cerrados. También se midió mediante un instrumento del SESMA el riesgo de infestación murina. Se enrolaron personas que residían o trabajaban en este fundo y que aceptaron participar, previa firma de consentimiento informado. Se aplicó una encuesta especialmente diseñada registrándose datos demográficos, laborales, exposi-

ción a distintos riesgos y síntomas sugerentes de leptospirosis. Además, se les tomó una muestra de 5 ml de sangre venosa para la determinación de anticuerpos séricos anti-*Leptospira* mediante las técnicas de IgM por inmunocromatografía y HAI realizados en el Laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica de Chile. A aquellos que resultaron positivos por estas técnicas se les realizó MAT en el laboratorio del SAG.

Se tomaron muestras de sangre a algunos de los animales del fundo: bovinos, porcinos, ovinos y roedores para la identificación de anticuerpos anti-*Leptospira* mediante la técnica de MAT.

La determinación de IgM mediante inmunocromatografía (LeptoTek Lateral Flow[®], BioMerieux, Mo) consiste en un inmunoensayo de reacción antígeno anticuerpo donde un antígeno de *Leptospira* es inmovilizado sobre una membrana de nitrocelulosa. Sobre esta membrana se aplica el suero del paciente, que si contiene IgM anti-*Leptospira* se formará un complejo antígeno anticuerpo el cual es revelado por la aparición de una línea al agregar un anticuerpo anti-IgM humana marcada con partículas de oro rojo coloidal.

La hemaglutinación indirecta (MRL Diagnostics[®], Ca) utiliza eritrocitos sensibilizados con antígeno derivado de *Leptospira biflexa* cepa Patoc 1. Cuando existen anticuerpos en el suero del paciente (IgG o IgM) ocurre una aglutinación de los glóbulos rojos. Utiliza eritrocitos no sensibilizados como control para evaluar reacciones inespecíficas. Se comienza con una dilución inicial 1:50 y, de ser positivo, se realizan diluciones seriadas hasta determinar la dilución límite de positividad.

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

RESULTADOS

Se encuestaron, de un total de 149 residentes y trabajadores, 61 personas (41%) distribuidos ho-

mogéneamente dentro del fundo. De los encuestados, 43 personas (70%) eran de sexo masculino. La mediana de edad fue 37 años (5-70), siendo 75% menores de 50 años. Sesenta y dos por ciento de la población tenía algún grado de educación básica. En la población estudiada se encontró la presencia de distintos factores de riesgo, como el ser residente del fundo, desarrollar labores agrícolas, contacto con agua de acequias, limpieza de lugares cerrados donde se había detectado la presencia de roedores y falta de protección personal en labores de alto riesgo, como el uso de botas de goma para actividades de regadío. La frecuencia de estos factores se resume en la Tabla 1.

Se encontraron 2 personas (3,3%) con anticuerpos positivos anti-*Leptospira* mediante HAI;

Tabla 1. Frecuencia de factores de riesgo asociados a leptospirosis en 61 personas encuestadas en el fundo

Factor de riesgo	n	(%)
Residentes del fundo	41/61	(67)
Labores agrícolas	44/61	(72)
Contacto agua de acequia	43/61	(70)
Limpieza de sitios con infestación murina	25/61	(41)
Uso inadecuado de equipo de protección personal	24/24	(100)
Viviendas sin alcantarillado	33/33	(100)

Tabla 2. Presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* en animales del fundo estudiados mediante técnica de MAT en el SAG

Especie	Nº estudiados	Nº positivos	Serovar
Bovinos	3	1	<i>L pomona</i>
Porcinos	4	0	-
Ovinos	2	0	-
Roedores	35	5 (14%)	<i>L icterohemorrágica</i>

un niño de 7 años, nieto del caso índice y un adulto de 64 años, ambos residentes del fundo. En ambos casos la IgM y MAT fueron negativas.

Se estudiaron por MAT 44 animales; 4 porcinos, 3 bovinos, 2 ovinos y 35 roedores, resultando positivos 6 de ellos con una prevalencia de 14%. Los animales positivos fueron un bovino con anticuerpos anti-*Leptospira pomona* en títulos 1:200 y 5 roedores con anticuerpos anti-*L icterohemorrágica* (Tabla 2). Tanto roedores silvestres como urbanos fueron positivos para infección por *Leptospira* (Tabla 3). Los perros del lugar no fueron estudiados, pues fueron vacunados contra leptospirosis durante la primera visita del equipo de salud ambiental, como medida de control de un posible brote.

El estudio ambiental reveló que la totalidad de las viviendas (33) de los encuestados eran de madera, con agua potable disponible en llave en el patio y que no contaban con sistema de alcantarillado. Las aguas servidas eran vaciadas al

canal y la disposición de basuras era a canales y sitios aledaños. El puntaje obtenido por el instrumento del SESMA, que determina riesgo de roedores, fue de 32/42, clasificando al lugar como de alto riesgo de infestación murina.

Conocidos los resultados del estudio ambiental y conductual, se realizaron algunas intervenciones

Tabla 3. Descripción de los roedores del fundo El Bosque y su frecuencia de anticuerpos anti-*Leptospira* estudiados mediante técnica de MAT en el SAG

Especie	Nº estudiados	Nº positivos (%)
<i>Mus musculus</i>	13	0 (0%)
<i>Abrothrix olivaceus</i>	10	1 (10%)
<i>Rattus norvegicus</i>	9	3 (33%)
<i>Rattus rattus</i>	3	1 (33%)
Total	35	5 (14%)

por el equipo de higiene ambiental de la Municipalidad de Maipú y del SESMA, como vacunación a los caninos del fundo, desratización del predio y actividades educativas a la población tendientes a disminuir las actividades riesgosas y controlar la proliferación de roedores.

DISCUSIÓN

Este estudio demuestra que la infección por leptospirosis existe en Chile, no sólo en zonas rurales sino que también en zonas periurbanas cercanas a Santiago, aunque ligadas a actividades agrícolas. La población de este fundo fue considerada de riesgo al existir el antecedente de un paciente que falleció por la forma grave de leptospirosis. Esto hizo sospechar que los trabajadores y habitantes del lugar podrían estar expuestos a las mismas fuentes infectantes que el caso índice. A pesar de esta hipótesis, y de haber constatado la presencia de varios de los factores de riesgo conocidos para leptospirosis, sólo 3,3% de las personas estudiadas reveló haber tenido infección por *Leptospira*. No se ha descrito la transmisión persona-persona en leptospirosis, por lo que el hallazgo de personas infectadas en el mismo fundo sugiere la exposición a los mismos factores ambientales. La prevalencia de leptospirosis de esta población es baja en comparación con otras poblaciones de riesgo estudiadas en Chile (trabajadores agrícolas, trabajadores de mataderos), en que se encontró 22% de la población con anticuerpos anti-*Leptospira*⁵. Estas cifras, probablemente, reflejan diferencias en la distribución geográfica de riesgo de adquirir leptospirosis a lo largo de Chile y en el tipo de poblaciones expuestas en relación con las actividades que realizan. El estudio que demuestra mayor prevalencia incluye, además de una población de trabajadores agrícolas, una población de trabajadores de mataderos, por lo que no es posible compararla con la población incluida en nuestro estudio. La selección de nuestra muestra no fue al azar sino que incluyó a quienes estaban interesados en participar. Puede haber aquí un sesgo de selección y la muestra no ser representativa de la población expuesta al riesgo real. Parece menos probable explicar la baja seroprevalencia por una baja sensibilidad de los métodos de diagnóstico utilizados, ya que como se comentó, la sensibilidad

de la HAI respecto de MAT es alta (varía entre 81 y 92%) para diagnóstico de leptospirosis aguda y puede llegar a 100% con una segunda muestra, después de la primera semana del inicio de los síntomas^{12,18}. En un trabajo realizado por uno de los autores, se evaluó la sensibilidad y especificidad de la HAI y de un método inmunocromatográfico en 40 pacientes con sospecha de leptospirosis aguda encontrándose para ambas técnicas una sensibilidad de 86% y una especificidad de 100%¹⁹.

Destaca que las dos personas con serología positiva mediante HAI no lo fueron por el método MAT. Esta falta de correlación puede deberse a que el análisis de los sueros por los distintos métodos no fue contemporáneo, por lo que alteraciones en la calidad de ellos, luego de la manipulación, pudo haber afectado el resultado final. No se logró, por lo tanto, determinar el serovar de *Leptospira* en las dos personas que resultaron positivas. La posibilidad de falsos positivos por la técnica HAI parece menos probable considerando la buena especificidad del método. Si bien se han descrito falsos positivos en pacientes con dengue, hepatitis A, fiebre Q, enfermedad de Lyme y sífilis, no parece ser el caso de estas dos personas.

En el caso particular de este fundo, el factor de riesgo más importante de adquirir leptospirosis es probablemente la alta infestación de roedores, asociado a las malas condiciones ambientales de vivienda como disposición de excretas y basura que favorecen la proliferación de éstos. El hallazgo de anticuerpos positivos en 14% de los roedores capturados anti-*L. icterohemorrhagiae*, uno de los serovares encontrados en el caso índice y que se asocia a evolución grave de la enfermedad, apoya la idea que los roedores sean un reservorio importante de *Leptospira*. Estos cumplirían un rol significativo en la transmisión de esta infección en esta población en particular y en zonas urbanas y periurbanas en general. En estos lugares, los perros también son considerados fuente importante de infección, sin embargo esta afirmación no pudo ser comprobada en este predio ya que los perros fueron precozmente vacunados antes de la realización del estudio serológico.

Finalmente, podemos concluir que, dado la confirmación de animales infectados por *Leptospira* y la presencia de factores de riesgo en zonas agrícolas periurbanas de Santiago, debe considerar-

se el diagnóstico de leptospirosis en sujetos con síntomas compatibles que vivan o trabajen, no sólo en zonas rurales, sino también periurbanas. Se hace necesario la implementación de actividades educativas en estas comunidades destinadas a prevenir

en forma eficiente la infección. Son necesarios más estudios para tener información más precisa de la distribución geográfica y actividades de mayor riesgo de leptospirosis a lo largo de Chile.

REFERENCIAS

1. NAVARRETE G. *Vigilancia de leptospirosis*. Departamento de Epidemiología. MINSAL. Circular N° 4F/03, 2002.
2. SOTOMAYOR V. ENO. Zoonosis y Chagas. *El Vigía, Boletín de vigilancia en Salud Pública de Chile*. 2002; 6 (17): 28.
3. Situación de las enfermedades de notificación obligatoria. Antrax, Brucelosis, Triquinosis, Leptospirosis, Hidatidosis y Enfermedad de Chagas e-vigía. Boletín electrónico mensual de vigilancia epidemiológica. 2004; 24. <http://epi.minsal.cl/evigia/index.htm>
4. WHO, International Leptospirosis Society. *Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control* 2003. 114 páginas ISBN: 92 4 154589 5.
5. ZAMORA J, RIEDEMANN S. Encuesta serológica de leptospirosis humana en ocupaciones de alto riesgo en Chile. *Rev Méd Chile* 1990; 118: 247-52.
6. RIEDEMANN S, ZAMORA J. Leptospirosis ¿Zoonosis sin trascendencia en Chile? *Rev Méd Chile* 1998; 116: 1066-9.
7. RIEDEMANN S, ZAMORA J. Leptospirosis en roedores silvestres capturados en la ciudad de Valdivia. Diagnóstico por serología y tinción inmunológica. *Agrociencia* 1994; 10: 133-8.
8. ZUNINO E, PALOMINO C. Leptospirosis. Análisis de 36 casos, 1983-1984. *Rev Chil Infect* 1985; 2: 110-16.
9. LEVETT P. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 296-326.
10. GUSSENHOVEN GC, VAN DER HOORN MAWG, GORIS MGA, TERPSTRA WJ, HARTSKEERL RA, MOL BW ET AL. LEPTO Dipstick. A Dipstick Assay for Detection of *Leptospira* Specific Immunoglobulin M Antibodies in Human Sera. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 92-7.
11. WINSLOW WE, MERRY DJ, PIRC ML, DEVINE PL. Evaluation of a Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin M Antibody in Diagnosis of Human Leptospiral Infection. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1938-42.
12. LEVETT PN, WHITTINGTON CU. Evaluation of the Indirect Hemmagglutination Assay for Diagnosis of Acute Leptospirosis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 11-4.
13. SMITS HL, ANANYINA YV, CHERESHKY A, DANCEL L, LAI-A-FAT RFM, CHEE HD ET AL. International Multicenter Evaluation of the Clinical Utility of a Dipstick Assay for Detection of *Leptospira*-Specific Immunoglobulin M Antibodies in Human Serum Specimens *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2904-9.
14. FLANNERY B, COSTA D, PINHEIRO CARVALHO F, GUERREIRO H, MATSUNAGA J, DOMINGOS DA SILVA E ET AL. Evaluation of Recombinant *Leptospira* Antigen-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for the Serodiagnosis of Leptospirosis. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3303-10.
15. EFFLER PV, BOGARD AK, DOMEN HY, KATZ AR, HIGA HY, SASAKI DM. Evaluation of Eight Rapid Screening Tests for Acute Leptospirosis in Hawaii. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1464-9.
16. EAPEN CK, SUGATHAN S, KURIAKOSE M, ABDOEL T, SMITS HL. Evaluation of the clinical utility of a rapid blood test for human leptospirosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2002; 42: 221-5.
17. BAJANI MD, ASHFORD DA, BRAGG SL, WOODS CW, AYE T, SPIEGEL RA ET AL. Evaluation of Four Commercially Available Rapid Serologic Tests for Diagnosis of Leptospirosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 803-9.
18. SULZER CR, GLOSSER JW, ROGERS F, JONES WL, FRIX M. Evaluation of an Indirect Hemmagglutination Test for the Diagnosis of Human Leptospirosis. *J Clin Microbiol* 1975; 2: 218-21.
19. GARCÍA P, TRIANTAFILO V, GUZMÁN AM, BRAUN S, MORALES R, URRÁ L ET AL. Leptospirosis aguda: Evaluación de tres métodos de diagnóstico serológico. *XIX Congreso Chileno de Infectología*. Santiago, 2002.