

ARTÍCULOS ORIGINALES

VIGILANCIA INTENSIFICADA DE LEPTOSPIROSIS EN SANTA FE Y ENTRE RÍOS (2012-2013)

Leptospirosis Enhanced Surveillance System in Santa Fe and Entre Ríos (2012-2013)

María C. Cudós^{1,2}, Noelia Landolt¹, Paulina Jacob¹, María F Schmeling¹, Yosena Chiani¹, Sandra Brazza², Abel Gómez Celora³, Eduardo Anchart⁴, María A Uboldi⁵, Norma B Vanasco¹⁻⁶.

RESUMEN. INTRODUCCIÓN: La leptospirosis es la zoonosis de mayor prevalencia mundial. Santa Fe y Entre Ríos concentran la mayoría de casos en Argentina. OBJETIVO: Implementar y describir un sistema de vigilancia intensificada de casos de leptospirosis en Santa Fe y Entre Ríos. MÉTODOS: La investigación, desarrollada desde enero de 2012 hasta marzo de 2013, implicó la intervención en sistemas y servicios de salud, así como el fortalecimiento de la red de laboratorios para el diagnóstico específico y aislamiento de leptospiras. La información obtenida a partir de las fichas clínico-epidemiológicas de los casos confirmados fue analizada y presentada mediante medidas de resumen. La vigilancia intensificada se implementó en siete hospitales estratégicos. RESULTADOS: Ingresaron 183 pacientes. Se confirmaron 24 casos (13%): 10 por MAT, 9 por PCR en tiempo real y 5 por ambos métodos. Se obtuvieron 3 aislamientos (serogrupo Canicola). Fallecieron 4 pacientes con hemorragia pulmonar sumada a compromiso renal, hepático y/o plaquetopenia. CONCLUSIONES: La vigilancia intensificada permitió obtener aislamientos humanos, ratificó el valor de la MAT, evidenció la utilidad de PCR en tiempo real para diagnóstico precoz y corroboró la dificultad de obtener segundas muestras. La presentación clínica evidenció una elevada mortalidad global y una alta frecuencia de compromiso respiratorio asociado a disfunciones orgánicas múltiples de aparición precoz.

ABSTRACT. INTRODUCTION: Leptospirosis is the most prevalent zoonosis worldwide. In Argentina, Santa Fe and Entre Ríos are the provinces where most cases occur. OBJECTIVE: To implement and describe a system of enhanced surveillance of leptospirosis in Santa Fe and Entre Ríos. METHODS: The enhanced surveillance was carried out from January 2012 to March 2013. The study involved the intervention in health services and systems as well as the laboratory network strengthening for specific diagnosis and leptospira isolation. The information collected from clinical-epidemiological records of confirmed cases was analyzed and presented through summary measures. The surveillance was implemented in seven strategic hospitals. RESULTS: A total of 183 patients were enrolled, and 24 cases (13%) were confirmed: 10 through MAT, 9 through real time PCR and 5 through both methods. It was possible to obtain 3 isolates (Canicola serogroup). 4 patients died with pulmonary hemorrhage coupled with renal impairment, hepatic and/or thrombocytopenia. CONCLUSIONS: The enhanced surveillance allowed to obtain human isolates, confirmed the diagnostic value of MAT, showed the utility of real time PCR for early diagnosis and the difficulties to obtain second samples. The clinical presentation revealed a high global mortality and a high frequency of respiratory involvement related to multiple organ dysfunctions from early stages.

PALABRAS CLAVE: Leptospirosis - Vigilancia - Diagnóstico - Tipificación

KEY WORDS: Leptospirosis - Surveillance - Diagnosis - Typification

¹ Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias- ANLIS

² Epidemiología, Ministerio de Salud de Santa Fe

³ Hospital José María Cullen, Santa Fe

⁴ Coordinación de Redes Bioquímicas del Ministerio de Salud de Santa Fe

⁵ Dirección Provincial de Promoción y Prevención, Ministerio de Salud de Santa Fe

⁶ Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral

FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Beca "Carrillo-Oñativia", categoría Estudio Multicéntrico, Comisión Nacional Salud Investiga, Ministerio de Salud de la Nación, Argentina.

FECHA DE RECEPCIÓN: 21 de febrero de 2014

FECHA DE ACEPTACIÓN: 11 de junio de 2014

CORRESPONDENCIA A: Carolina Cudós
Correo electrónico: carolinacudos@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es la enfermedad zoonótica de mayor distribución y prevalencia mundial.^{1,4} Las provincias de Santa Fe y Entre Ríos reportan anualmente el mayor número de casos y muertes de Argentina, constituyendo un problema prioritario de salud pública a nivel regional.^{5,6} Las características climáticas de la región, las condiciones ambientales y la frecuencia de inundaciones y anegamientos podrían explicar en parte esa mayor concentración de casos.

Debido a su muy diversa presentación clínica, la enfermedad suele ser subdiagnosticada y subnotificada. Puede ser asintomática, presentarse como la enfermedad de Weil o adoptar formas ictericas de variable gravedad.¹⁻⁴ Adicionalmente, en los últimos años, se caracterizaron formas clínicas emergentes como la hemorragia pulmonar, con tasas de mortalidad mayores al 50%.⁷⁻¹²

La precocidad en el diagnóstico y en el inicio de la antibióticoterapia puede contribuir a mejorar la evolución del paciente y reducir la letalidad.¹ Las dificultades diagnósticas

entorpecen la atención del paciente con leptospirosis, lo cual deriva en mayor gravedad y aumento de la mortalidad.³

Los métodos de referencia para el diagnóstico de leptospirosis son el cultivo y la serología por microaglutinación (MAT); sin embargo, no permiten el diagnóstico temprano de los casos, porque las leptospiras son de muy lento desarrollo y los anticuerpos sólo pueden ser detectados a partir de la segunda semana del inicio de síntomas.^{3,13,14} El mayor problema de esta debilidad reside en que no se detectan casos fatales con hemorragia pulmonar por leptospirosis, donde la mortalidad generalmente es temprana.⁷⁻¹² El aislamiento es importante desde el punto de vista epidemiológico, porque permite conocer con certeza las variedades circulantes de leptospiras en cada región.³ Esto es útil para incluir en el panel de antígenos empleados en la MAT todas las variedades circulantes, detectar así la totalidad de los casos y evitar falsos negativos.^{13,14} Sin embargo, no existen aislamientos de jerarquía y suficientemente estudiados en Argentina.⁶

La intensificación de la vigilancia epidemiológica y la adecuada caracterización clínica de casos en la región constituyen pilares fundamentales para cualquier estrategia destinada al control de la enfermedad.¹⁵

El objetivo de este trabajo fue implementar y describir un sistema de vigilancia intensificada de casos sospechosos de leptospirosis en hospitales de Santa Fe y Entre Ríos durante 2012 y el primer trimestre de 2013.

MÉTODOS

El estudio constó de un componente de investigación operativa (intervención) y otro observacional descriptivo. Implicó la intervención e investigación en sistemas y servicios de salud, con la implementación de un sistema de vigilancia intensificada de casos de leptospirosis en hospitales estratégicos y el fortalecimiento de la red de laboratorios para el diagnóstico específico y el aislamiento de leptospiras en muestras humanas. El sistema de vigilancia utilizado fue de tipo centinela; se realizó una actividad intensiva con el fin de obtener información de mayor calidad en los lugares seleccionados. La vigilancia se basó en la incorporación de nuevos métodos diagnósticos: PCR en tiempo real y cultivo. Se capacitó a médicos, bioquímicos y técnicos de laboratorio de los hospitales para detectar pacientes con sospecha de leptospirosis que reuniesen el criterio de inclusión y para extraer muestras de sangre en forma oportuna. También se ratificó la necesidad de que el caso fuera notificado rápidamente. Al inicio y regularmente durante el período del estudio, se realizaron capacitaciones en materia de presentación clínica de la enfermedad, métodos de diagnóstico a utilizar y procedimientos para el estudio. Para implementar la vigilancia intensificada se organizaron 25 talleres con la participación del personal de salud encargado de asistir a pacientes de leptospirosis en los 7 hospitales seleccionados.

El criterio empleado para la selección de los hospitales fue que concentraran la atención del mayor número de

pacientes con sospecha de leptospirosis según los registros de la Red Nacional de Laboratorios de Leptospirosis (RNLL). Se comprometieron a trabajar en forma intensiva 25 referentes (3 técnicos de laboratorio, 10 bioquímicos y 12 médicos) distribuidos en los 7 establecimientos: Hospital San Martín (Paraná), Hospital José María Cullen y Hospital Iturraspe (Santa Fe), Hospital Centenario, Hospital Provincial, Hospital de Emergencias Clemente Álvarez y Hospital Escuela Eva Perón (Rosario). Se monitorearon continuamente las omisiones y/o errores en el procedimiento. Se descartó a todos aquellos pacientes que habían sido ingresados equivocadamente y que no cumplían el criterio de inclusión.

Para investigar los casos sospechosos de leptospirosis y conocer las variedades circulantes, se fortaleció la RNLL y se descentralizó la gran mayoría de los métodos diagnósticos en los laboratorios. Se creó un kit diagnóstico, que fue distribuido a cada uno de los laboratorios de los hospitales seleccionados. El kit contenía un tubo seco para obtener muestras de suero, un tubo con ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) para PCR, un tubo con heparina y otro con medio de cultivo específico, ambos para el aislamiento de leptospiras en muestras de sangre. Además, se entrenó y capacitó a los integrantes de la red para que utilizaran adecuadamente el kit y participaran en la detección y vigilancia.

Se realizó vigilancia de todos los pacientes con síndrome febril asistidos en alguno de los hospitales seleccionados. Sólo se aplicó el kit diagnóstico a aquellos individuos que cumplían el siguiente criterio de inclusión: "paciente con sospecha de leptospirosis que presentó antecedentes epidemiológicos para leptospirosis en las 4 semanas previas al inicio de los síntomas, con menos de 6 días de evolución, atendido en alguno de los 7 hospitales públicos seleccionados durante 2012 y hasta marzo de 2013 inclusive". Se excluyó a aquellos pacientes con más de 6 días de evolución.

Los datos de cada paciente (sociodemográficos, clínicos, epidemiológicos y de laboratorio) se obtuvieron de las historias clínicas, de la ficha de notificación de síndromes febriles de la provincia de Santa Fe (para los hospitales de dicha provincia) y del Ministerio de Salud de la Nación (para los establecimientos de Entre Ríos).

Se obtuvieron muestras de suero, sangre entera con y sin EDTA al momento de la internación y una segunda muestra de suero al momento de la convalecencia (cuando fue posible). Los sueros se conservaron a -20 °C hasta ser procesados por los métodos correspondientes. Todos fueron sometidos a macroaglutinación con antígeno termorresistente (TR)¹⁶ y luego al método confirmatorio, la MAT, según lo descripto por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud.^{13,14} Para la MAT se empleó un panel de 12 cepas de leptospiras representativas de 11 serogrupos: Castellonis (Castellón 3), Canicola (Hound Utrecht IV), Grippotyphosa (Moskva V), Icterohaemorrhagiae (M20), Pomona (Pomona), Pyrogenes

(Salinem), Tarassovi (Perepelicin), Sejroe (Wolfii 3705), Hardjo (Hardjoprajitno), Australis (Ballico), Autummalis (Akiyami A) y Semarang (Patoc). La sangre con EDTA se procesó por PCR en tiempo real, empleando sondas Taq-Man según el método de Stoddard.¹⁷ La sangre entera se sembró para cultivo inmediatamente después de obtenida en medio EMJH (Ellinghausen-McCulloch-Johnson-Harris) semisólido específico para el desarrollo de leptospirosis. Luego se subcultivaron en medio Fletcher y se siguieron semanalmente ambos repiques hasta los cuatro meses. Los aislamientos obtenidos fueron tipificados serológicamente mediante el test de aglutinación cruzada (CATT)^{13,14} y molecularmente mediante el método de 16S rRNA y tipificación por secuencia de multilocus (MLST).^{18,19} El CATT se realizó con suero de conejo hiperinmune frente a sueros representativos de 21 serogrupos de leptospira. La secuenciación del 16S rRNA implicó la amplificación de una región del gen *rrs* de *L. interrogans* según Merien y col (1992) con modificaciones y el MLST según el método de Boonsilp y col, 2013.¹⁸⁻¹⁹

Para la definición de casos, se utilizaron los criterios del Sistema de Vigilancia Laboratorial del Ministerio de Salud de la Nación.²⁰

- Se definió como caso sospechoso de leptospirosis al que presentó fiebre, con cefalea, mialgia, con epidemiología compatible, con o sin algún criterio de gravedad: ictericia, alteración de la conciencia o signos meníngeos, falla renal aguda, hipotensión arterial, síntomas respiratorios, abdomen agudo o hemorragias.

- Se definió como caso confirmado:

- a) cuando se disponía sólo de una muestra: MAT positiva con un título mayor o igual a 1/200 y/o aislamiento bacteriano positivo y/o detección del genoma bacteriano por PCR en tiempo real;

- b) seroconversión a la MAT en dos o más muestras (la primera negativa y la segunda positiva, o la primera y la segunda positivas con diferencia de al menos dos títulos entre ellas).

- Se definió como caso descartado al paciente sospechoso que presentó dos muestras, con al menos 7-10 días de separación entre ambas, en las que no se observó seroconversión directa o inversa a la MAT, o resultado no reactivo para estudios realizados por las siguientes pruebas de tamizaje: Macroaglutinación (Antígeno TR) y/o ELISA en muestras de más de 10 días de inicio de síntomas.

Se realizó un trabajo descriptivo, clínico y epidemiológico de los casos confirmados. A partir de las fichas clínico-epidemiológicas de todos los pacientes incluidos en el estudio, se obtuvo información, que luego fue analizada y presentada mediante medidas de resumen en forma de tablas.

Se confeccionó una base de datos en Epi Info® y Excel con todos los pacientes incluidos en el estudio (*Centers for Disease Control and Prevention*, Atlanta, Estados Unidos) y con las variables sociodemográficas (edad, sexo, lugar de residencia), clínicas (fiebre, cefalea intensa, mialgias,

ictericia, abdomen agudo, shock, síndromes respiratorio, renal, meníngeo y hemorrágico, internación/tratamiento ambulatorio), epidemiológicas (ocupación laboral, antecedentes de contacto con animales, aguas o inundación/anegamiento) y laboratoriales (recuento de glóbulos blancos, porcentaje de neutrófilos, recuento de plaquetas, velocidad de eritrosedimentación, resultados de laboratorio específico).

El estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética y Seguridad de la Investigación de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (Universidad Nacional del Litoral). Se realizó un consentimiento informado específico para el proyecto y una nota informativa para el paciente.

RESULTADOS

Durante 2012 y hasta marzo de 2013 se logró implementar efectivamente la vigilancia intensificada en los 7 hospitales estratégicos seleccionados. Durante el monitoreo realizado a lo largo del estudio, se encontraron errores iniciales en el ingreso de pacientes. Esto obligó a descartar 14 primeras muestras de pacientes que no reunían el criterio de inclusión e impidió que 8 pacientes ingresaran al estudio porque no se contaba con las muestras correspondientes al momento de la internación, a pesar de reunir los criterios de inclusión. Luego, dichos problemas fueron solucionados.

Los casos de leptospirosis vigilados fueron diagnosticados mediante la red de laboratorios utilizando TR, MAT, PCR en tiempo real y cultivo de leptospirosis.

Se obtuvieron 242 muestras correspondientes a 183 pacientes: 125 (68,30%) ingresados en hospitales de la ciudad de Rosario, 42 (22,95%) en Santa Fe y 16 (8,75%) en Paraná.

Se realizó serología a las 183 primeras muestras, PCR en tiempo real a 181 (98,9%) y se cultivaron 169 (92,3%). A 58 pacientes (31,70%) se les obtuvo segunda muestra y a apenas 1 (0,54%), una tercera muestra. Todas ellas fueron procesadas por MAT.

Se confirmaron 24 casos: 10 sólo por seroconversión a la MAT, 9 sólo por PCR en tiempo real (en ninguno de estos pacientes se obtuvo segunda muestra, y 3 de ellos fallecieron) y 5 por ambos métodos.

De los cultivos sembrados, se obtuvieron 3 aislamientos de *Leptospira sp.*: 2 pacientes ingresados en Rosario y 1 en Santa Fe. Los aislamientos se tipificaron como pertenecientes al serogrupo Canicola, y molecularmente se confirmó este hallazgo. Un total de 127 cultivos fueron negativos, y 29 se contaminaron.

Cabe remarcar que los aislamientos obtenidos correspondieron a pacientes previamente confirmados por PCR en tiempo real y MAT (1 por PCR en tiempo real y 2 por ambos métodos).

Se descartaron 43 casos; en 4 de ellos se confirmó hantavirus, en 1 fiebre hemorrágica argentina y en 1 dengue.

Hubo 116 casos sospechosos que no pudieron ser confirmados ni descartados, ya que no se consiguió una segunda muestra.

La edad promedio de los casos fue de 35,5 años, con un rango de 15 a 66. La mayoría de los casos confirmados (17/24) correspondió a pacientes mayores de 20 años.

De los 12 pacientes con plaquetopenia, la mitad presentó recuentos menores a 100.000 plaquetas/ml. Hubo 19 internados, y 5 recibieron atención ambulatoria. De los 11 pacientes con compromiso pulmonar, sólo 2 no presentaron en forma concomitante compromiso renal, hepático y/o plaquetopenia. Fallecieron 4 pacientes (todos con compromiso pulmonar), lo que representa una mortalidad del 16,6% del total de casos confirmados y del 36,3% de los que presentaron síndrome pulmonar (ver Tabla 1 y Tabla 2).

TABLA 1. Factores sociodemográficos y epidemiológicos de casos confirmados de leptospirosis en Santa Fe y Entre Ríos, 2012-2013.

Variable	Nº respuestas	Nº positivos (%)
Edad >20 años	24	17 (70,8)
Sexo masculino	24	18 (75)
Residencia urbana	24	20 (83,3)
Tarea en ámbito rural	24	4 (16,6)
Contacto con roedores	11	6 (54,5)
Contacto con aguas*	10	3 (30)
Inundación/anegamiento	9	4 (44,4)

* Contacto con agua de arroyo, laguna, río o agua estancada, contacto con suelo o materiales húmedos.

Fuente: Elaboración propia.

TABLA 2. Presentación clínica, datos de laboratorio inespecífico y radiología de casos confirmados de leptospirosis en Santa Fe y Entre Ríos, 2012-2013.

Características	Nº respuestas	Nº positivos (%)
Características clínicas		
Fiebre	24	24 (100)
Ictericia	20	2 (10)
Cefalea	24	16 (66,6)
Mialgias	24	20 (83,3)
Síndrome respiratorio	24	11 (45,8)
Síndrome renal	24	4 (16,6)
Síndrome hepático	24	5 (20,8)
Síndrome meníngeo	24	1 (4,1)
Síndrome hemorrágico	24	5 (20,8)
Abdomen agudo	23	10 (43,4)
Shock	23	5 (21,7)
Laboratorio inespecífico		
Leucocitosis (>10.000 leucocitos/mm ³)	19	12 (63,1)
Neutrofilia (>75%)	16	14 (87,5)
Plaquetopenia (<150.000 plaquetas/mm ³)	19	12 (63,1)
VES† acelerada (>20 mm/hora)	12	12 (100)
Radiografía tórax anormal*	8	7 (87,5)

* Radiografía tórax anormal: infiltrados difusos alveolares bilaterales

† Velocidad de entrosedimentación

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

La implementación de la vigilancia intensificada en los siete hospitales estratégicos seleccionados pudo lograrse en gran medida gracias al compromiso y la capacitación de los referentes en leptospirosis y del personal de salud de la región. No hay ningún antecedente de intervención de este tipo en Argentina, lo que resalta la importancia de los resultados de esta primera experiencia, aunque existen casos en Brasil que demuestran los beneficios de aumentar la vigilancia de leptospirosis.^{8,21} Desde el punto de vista de la atención, se podría favorecer la detección precoz para realizar un manejo adecuado del paciente y reducir así las complicaciones y la letalidad de la enfermedad, sobre todo en los casos de hemorragia pulmonar grave. Los aportes de la vigilancia intensificada, tipo pasiva, incluyen caracterizar mejor los eventos, incrementar la especificidad de otras estrategias pasivas y responder a la necesidad de información concreta para determinados eventos en salud.¹⁵ Si se sostiene esta estrategia en el tiempo (por ejemplo, con capacitaciones y motivación del personal permanente), se podrían lograr muy buenos resultados.

La vigilancia intensificada, sumada al trabajo con la red de laboratorios, permitió además obtener tres aislamientos de *Leptospiras* en apenas un año. Los aislamientos de muestras humanas publicados en los últimos años en Argentina son casi nulos.^{6,22} Más aún, la gran mayoría de los reportes de casos humanos no fueron bien documentados, ni tipificados por los métodos moleculares disponibles en la actualidad.^{19,23} Los tres aislamientos obtenidos fueron tipificados fenotípicamente como *Canicola*. El resultado concuerda con el hecho de que los caninos, principales transmisores de esta variedad, son considerados uno de los dos mayores agentes urbanos, y los tres casos fueron urbanos.^{1,2} Asimismo, el hallazgo indicaría un cambio en el predominio de las variedades circulantes de *Leptospira*, ya que anteriormente la mayoría de los aislamientos habían sido fenotipificados como *Icterohaemorrhagiae*.⁶ Estos resultados sugieren que el principal agente causal de leptospirosis en Santa Fe en el período estudiado serían leptospiras de la variedad *Canicola*, y que este podría ser el origen de la hemorragia pulmonar en la región. Para corroborar los datos, sería necesario continuar este tipo de estudios, obtener un mayor número de aislamientos con análisis de genotipificación y correlacionar los resultados con la presentación clínica. Estos hallazgos difieren de lo descrito en Brasil, donde el principal agente causal (tanto de los cuadros leves como del síndrome de hemorragia pulmonar grave) era *L. interrogans serovar Copenhageni*.^{8,21}

La información de los aislamientos obtenidos es necesaria para la toma de decisiones operativas, tanto de la red de laboratorios de leptospirosis como de salud pública. Los datos sobre las cepas circulantes permiten a la red revisar si el panel empleado para la MAT en cada región contiene efectivamente las cepas aisladas, si corresponde incluirlas o si se prefiere incorporar al panel una cepa de referencia.¹⁴ De este modo se logra que la MAT sea más

eficiente, ya que se reduce el número de falsos negativos por la no utilización de cepas representativas del serogrupo infectante. Además el reconocimiento certero por aislamiento del agente infectante en la región es importante para la diferenciación e interpretación del resultado de la MAT, porque *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae* muestran alta reactividad cruzada.^{3,14} Si se considera que en la actualidad la mayoría de los casos confirmados en Argentina presentan altos títulos coagulantes frente a estos dos serogrupos, el resultado hallado en este estudio podría indicar que la mayoría de los casos serían atribuibles al serogrupo *Canicola* en vez de *Icterohaemorrhagiae*. Finalmente, el conocimiento de las variedades presentes es de utilidad para la toma de decisiones de salud pública provincial y nacional porque contribuye a implementar estrategias de prevención adecuadas, tales como control de reservorios y utilización de vacunas específicas (humanas y animales) para dichos serovares.^{2,14} La única vacuna de leptospirosis disponible en Argentina es una vacuna a bacterias atenuadas, cuya eficacia depende de que contenga en su formulación las variedades de *Leptospiras* circulantes en la región en cuestión.^{3,24,25} Por lo tanto, el conocimiento es esencial para saber si la vacuna es útil o si deben formularse otras más adecuadas.

Se confirmaron 24 casos en los hospitales seleccionados durante el período estudiado. Aunque según los registros de la RNLL, 2012 y 2013 no fueron años epidémicos para leptospirosis en el área vigilada, el total de casos confirmados fue elevado. Muy probablemente esto se debe a la implementación de un sistema de vigilancia intensificada para la enfermedad. Lamentablemente, los registros oficiales existentes no son comparables, ya que se está cambiando el sistema de notificación a nivel nacional.

El hecho de que los casos confirmados sólo por MAT (y no detectados por PCR) hayan sido 10/24 (41,6%) ratifica el valor de este método de referencia diagnóstica, aun teniendo en cuenta que es baja su sensibilidad en la primera semana de la enfermedad y que generalmente se requiere una segunda muestra para confirmar los casos.

La PCR en tiempo real confirmó 9/24 (37,5%) casos, aproximadamente la misma cantidad que la MAT. Sin embargo, como en ninguno de ellos se obtuvo segunda muestra, se desconoce si la MAT los habría detectado. Dado que este hecho es frecuente en casos con evolución rápidamente fatal, urge contar con un método así, que permita lograr una confirmación precoz. El resultado anterior concuerda con lo descrito por otros autores sobre este método de detección directa de leptospiras en etapas precoces de la enfermedad y su mayor sensibilidad con respecto a la tradicional MAT.^{17,26} Sin embargo, cabe remarcar que la imposibilidad de obtener la segunda muestra se debió a una rápida evolución fatal sólo en 3 de los 9 casos confirmados mediante PCR; en los otros 6, no se obtuvo porque falló el sistema de vigilancia.

De los 183 pacientes incluidos, hubo 116 (63,3%) casos estudiados de manera incompleta, porque no se obtuvo segunda muestra y no pudieron ser confirmados ni des-

cartados. Esto subraya la dificultad que tienen los servicios de salud para conseguir una segunda muestra, aun bajo un protocolo de vigilancia intensificada. Cabe suponer entonces que la muy baja proporción de confirmación de casos (13%) obtenida en este estudio, a pesar de la vigilancia intensificada, se debe principalmente a la falta de muestras de convalecencia. Los resultados implican un desafío para el sistema de salud y un llamado a trabajar de forma más intensa en la vigilancia de la enfermedad. Aunque en una región endémica los médicos incluyen la leptospirosis entre los probables diagnósticos, falla el seguimiento de los pacientes, la obtención de una segunda muestra y el cierre de los casos.

Los tres aislamientos se obtuvieron de casos previamente confirmados mediante MAT y/o PCR en tiempo real, lo que refuerza la idea de que la técnica de cultivo es una herramienta importante para la epidemiología pero de poca utilidad clínica. Esto afirma la conveniencia de desarrollar técnicas de diagnóstico rápido, que proporcionen una respuesta más temprana a los médicos tratantes y al sistema de salud. Por lo tanto, la estrategia de sumar la PCR en tiempo real al cultivo para confirmar los casos sería beneficiosa, ya que permitiría hacerlo de forma más precoz y posibilitaría un estudio más completo y oportuno.

Al igual que en estudios previos, se observó que actualmente la leptospirosis es un problema urbano. Las condiciones de vida precarias de la población, el contacto con roedores o el hecho de vivir en zonas que sufren inundaciones y/o anegamientos aumentan la aparición de casos.^{1,3,5,27} Con respecto a la edad de los pacientes, se confirmó el hallazgo obtenido para Argentina en un estudio previo,²⁷ que indicaba que la edad superior a 20 años era un factor de riesgo de leptospirosis.

La presentación clínica encontrada fue un síndrome seudogripal (fiebre, mialgias, cefalea) acompañado de afectación variable de diferentes órganos. Hubo una elevada mortalidad (16,6%), especialmente en aquellos pacientes con compromiso pulmonar (4/11, 36,3%). Clásicamente, la mortalidad en leptospirosis se asociaba a la enfermedad de Weil.^{1,3} En los últimos años, sin embargo, se puso en evidencia la aparición de la hemorragia pulmonar grave como forma clínica emergente.⁷ Asimismo, se describieron los primeros casos de síndrome de hemorragia pulmonar en Argentina, que presentaban una mortalidad elevada y típicamente no tenían compromiso hepático, renal ni plaquetopenia.^{5,22} Llamativamente, los pacientes de este estudio con síndrome de hemorragia pulmonar grave mostraron frecuentes disfunciones orgánicas asociadas, así como plaquetopenia, constituyendo un síndrome clínico de vecindad no Weil no hemorragia pulmonar aislada. La leptospirosis continúa siendo una enfermedad subdiagnosticada, en especial frente a presentaciones poco frecuentes o cuando la hemorragia pulmonar domina el cuadro, y los médicos (aun en áreas endémicas), no sospechan de leptospirosis.⁹ La vigilancia intensificada, aunada a una red de laboratorios provista de técnicas de PCR, permitirá mejorar el rendimiento diagnós-

tico (sobre todo, en etapas precoces) y el conocimiento de las presentaciones clínicas en la región. Seguramente, esto redundará en un mejor manejo de la enfermedad, que se muestra como una verdadera amenaza a la salud pública.

RELEVANCIA PARA POLÍTICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS

El presente estudio permitió conocer variedades de leptospirosis circulantes en la región, coincidiendo las mismas con las presentes en la vacuna autorizada en Argentina. Lo cual permite utilizar con mayor seguridad dicha vacuna, considerando que se protegerá a la población de riesgo contra las variedades a las que están expuestos. La obtención de aislamientos permite además adecuar el cepario de la MAT, para que sea más eficiente, reduciendo el número de falsos negativos. A su vez, refuerza la necesidad de continuar trabajando en vigilancia intensificada de leptospirosis, con énfasis en conseguir segunda muestra de los pacientes sospechosos, ya que la misma es la que permitió confirmar el mayor número de casos.

RELEVANCIA PARA LA FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS EN SALUD

Se capacitaron médicos y bioquímicos en la vigilancia intensificada de la enfermedad, en la necesidad de obtener las

muestras oportunamente y así tener un diagnóstico precoz, en la variedad de métodos diagnósticos disponibles y su utilidad en cada etapa de la enfermedad. Dichos médicos y bioquímicos capacitados están en hospitales escuelas, lo que permite que el conocimiento obtenido se continúe multiplicando a los profesionales en formación.

RELEVANCIA PARA LA INVESTIGACIÓN EN SALUD

El estudio permitió detectar un mayor número de casos de leptospirosis grave, aporta conocimiento al país de la forma clínica de presentación y posibles factores de riesgo asociados a estos casos, sentando las bases para poder evaluar estrategias terapéuticas que permitan una mayor sobrevida de los pacientes. Refuerza la necesidad de realizar una mejora en el diagnóstico, mediante detección más temprana utilizando métodos de diagnóstico precoces y sensibles. A su vez esto permite un registro más confiable del número de casos y una medida real del impacto de esta enfermedad en la salud pública Argentina.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio Central de la Provincia de Santa Fe y al Laboratorio de Leptospirosis del Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario, por su importante contribución al trabajo.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES: No hubo conflicto de intereses durante la realización del estudio.

Cómo citar este artículo: Cudós, MC, Landolt N, Jacob P, Schmeling MF, Chiani Y, Brazza S, Gómez Celora A, Anchart E, Uboldi MA, Vanasco NB. Vigilancia intensificada de leptospirosis en Santa Fe y Entre Ríos (2012-2013). Rev Argent Salud Pública. 2014; Mar;5(18):24-30.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis: A Zoonotic Disease of Global Importance. *Lancet Infect Dis.* 2003;3:757-771.
- McBride AJA, Athanazio DA, Reis MG, Ko AI. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2005;18:376-386.
- Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:296-326.
- Vinetz JM. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2001;14:527-538.
- Seijo A. Leptospirosis, un problema de salud pública. *Boletín: Temas de Salud, de la Asociación de Médicos Municipales de la Ciudad de Buenos Aires.* 2001;8(67):1-8.
- Comisión Científica sobre Leptospirosis en la República Argentina (CCLA) - Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico (AAVLD). Informe sobre Leptospirosis en la República Argentina. Fundación Mundo Sano, 2006.
- Trewejo RT, Rigau-Perez JG, Ashford DA, McClure EM, Jarquin-Gonzalez C, Amador JJ, et al. Epidemic Leptospirosis Associated with Pulmonary Hemorrhage - Nicaragua 1995. *J Infect Dis.* 1998;178:1457-1463.
- Gouveia EL, Metcalfe JF, De Carvalho AL, et al. Leptospirosis-Associated Severe Pulmonary Hemorrhagic Syndrome, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:505-508.
- Segura ER, Ganoza CA, Campos K, Ricaldi JN, Torres S, Silva H, et al. Clinical Spectrum of Pulmonary Involvement in Leptospirosis in a Region of Endemicity,

- with Quantification of Leptospiral Burden. *Clin Infect Dis.* 2005;40:343-351.
- Dolhnikoff M, Mauad T, Bethlem EP, Carvalho CRR. Leptospiral Pneumonias. *Curr Opin Pulm Med.* 2007;13:230-235.
- Teglia OF, Battagliotti C, Villavicencio RL, Cunha BA. Leptospiral Pneumonia. *Chest.* 1995;108:874-5.
- Seijo A, Coto H, San Juan J, et al. Lethal Leptospiral Pulmonary Hemorrhage: An Emerging Disease in Buenos Aires, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:1004-5.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS), Centro Panamericano de Zoonosis. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de leptospirosis, 1985.
- World Health Organization, International Leptospirosis Society. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control. *NLM Classification: WC 420, Malta,* 2003.
- Ortiz Z, Esandi ME, Bortman M. Módulo 5: Vigilancia de la Salud, serie Epidemiología Básica y Vigilancia de la Salud. Organización Panamericana de la Salud. Ministerio de Salud de la Nación, 2001.
- Mazzonelli J, Mazzonelli GD, Mailloux M. Antigene Thermo-resistant chez les Leptospirales. *Ann Microbiol, Inst Pasteur.* 1974;125A:125-126.
- Stoddard RA, Gee JE, Wilkins PP, McCaustland K, Hoffmaster AR. Detection of Pathogenic *Leptospira* spp through TaqMan Polymerase Chain Reaction Targeting the LipL32 Gene. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;64:247-255.

- ¹⁸ Mérien F, Amouriaux P, Perolat P, Baranton G, Saint Girons I. Polymerase Chain Reaction for Detection of *Leptospira* spp in Clinical Samples. *J Clin Microbiol*. 1992;30:2219-2224.
- ¹⁹ Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Bailey MS, et al. A Single Multilocus Sequence Typing (MLST) Scheme for Seven Pathogenic *Leptospira* Species. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(1):e1954.
- ²⁰ Ministerio de Salud de la Nación. Sistema de Vigilancia Laboratorial. Leptospirrosis: Normativa y Tutorial para la vigilancia a través del Sistema Nacional para la Vigilancia Laboratorial (SIVILA-SNVS), 2011. [Disponible en: http://www.snvs.msal.gov.ar/descargas/Instructivos_Modulos/LEPTOSPIROSIS_Tutorial_para_la_notificacion_a_traves_del_SIVILA_2011.pdf]. [Último acceso: 29 de mayo de 2014].
- ²¹ Ko AI, Galvao Reis M, Ribeiro Dourado CM, Johnson WD Jr, Riley LW. Urban Epidemic of Severe Leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet*. 1999;354(9181):820-5.
- ²² Seijo A, et al. Neumonía aguda de la comunidad y hemorragia pulmonar por leptospirrosis en el área metropolitana de Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)*. 2011;71:127-134.
- ²³ Cerqueira GM, Picardeau M. A Century of *Leptospira* Strain Typing. *Infect Genet Evol*. 2009;9:760-768.
- ²⁴ Koizumi N. Leptospirosis Vaccines: Past, Present and Future. *J Postgrad Med*. 2005;51:210-214.
- ²⁵ Martínez R, Pérez A, Quiñones MC, et al. Eficacia y seguridad de una vacuna contra la leptospirrosis humana en Cuba. *Rev Panam Salud Pública*. 2004;15:149-255.
- ²⁶ Agampodi SB, Matthias MA, Moreno AC, Vinetz JM. 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.
- ²⁷ Vanasco NB, Schmeling MF, Lotterberger J, Costa F, Ko AI, Tarabla HD. Clinical Characteristics and Risk Factors of Human Leptospirosis in Argentina (1999-2005). *Acta Trop*. 2008;107(3):255-258.