

**VALIDACIÓN DE DOS PRUEBAS DE ELISA IGM PARA
LEPTOSPIROSIS HUMANA EN COLOMBIA - 2013**

Solmara Bello Pieruccini

Universidad El Bosque
Facultad de Medicina
Maestría en epidemiología

Instituto Nacional de Salud
Dirección Redes en Salud Pública
Grupo de Microbiología

Bogotá, diciembre-2015

Universidad: El Bosque

Facultad: Medicina

Título: Validación de dos pruebas de ELISA IgM para leptospirosis humana en Colombia - 2013

Línea de Investigación: Pruebas Diagnósticas

Instituciones participantes: Universidad el Bosque, Instituto Nacional de salud

Tipo de Investigación: Postgrado

Investigador Principal: Solmara Bello Pieruccini

Asesor metodológico: Dra. Alexandra Porras Ramírez

Página de Aprobación

Esta página la suministra la universidad y se coloca encima de esta.

NOTA DE SALVEDAD DE RESPONSABILIDAD INSTITUCIONAL

“La Universidad El Bosque no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo; sólo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo, en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

Agradecimiento

Agradezco principalmente a Dios, por iluminarme y permitirme la culminación de esta meta.

Quiero agradecer a todas las personas que de una forma u otra contribuyeron a la realización de este trabajo y, en especial, a la Dra. Alexandra Porras Ramírez, que a pesar de sus múltiples responsabilidades no dudó en aceptar desde el primer momento la responsabilidad de asesorar esta tesis sin vacilaciones. Por eso, gracias a usted, por su tiempo, sus consejos y orientaciones oportunas.

Al Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de salud, por permitirme la realización de este trabajo.

Dedicatoria

A mi esposo por su amor, comprensión y apoyo incondicional.

A mis hijos quienes son mi inspiración y la razón de mi vida.

A mi madre por su apoyo e interés permanente.

Guía de contenido

1. Marco teórico	15
1.1 Conceptual	15
1.1.1. Agente Causal.....	15
1.1.2. Clasificación.....	16
1.1.3. Transmisión.....	16
1.1.4. Manifestaciones clínicas	17
1.1.5. Diagnóstico.....	19
1.1.6. Tratamiento.....	22
1.2. Contexto - Situacional	24
1.2.1. Epidemiología mundial.....	24
1.2.2. Epidemiología local	25
1.3. Normativo	27
1.4. Aspectos metodológicos relevantes en estudios de pruebas diagnósticas.....	28
2. Problema de investigación	32
2.1 Pregunta de investigación.....	35
3. Justificación	36
4. Objetivos	38
4.1 General.....	38
4.2 Objetivos Específicos.....	38

5. Valoración de la Investigación.....	39
5.1. Propósito	39
5.2 Consideraciones éticas	39
6. Metodología	40
6.1. Tipo de estudio.....	40
6.2. Población, muestra, muestreo	41
6.3 Recolección de la información	42
6.4 técnicas utilizadas	44
6.4.1 Técnica de ELISA IgM PANBIO ®	44
6.4.2 Técnica de ELISA IgM VIRION-SERION®	45
6.4.3 Técnica de Microaglutinación (MAT)	45
6.5 Análisis de la información	49
6.5.1 Medición de especificidad y sensibilidad	49
6.5.2 Valores predictivos.....	49
6.5.3 Coeficiente de probabilidad	50
6.5.4 Curvas ROC	50
7. Resultados	51
8. Discusión	67
9. Conclusiones y recomendaciones	76
Bibliografía	79
Anexos.....	90

Listados de figuras

Figura 1. Campo oscuro (a) electrones en sombras (b) microfotografías de <i>Leptospira</i> spp,.....	15
Figura 2. Etapas del desarrollo de la leptospirosis.....	18
Figura 3. Curva de Características Operativas para el Receptor.....	31
Figura 4. Descripción de la Metodología utilizada en el estudio.....	40
Figura 5. Función de la Red Nacional de Laboratorios en el evento de leptospirosis.....	41
Figura 6. Lectura de controles de la aglutinación	47
Figura 7. Distribución de Muestras por año.....	52
Figura 8. Distribución de sexo de los sujetos positivos del estudio.....	52
Figura 9. Distribución geográfica de los sujetos positivos del estudio.....	53
Figura 10. Curva ROC de la prueba Virion- Serion en fase aguda.....	61
Figura 11. Curva ROC de la prueba Panbio en fase aguda.....	61
Figura 12. Curva ROC de la prueba Virion- Serion en fase convaleciente.....	64
Figura 13. Curva ROC de la prueba Panbio en fase convaleciente	64

Listados de tablas

Tabla 1. Situaciones posibles de la prueba diagnóstica vs la enfermedad	28
Tabla 2. Serovares utilizados, donados por el Instituto <i>Royal Tropical Center</i>	48
Tabla 3. Descripción de los signos y síntomas clínicos de los sujetos positivos para leptospirosis..	54
Tabla 4 Tipos de animales con los que convive.....	55
Tabla 5. Posibles factores de riesgo en pacientes positivos para leptospirosis.....	56
Tabla 6. Análisis bivariado de las variables que tienen pertinencia clínica.....	57
Tabla 7. Características operativas de las pruebas de ELISA IgM muestra aguda.....	59
Tabla 8. Características operativas de las pruebas de ELISA IgM muestra convaleciente.....	60
Tabla 9. Sensibilidades y especificidades de la prueba Virion en muestra aguda.....	62
Tabla 10. Sensibilidades y especificidades de la prueba Panbio en muestra aguda.....	63
Tabla 11. Sensibilidades y especificidades de la prueba Virion en muestra convaleciente.....	65
Tabla 12. Sensibilidades y especificidades de la prueba Panbio en muestra convaleciente.....	66

Objetivo: Validar las pruebas de ELISA en la detección de anticuerpos IgM para *Leptospira* spp., en muestras pareadas de pacientes provenientes del programa de diagnóstico de síndromes febriles del Grupo de Microbiología del INS, recibidas en el periodo comprendido entre enero de 2010 y julio de 2013. **Materiales y métodos:** Se determinaron las características sociodemográficas de los pacientes con infección por leptospirosis incluidos en el estudio y se determinaron los posibles factores de riesgo asociados. Se desarrolló un estudio de pruebas diagnósticas, en el que a todos los sujetos se les realizaron tres pruebas serológicas (ELISA IgM para *Leptospira* de marca Panbio®, ELISA IgM de marca Virion-serion® y la técnica de microaglutinación (MAT). Posteriormente, se evaluaron las características operativas de las pruebas de ELISA, mediante el patrón de oro MAT. **Resultados:** Un total de 443 pacientes fueron incluidos en el análisis, obteniéndose muestras pareadas de 108 pacientes positivos y 335 negativos. La sensibilidad y la especificidad en la fase aguda de la enfermedad para la prueba de ELISA IgM Panbio® fue de 69% y de 66% utilizando como punto de corte el valor correspondiente a 1,1. En la fase convaleciente se observó un incremento en la sensibilidad y especificidad, de valores de 88% y 62%, respectivamente. En contraste, la prueba de Virion/Serion® no mostró un rendimiento para la fase inicial de la enfermedad, lo cual replantea su uso como prueba rutinaria y de tamizaje. **Conclusiones:** La prueba de Elisa Panbio® obtuvo los mejores resultados y puede ser utilizada de manera rutinaria en los laboratorios modificando su punto de corte a 1,0. Sin embargo, presenta limitaciones por lo cual todos los casos positivos por esta prueba tienen que ser confirmados por la prueba MAT.

Palabras Clave: Pruebas diagnósticas, enfermedad de leptospirosis, Microaglutinación , ELISA , validación

Abstract

Objective: Validate ELISA tests to detect IgM antibodies to *Leptospira* spp., In paired samples of patients from the diagnostic program febrile syndromes INS Microbiology Group, received in the period between January 2010 and July 2013. **Methods:** Sociodemographic characteristics of the patients were determined with leptospirosis infection in the study and possible associated risk factors were determined. A study of diagnostic tests, in which all subjects underwent three serological tests (ELISA IgM for leptospirosis Panbio®, IgM ELISA Virion-serion® and microscopic agglutination test (MAT). Subsequently, the operational characteristics of ELISA tests were evaluated using the gold standard MAT. **Results:** A total of 443 patients were included in the analysis, obtained paired samples of 108 positive and 335 negative patients. The sensitivity and specificity in the acute phase of the disease for Panbio® IgM ELISA test was 69% and 66% using as a cutoff value corresponding to 1.1. In the convalescent phase was observed an increase in sensitivity and specificity wit values of 88% and 62%, respectively. In contrast, the test Virion / Serion showed a yield for the initial phase of disease, which replanted use as routine testing and screening. **Conclusions:** ELISA Panbio test obtained the best results and can be used routinely in laboratories. However, it has limitations and therefore all positive cases for this test they must be confirmed by the MAT test.

Keywords: Diagnostic tests of leptospirosis disease, agglutination, ELISA, validation.

Introducción

La importancia de la leptospirosis radica en que es un problema de salud pública a nivel mundial, especialmente en áreas tropicales, subtropicales y en países en vía de desarrollo, donde las condiciones para su transmisión son particularmente favorables (1).

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica febril, considerada como una enfermedad asociada a la ocupación de las personas; sin embargo, el fenómeno de globalización, los cambios climáticos y las migraciones de animales y personas hacia nuevas zonas, han propiciado que la leptospirosis sea considerada como un problema latente para cualquier población (2).

La presentación clínica de la leptospirosis es muy variable. La fase aguda está caracterizada por fiebre, cefalea, escalofríos y mialgias; sin embargo, en muchos casos la fiebre es el único síntoma. En un 10 a 20% de todos los casos la enfermedad es grave y causa complicaciones como ictericia, falla renal y diátesis hemorrágica (3).

El diagnóstico de leptospirosis se puede realizar directamente a través de la visualización directa de *Leptospira* spp. No obstante, este método es poco sensible y específico, ya que depende de varios factores como la calidad, el tipo de muestra, así como la experticia del observador; por eso, no se recomienda como un procedimiento de rutina; el diagnóstico

también se puede realizar por cultivo de sangre, líquido cefalorraquídeo u orina. Este método es poco utilizado debido a que la muestra a cultivar se debe recolectar de acuerdo al estadio de la enfermedad y requiere de un periodo largo de incubación a 28 - 30°C, requiriendo observación al microscopio de campo oscuro por 13 semanas antes de ser descartado (4). Por esta razón, el diagnóstico está basado en métodos serológicos, que emplean principalmente la técnica ELISA, que detecta los anticuerpos circulantes de tipo IgM, o en el método de referencia internacional, que utiliza la técnica de microaglutinación (MAT) y permite detectar anticuerpos específicos contra serogrupos de *Leptospira* spp.. Esta técnica tiene una alta sensibilidad y especificidad, pero su dificultad radica en que se deben utilizar cultivos vivos de los serovares de *Leptospira* spp., y en la obtención de la segunda muestra (5), esta técnica es tediosa en cuanto a que se tiene que enfrentar la muestra de suero con serovares representantes de los 25 serogrupos establecidos por la sociedad internacional de leptospirosis y esto conlleva a que el diagnóstico se vea retrasado.

Teniendo en cuenta lo anterior, el diagnóstico de la enfermedad por detección de anticuerpos circulantes en fase aguda (IgM) representa la herramienta diagnóstica de fácil acceso para los laboratorios clínicos. Por esta razón, se hace necesario conocer las características operativas y rendimiento de las pruebas de ELISA, para garantizar la credibilidad de los resultados, teniendo en cuenta que en Colombia se tiene establecido dentro del protocolo de vigilancia del Instituto Nacional de Salud (INS) la medición de IgM mediante ELISA como técnica de tamizaje, y la técnica de MAT como prueba confirmatoria para el diagnóstico de leptospirosis (6).

1. Marco teórico

1.1 Conceptual

1.1.1. Agente Causal

La leptospirosis es causada por una bacteria con forma de espiroqueta llamada leptospira, la cual mide alrededor de 0,1 mm de diámetro por 6-20 mm de longitud; tiene extremos en forma de gancho (figura 1), dos flagelos con inserciones polares se encuentran en el espacio periplásmico y son responsables de la motilidad; las Proteínas flaA y michelines constituyen la vaina flagelar y núcleo respectivamente. Las leptospiras son aerobios obligados con una temperatura óptima de crecimiento de 28-30°C Ver figura 1 (7 - 9).

Se cultiva en medios artificiales, los cuales deben contener suero de conejo o suero de albumina bovina y *tween* 80. El medio más usado se le conoce como Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris medium (EMJH). Las leptospiras son oxidasa y catalasa positivas (2,8,9).

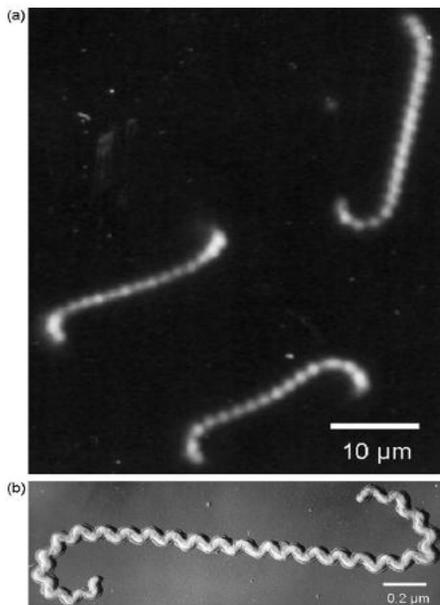


Figura 1. Campo oscuro (a) electrones en sombras (b) microfotografías de *Leptospira* spp.,.(7)

1.1.2. Clasificación

Las leptospiras pertenecen a la clase *Spirochaetes*, al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae*, género *Leptospira* y su especie se clasificada inicialmente de acuerdo a sus determinantes antigénicos, especialmente en la expresión de lipopolisacáridos en dos especies: las patógenas, agrupadas dentro del complejo interrogans (*L.interrogans*) y las saprofitas, en el complejo biflexa (*L. biflexa*). La unidad taxonómica es el serovar., Existen más de 60 serovares de *L. biflexa* y más de 260 de *L. interrogans*. Los serovares homólogos antigénicamente han sido agrupados en serogrupos (7, 8, 10). En 2008, el Comité Internacional de Sistemática de Procariotas, han clasificado las leptospiras de acuerdo a la homología del ADN en 13 especies patógenas (*L. alexanderi*, *L. alstonii* (genomospecies 1), *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae* (genomospecies 3), *L. weilii*, *L. wolffii*) y 6 saprófitas (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae* (genomospecies 5), *L. kmetyi*, *L. vanthielii* (genomospecies 4), and *L. wolbachii*) (2, 7, 8, 9, 11).

1.1.3. Transmisión.

Las leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial, presente principalmente en regiones tropicales, que afecta a animales tanto salvajes como domésticos, frecuentemente a mamíferos, siendo la rata (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*) el principal portador (12,13). Se tiene evidencia que afecta a musarañas (14), mangostas (15) y murciélagos (16), entre otros. Las Leptospiras patógenas viven en los túbulos renales proximales de los animales, ya sean portadores, huéspedes de mantenimiento o accidentales. Luego son excretadas por

la orina y pueden contaminar el suelo y el agua; el hombre se infecta por contacto directo o indirecto, a través de abrasiones, cortes en la piel o por vía conjuntival con orina o agua contaminada, por lo cual es muy frecuente en granjeros, veterinarios, matarifes, agricultores y personas que realizan actividades recreativas u ocupacionales en el campo. La infección también puede darse después de la inmersión prolongada en el agua (2, 8, 10, 17, 18, 19).

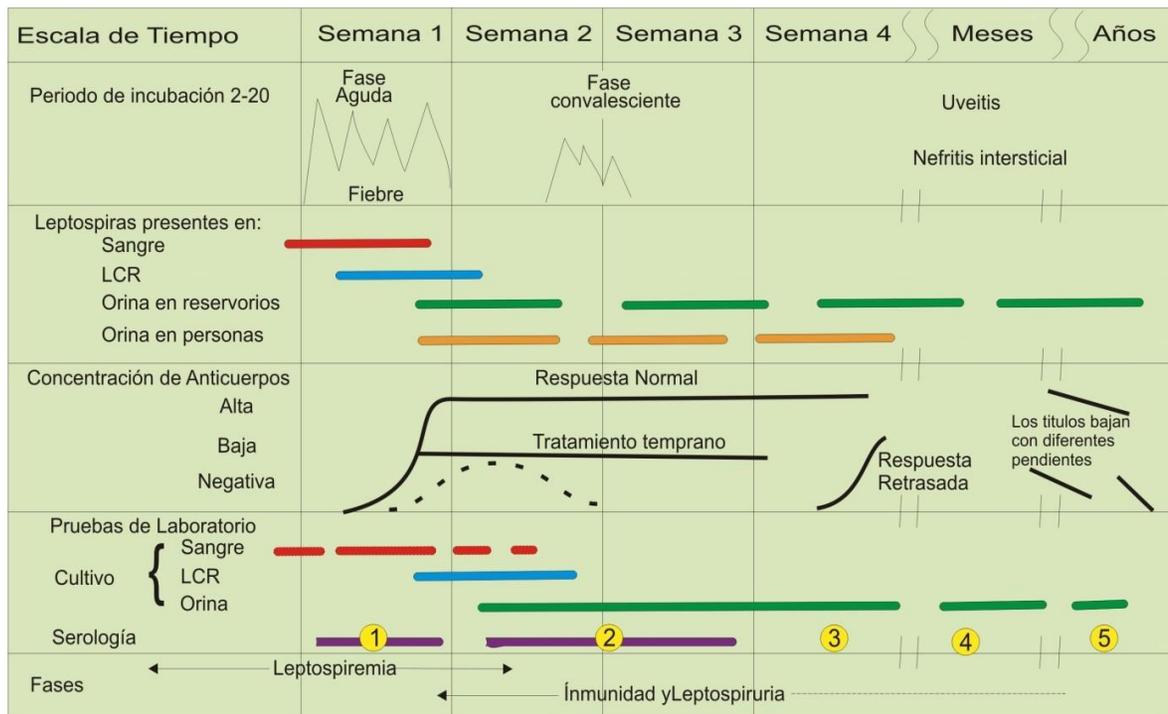
1.1.4. Manifestaciones clínicas

La puerta usual de entrada es a través de una abrasión, cortes en la piel, o a través de la conjuntiva. El principal problema que se evidencia es que los pacientes no reciben atención o no la buscan, tiene un periodo de incubación de 1 a 10 días. Se conocen dos formas de presentación de la enfermedad, por tal motivo es considerada bifásica (Figura 2):

- La forma anictérica que se desarrolla inicialmente con una fase leptospirémica, es decir, septicemia o febril, que se caracteriza por la presencia del microorganismo en el torrente sanguíneo, el hígado, el bazo, el riñón, el cerebro y los pulmones y tiene una duración aproximadamente de 7 a 10 días. Luego se desarrolla la fase inmunitaria, caracterizada por la producción de anticuerpos y excreción de la *Leptospira* en orina, es decir la fase leptospirúrica. En los primeros días de esta fase el paciente luego de una disminución de síntomas vuelve a presentar fiebre, cefalea intensa y mialgias severas, a veces hay adenopatías y fotofobia, también se puede producir meningitis aséptica inespecífica (2, 8).

- La forma ictérica denominada también síndrome de Weil, se caracteriza por presentar ictericia, falla renal, falla hepática, hemorragias pulmonares, con aumento de las transaminasas, las bilirrubinas y la fosfatasa alcalina (2, 18, 21, 22, 23). Este síndrome se ha reportado entre el 5 y 10% de todos los pacientes con leptospirosis que sufren la forma ictérica de la enfermedad (8, 24). Los casos graves a menudo se presentan tardíamente, y esto contribuye a su alta tasa de mortalidad, que oscila entre el 5 y el 15%. La leptospirosis puede variar en severidad de acuerdo con el serovar infectante, la edad, la salud y estado de inmunocompetencia del huésped (19).

Figura 2. Etapas del desarrollo de la leptospirosis. Tomada de Turner 1969 (20).



1.1.5. Diagnóstico

Recolección, transporte y almacenamiento de las muestras:

En la fase leptospirémica, es decir durante los primeros diez días de la enfermedad, se puede aislar la bacteria de sangre, líquido cefalorraquídeo y líquido de diálisis peritoneal. Las muestras deben recogerse antes de iniciar la terapia con antibióticos y mientras el paciente está febril; bajo condiciones óptimas, una o dos gotas de sangre venosa se inoculan directamente en medio de cultivo. No hay medios de transporte disponibles, pero la sangre se puede recoger y enviar a temperatura ambiente en tubos con heparina, oxalato o citrato; los tubos que contienen citrato o EDTA son óptimos para la detección por reacción de la cadena polimerasa (PCR), mientras que los tubos que contienen heparina, sodio polyanethol sulfonato, o saponina son inhibidoras de la técnica PCR. La orina puede ser cultivada después de la primera semana de la enfermedad, debido a que en esta época el paciente se encuentra en la fase leptospirúrica. Las muestras deben recogerse asépticamente en recipientes estériles sin conservantes y deben ser procesadas dentro de un corto tiempo de la recogida; se obtienen los mejores resultados cuando el retraso es de menos de una hora. Si la muestra pasa de este tiempo no es posible realizar el cultivo. Las muestras de orina que se van a procesar por la prueba de PCR se pueden estabilizar usando productos comerciales, permitiendo el transporte a distancias largas.

Para el diagnóstico serológico es necesario tomar muestras pareadas, ya que una sola muestra obtenida del paciente al inicio de la enfermedad puede resultar negativa o con

títulos muy bajos, indicando que puede tratarse de anticuerpos de memoria por infecciones previas, por lo cual se debe obtener una segunda muestra del paciente con intervalo de 10 a 15 días para observar el proceso de seroconversión y confirmar que se trata de una infección activa o reciente (2, 11). Se debe realizar diagnóstico diferencial con enfermedades febriles como influenza, dengue, hepatitis, neumonía, meningitis, malaria, dengue, fiebre amarilla y rickettsiosis, entre otras. (2).

Métodos fenotípicos

Examen directo

El diagnóstico puede realizarse por observación directa en muestras clínicas como sangre, orina y LCR en microscopio de campo oscuro (10X, 100X, 400X), pero requiere de la experticia del bacteriólogo, debido a que se puede confundir con otras partículas, teniendo baja sensibilidad y especificidad (8).

Cultivo

La prueba de diagnóstico definitiva es la demostración de *Leptospira* en diferentes muestras clínicas por cultivo pero lamentablemente es poco sensible y tardía, el cultivo se realiza en el medio EMJH a partir de muestra apropiada, según la fase en que se encuentre la enfermedad (sangre, LCR u orina) el medio EMJH se incuba de 28°C – 30 °C por 4-6 meses (2, 8, 11).

Métodos serológicos

La identificación de la enfermedad se puede realizar por métodos serológicos como la prueba de ELISA, que es utilizada para identificar anticuerpos IgG o IgM, detectando solo anticuerpos género específicos. Esta prueba no diferencia el serogrupo o serovar. Esta técnica es muy sensible. Generalmente se observa positividad a los seis u ocho días después del inicio de los síntomas. Suele ser utilizada como prueba tamiz, aunque tiene limitaciones y puede ser negativa en un porcentaje de infecciones causadas por el serogrupo Grippotyphosa y Australis.

Los anticuerpos IgM aparecen, generalmente, más temprano que los anticuerpos de clase IgG, siendo detectables en sangre cinco a siete días después de la aparición de los síntomas, y permanecen desde cinco meses o aún años aunque a bajos títulos; la detección de anticuerpos IgG es más variable; algunas veces pueden no ser detectables en absoluto o ser detectables por períodos relativamente cortos de tiempo, pero ocasionalmente pueden persistir por varios años, ver figura 2. (2,11)

La prueba de oro para la confirmación de leptospirosis es la microaglutinación (MAT); es una técnica altamente sensible y específica, que además puede identificar el serogrupo de *Leptospira*. La MAT detecta anticuerpos aglutinantes totales en suero que pueden ser de tipo IgG o IgM; para ella se incuban los sueros de los pacientes con el antígeno vivo de los serovares de *Leptospira*, luego se observa la reacción antígeno-anticuerpo al microscopio de campo oscuro para evidenciar la aglutinación; sin embargo, la MAT es compleja, de difícil interpretación, requiere de personal con experiencia y además se debe tener especial cuidado con los cultivos de *Leptospira* ya que pueden contaminarse fácilmente (2, 11).

1.1.6. Tratamiento

Para la leptospirosis leve el manejo debe ser ambulatorio:

- Analgésicos
- Revalorar según criterio médico
- Administración de terapia antibiótica

El tratamiento siempre se administrará con un diagnóstico presuntivo sin esperar la confirmación por laboratorio y de acuerdo al estado del paciente con antibióticos de primera elección. Se debe tratar de iniciar el manejo antimicrobiano antes del quinto día de los síntomas, para mayor efectividad; después de este tiempo, su utilidad es controvertida. Después del inicio del tratamiento hay riesgo de aparición de la reacción de Jarisch-Herxheimer la cual consiste en una reacción febril de tipo agudo que con frecuencia viene acompañada por escalofríos, fiebre, malestar general, náuseas, dolor de cabeza, mialgia (dolor muscular), artralgia (dolor en las articulaciones) que se produce por la liberación al torrente sanguíneo del material contenido dentro de las espiroquetas. (6,25).

Los casos graves deben ser hospitalizados para evitar complicaciones y fallecimientos. En caso de presentarse insuficiencia renal y/o hepática, manifestaciones neurológicas, cardíacas o respiratorias, se indicará tratamiento específico para estas dolencias, y deben ser hospitalizados en instituciones de mayor complejidad para garantizar la realización de los procedimientos indicados, como diálisis (6).

Tratamiento farmacológico en adultos:

- Penicilina Sódica, 2 a 4 millones cada 6 horas IV por 7 días (medicamento de elección para casos severos).
- Amoxicilina 500 mg cada 8 horas por 7 a 10 días (casos leves).
- Doxiciclina 100 mg 2 veces al día VO por 7 días (casos leves) (2, 6, 18).

Otros antibióticos que pueden ser utilizados:

- Tetraciclina 500 mg cada 6 horas VO por 7 días
- Cefalosporinas 2 gr por vía IV cada 24 horas durante las primeras 72 horas y continuar posteriormente con 1 gr diario por vía IM durante 7 días (6).

Tratamiento farmacológico en niños:

- Penicilina G, 250.000 U/Kg/día IV fraccionado en cuatro dosis (cada 6 horas) por 7 a 10 días.
- Tetraciclina en mayores de 9 años: 25-40 mg/Kg/día, cada 6 horas VO por 7 a 10 días.
- Amoxicilina 40-50 mg/kg de peso cada 8 horas por 7 a 10 días (6).

En los niños, ancianos y embarazadas, se debe hacer seguimiento continuo para verificar el comportamiento de la enfermedad y tomar las medidas adecuadas para el tratamiento.

A pesar que la transmisión humano a humano es rara, se debe tener precaución con el manejo de la sangre y los líquidos corporales, principalmente la orina, de los pacientes clasificados como sospechosos de leptospirosis (6).

1.2. Contexto - Situacional

1.2.1. Epidemiología mundial

La leptospirosis es considerada una antropozoonosis reemergente, de gran incidencia en todo el mundo, principalmente en regiones de clima tropical y templado. La transmisión ocurre tanto en países industrializados, como en vía de desarrollo, pero la infección subclínica o sin síntomas es común en regiones endémicas (26, 27). Nunca se ha reportado que los seres humanos fueran fuente de transmisión, a pesar de poder excretar leptospiras en la orina durante semanas, meses o años (28). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la prevalencia de leptospirosis en climas templados puede oscilar entre 0,1 a 1 casos por 100.000 personas por año y en zonas húmedas tropicales puede ser de 10 o más casos por 100.000 personas por año (11). Estudios han sugerido que la mayor mediana anual incidencia se produce en la Región de África (95,5 por 100 000 habitantes), seguido por el Pacífico Occidental (66.4), las Américas (12.5), el Sudeste Asiático (4.8) y Europa (0,5) (29), en EEUU se reportan de 100 a 200 casos por año (30), en México se reportaron 1.547 casos durante la pasada década (2000 – 2010)(31), y en Yucatán, México reportaron 61 casos en tres años de 1998 – 2000 (32), en Perú se reportaron 443 casos para el año 2007(33), Tailandia reportó 2.868 casos para el año 2005(34); adicionalmente, se han registrado brotes importantes después de desastres como el huracán Mich en Nicaragua, inundaciones en Perú y Ecuador en América, Orissa y Bombay en India y Jakarta en Indonesia (35,36). Es importante tener en cuenta que la variabilidad de los datos puede estar dada a la convergencia de factores culturales, sociales, ecológicos y económicos.

1.2.2. Epidemiología local

En Colombia, la leptospirosis es una zoonosis de notificación obligatoria, de acuerdo al Decreto 2257 de 1986, emitido por el Ministerio de Salud; sin embargo, la prevalencia de la enfermedad es desconocida, al igual que los factores de riesgo, debido en gran parte a la falta de sospecha clínica, ya que puede ser confundida con varios síndromes febriles, presentándose un subregistro en la notificación (37, 38)

En nuestro país se han realizado varios estudios desde el descubrimiento de esta zoonosis que nos muestran la importancia del impacto en Salud Pública de esta enfermedad. El primer estudio colombiano de la enfermedad lo realizó Muñoz- Rivas en 1957, citado por Bravo y Restrepo (39); posteriormente, en 1969 se presentó el primer caso humano de leptospirosis por el serovar Canicola en un joven con cuadro de ictericia progresiva que afectó además las meninges y los riñones (40).

La única epidemia documentada en el país se inició en agosto de 1995, en el departamento del Atlántico con un total de 47 casos confirmados y 284 sospechosos, lográndose aislar *L. interrogans* de las serovariedades Icterohaemorrhagiae, Pomona y Canicola (41, 42). En Risaralda en junio de 2006 se reportó un aumento de casos de leptospirosis humana y cuatro fallecimientos, de los cuales tres fueron confirmados. En total se tomaron 151 muestras, encontrándose 96 muestras positivas (43).

En Colombia se han realizado varios estudios de seroprevalencia en diferentes departamentos: en la zona del Urabá antioqueño entre marzo y octubre de 2000, se

analizaron 582 muestras, encontrando una prevalencia de 12,5% (44), en el Valle del Cauca en 2008 se analizaron 150 muestras séricas colectadas en la fase aguda, se confirmaron 31 casos (20%) y 16 probables (45); en Córdoba, entre febrero y abril de 2004 se tomaron muestras de 344 trabajadores agrícolas, carniceros y recolectores de basura, 47% pertenecían al bajo Sinú y el 53% al alto Sinú encontrándose una positividad similar, con una prevalencia del 13% por medio de la técnica de ELISA en personas con edades de 15-44 años (19).

En Colombia, en el año 2005 se publicó una investigación acerca de una fiebre de origen desconocido en Córdoba por medio de un diagnóstico diferencial para diversas enfermedades tropicales, entre ellas dengue y *Leptospira* y se encontró que ocho de veintiséis casos (30%) presentaron ambos síndromes febriles (46).

En la actualidad, hasta la semana epidemiológica 29 de 2015 se han notificado 1415 casos de leptospirosis en Colombia. La incidencia nacional acumulada hasta la semana epidemiológica 29 es de 0,72 casos por cada 100.000 habitantes. Las entidades territoriales de Guaviare, Amazonas, Chocó y Vichada son las que presentan la mayor incidencia en el país (47).

1.3. Normativo

El Decreto 2257 de 1986, en su artículo 28 establece que la leptospirosis debe notificarse por períodos epidemiológicos. Teniendo en cuenta que nos encontramos en una zona tropical, y reconociendo que esta enfermedad es endémica en ciertas regiones del país, se hace necesario mantener un sistema de vigilancia epidemiológica que permita conocer la circulación de la *leptospira* en Colombia, analizar el aumento de los casos para predecir brotes, y generar estrategias intersectoriales de prevención y control. Se menciona a continuación la documentación recomendada para tal fin:

- *Protocolo de vigilancia de leptospirosis.* Es la guía técnica y operativa que estandariza los criterios, procedimientos y actividades que permiten sistematizar las actividades de vigilancia de los eventos de interés en salud pública (6).
- *Guía de leptospirosis humana.* Esta guía incorpora el diagnóstico, la vigilancia y el control de la leptospirosis. Nace como iniciativa de la OPS, ILS y OMS para la cooperación horizontal y así movilizar los recursos disponibles en la región (11).
- *Plan Decenal de Salud Pública 2012 - 2021.* Este plan está encaminado a lograr la equidad en salud y el desarrollo humano de todos los colombianos. El tema de leptospirosis se contempla dentro de la dimensión vida saludable y enfermedades transmisibles y en ella en el componente condiciones y situaciones endemo-epidémicas (48).

1.4 Aspectos metodológicos relevantes en estudios de pruebas diagnósticas

El diagnóstico es un proceso dinámico que se inicia con la anamnesis, en el que el médico comienza a emitir hipótesis sobre lo que le pasa al enfermo, hipótesis que son contrastadas y aceptadas o rechazadas provisionalmente. Esta misma dinámica se repite a lo largo de la exploración física, cuando se analizan los resultados de las pruebas complementarias e, incluso, cuando ya se ha instaurado el tratamiento (49)

El principio fundamental de las pruebas diagnósticas reside en la creencia de que los individuos que tienen una enfermedad son distintos de los que no la tienen, y que las pruebas diagnósticas permiten distinguir a los dos grupos; de los cuales pueden resultar las siguientes combinaciones: a) un resultado verdadero positivo (VP): la prueba es positiva y el paciente tiene la enfermedad; b) un resultado falsamente positivo (FP): la prueba es positiva pero el paciente no padece la enfermedad; c) un resultado falsamente negativo (FN): la prueba es negativa pero el paciente presenta la enfermedad y d) un resultado verdadero negativo (VN) la prueba es negativa y el paciente no tiene la enfermedad (Tabla 1). Las mejores pruebas diagnósticas son las que generan pocos falsos positivos y falsos negativos. (49, 50)

Tabla 1. Situaciones posibles de la prueba diagnóstica vs la enfermedad (50)

		Enfermedad	
		Presente	Ausente
Prueba	Positiva	Verdadero positivo (a)	Falso positivo (b)
	Negativa	Falso negativo (c)	Verdadero negativo (d)

La sensibilidad (Se) o tasa de verdaderos positivos (TVP) es la probabilidad de que la prueba dé positiva si la condición de estudio está presente, también se puede definir como la proporción de verdaderos positivos respecto al total de enfermos.

Sensibilidad: $VP/enfermos = a/a+c$

La especificidad (Es) o tasa de verdaderos negativos (TVN) es la probabilidad de que la prueba dé negativa si la enfermedad está ausente, También se puede definir como la proporción de verdaderos negativos respecto al total de sujetos sanos.

Especificidad: $VN/Sanos = d/b+d$

La sensibilidad y especificidad son propiedades intrínsecas de las pruebas diagnósticas, ya que no dependen de la probabilidad preprueba o prevalencia del fenómeno que se estudia, aunque en algunas ocasiones no son constantes e independientes de: 1) la población a la que se aplica, 2) de la prevalencia de la enfermedad y 3) de las características de la enfermedad. En otras palabras pueden variar por ejemplo según el sexo, la edad, la gravedad de la enfermedad etc. (50, 51)

Los valores predictivos son de suma importancia para el clínico, porque le ayuda a conocer la probabilidad de que su diagnóstico sea correcto.

El valor predictivo positivo (VPP) es la probabilidad de tener la condición de estudio, si la prueba ha sido positiva. También puede ser definido como la proporción de verdaderos positivos respecto al total de pruebas positivas. (49)

El valor predictivo negativo (VPN) es la probabilidad de no tener la condición de estudio, si la prueba ha sido negativa. También puede ser definido como la proporción de verdaderos negativos respecto al total de pruebas negativas. (49)

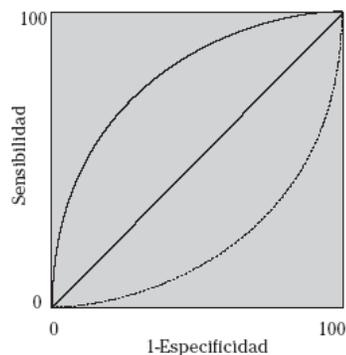
A pesar que la sensibilidad y especificidad son más estables que los valores predictivos por los cambios a raíz de la prevalencia, siguen siendo más inestables entre la proporción de enfermos leves y graves en una prevalencia determinada, sea alta o baja. Los valores predictivos no se pueden extrapolar a poblaciones diferentes a la del estudio dado que es una probabilidad post prueba. (50, 52)

El coeficiente de probabilidad o razón de verosimilitud positiva o negativa (CP ó LR + y CP ó LR -) es una forma alternativa de describir el comportamiento de una prueba indicador del desempeño de la prueba. Estas son independientes de la prevalencia y se pueden calcular para diferentes estratos. La razón de verosimilitud de un resultado positivo nos indica cuanto más elevado sea el CP por encima de 1 más se incrementara la probabilidad de diagnóstico. La razón de verosimilitud negativa nos indica cuanto menos probable es un resultado negativo en un individuo enfermo que en uno no enfermo. Tanto menor sea el resultado más discrimina la prueba. Su inverso ($1/LR -$) es más fácil de interpretar e indica cuanto más es probable un resultado negativo en un sujeto no enfermo que en uno enfermo. (50, 51)

Muchas pruebas diagnósticas no suministran un resultado dicotómico dado que su resultado proviene de una variable continua. Para estos se debe establecerse a partir de qué valor se considera un resultado es positivo, es decir un punto de corte. Esta decisión requiere llegar

a un equilibrio que exprese la mayor sensibilidad y la especificidad posible. Basado en el uso que se le pretende dar a la prueba, el investigador debe sopesar la importancia relativa de la sensibilidad o de la especificidad en un escenario específico para cambiar el punto de corte de acuerdo al tipo de prueba con el que pretenda trabajar; es decir si es una prueba de tamizaje, requerirá una mayor sensibilidad y en casos de pruebas confirmatorias, requerirá una mayor especificidad. Ello por supuesto implica también el análisis del costo de los posibles falsos positivos o negativos que se puedan presentar. Dichos puntos de corte se establecen mediante las llamadas curvas de características operativas para el receptor o curvas ROC. Las curvas ROC se dibujan en un eje de coordenadas donde en el eje Y se ubica la sensibilidad y en el eje X la tasa de falsos negativos (TFP) o el complemento de la especificidad. Ambos ejes oscilan entre 0 y 100. El punto de la curva con mayor rendimiento conjunto de sensibilidad y especificidad estará en el extremo superior e izquierdo de la curva, es decir será el punto tangencial que le permita a la curva tener mayor área bajo ella, se suele aceptar como valor aceptable de discriminación cuando supera el valor 0,7 (Figura 4). (50, 53)

Figura 3. Curva de Características Operativas para el Receptor.



2. Problema de investigación

La leptospirosis es un problema de salud pública a nivel mundial, especialmente en áreas tropicales, subtropicales y en países en vía de desarrollo. Se ha considerado como una enfermedad asociada a la ocupación de las personas; sin embargo, el fenómeno de globalización, los cambios climáticos y las migraciones de animales y personas hacia nuevas zonas, han propiciado que la leptospirosis sea considerada como un problema latente para cualquier población (2).

En Colombia, la leptospirosis es una zoonosis de notificación obligatoria, de acuerdo al Decreto 2257 de 1986 emitido por el Ministerio de Salud. No obstante, la prevalencia de la enfermedad es desconocida, debido en gran parte a la falta de sospecha clínica, ya que puede ser confundida con varios síndromes febriles presentándose un subregistro en la notificación (37).

En nuestro país, el primer reporte de casos de leptospirosis en humanos fue descrito en 1969. En 1995 se presentó la única epidemia documentada en el país en el departamento del Atlántico, causada por *L.interrogans*, serovares icterohaemorrhagiae, pomona y canicola (42). En Risaralda en junio de 2006 se reportó un aumento de casos de leptospirosis humana y cuatro fallecimientos, de los cuales tres fueron casos confirmados. En total se tomaron 151 muestras, encontrándose 96 muestras positivas (43). En Colombia se han realizado varios estudios de seroprevalencia en diferentes departamentos: en la zona

del Urabá antioqueño, entre marzo- octubre de 2000, se analizaron 582 muestras, con una prevalencia de 12,5% (44), en el Valle del Cauca en 2008 se analizaron 150 muestras séricas colectadas en la fase aguda, se confirmaron 31 (20%) casos y 16 se clasificaron como casos probables (45), en Córdoba, entre febrero y abril de 2004 se tomaron muestras de 344 trabajadores agrícolas, carniceros y recolectores de basura; 47% pertenecían al bajo Sinú y el 53% al alto Sinú, encontrándose una positividad similar, con una prevalencia del 13% por medio de la técnica de ELISA en personas con edades de 15-44 años (19).

En la actualidad, hasta la semana epidemiológica 29 de 2015 se han notificado 1.415 casos de leptospirosis en Colombia; la incidencia nacional acumulada hasta la semana epidemiológica 29 de 2015 es de 0,72 casos por cada 100.000 habitantes. Las entidades territoriales de Guaviare, Amazonas, Chocó y Vichada son las que presentan la mayor incidencia en el país (47).

Esta enfermedad se encuentra agrupada dentro del síndrome febril agudo íctero hemorrágico, que incluye otras dolencias con sintomatología inicial inespecífica, por lo que puede ser fácilmente confundida con otros síndromes febriles como rickettsiosis, dengue, hepatitis, y fiebre amarilla, entre otros. Esto sumado al desconocimiento o la falta de sospecha clínica de la enfermedad, permite que actualmente la leptospirosis sea subdiagnosticada y presente una baja notificación al sistema nacional de vigilancia en salud pública, SIVIGILA. Por tanto, se desconocen las características epidemiológicas, la prevalencia y el comportamiento de la enfermedad en nuestro país; adicionalmente, el diagnóstico por laboratorio es limitado, a pesar de estar contemplado dentro del POS.

Dentro de los lineamientos dados por el Instituto Nacional de Salud (INS) en el protocolo de vigilancia de la leptospirosis se tiene establecido como prueba de tamizaje la determinación de IgM mediante la técnica de ELISA. Lamentablemente, solo algunos laboratorios de salud pública departamentales (LSPD) realizan la prueba de ELISA IgM, empleando alguno de los dos pruebas s importadas que circulan en el mercado nacional Panbio (validado en Australia y New Zelanda) y Virion-Serión (validado en Alemania).

La prueba de oro para la detección de este microorganismo es la técnica de microaglutinación (MAT), (por sus siglas en inglés, microagglutination test), realizada en el Instituto Nacional de Salud (INS), la cual es muy laboriosa debido a que se requiere enfrentar cada muestra con los 19 serovares establecidos por la Sociedad Internacional de Leptospira (ILS), lo que conlleva a que el diagnóstico sea dispendioso, costoso y poco oportuno.

Habitualmente el diagnóstico de la leptospirosis en Colombia se realiza por la determinación de anticuerpos IgM por la técnica de ELISA, ya que la MAT, únicamente está disponible en los LSPD de Risaralda, Atlántico y en el INS.

Teniendo en cuenta lo anterior, el diagnóstico de la enfermedad por detección de anticuerpos circulantes en fase aguda (IgM) representa la herramienta diagnóstica de más

fácil acceso para los laboratorios de mediana y baja complejidad. Por esta razón, se hace necesario conocer las características operativas de las pruebas de medición de IgM mediante la técnica de ELISA, con relación a la técnica de MAT, para obtener evidencia sobre su desempeño como prueba de tamizaje en nuestro medio, y mejorar el control de calidad realizado en el INS por el Grupo de Microbiología.

En tal sentido, se hace necesario validar las pruebas IgM mediante la técnica de ELISA disponibles (Panbio y Virion-Serion) contrastando sus resultados con la prueba de oro, (MAT) para aclarar si las pruebas de tamizaje que se realizan en los LSP detectan anticuerpos con los serovares circulantes en nuestro país y mejorar la respuesta del diagnóstico por laboratorio, y fortalecer la vigilancia de este evento en el país.

2.1 Pregunta de investigación

¿Las pruebas serológicas de diagnóstico disponibles en el mercado, *Virion-Serion*® y *Panbio*®, pueden ser utilizadas como pruebas de tamizaje de leptospirosis en Colombia?

3. Justificación

La leptospirosis es un problema de salud pública mundial, especialmente en áreas tropicales y subtropicales húmedas, que favorecen la presencia de vectores y reservorios mamíferos, donde se encuentran la mayoría de países en desarrollo (35). Adicionalmente, la mala disposición de residuos, la falta de agua potable y la infraestructura deficiente de las viviendas, incrementan esta problemática. El diagnóstico de estas enfermedades se dificulta por la sintomatología inespecífica y la falta de confirmación por laboratorio de manera rápida que permita un tratamiento oportuno.

Colombia es un país donde convergen todos los factores anteriormente mencionados, contribuyendo a que los pacientes presenten este síndrome, sin lograr ser diagnosticados y tratando solo su sintomatología. Esta situación conlleva a un subregistro en la notificación de casos, que genera un desconocimiento de la situación epidemiológica real de estas enfermedades, dificultando la toma de medidas de vigilancia y control adecuadas que permitan controlar esta problemática.

Actualmente, el protocolo de vigilancia de la leptospirosis definido por el INS para Colombia estipula la utilización de la medición de IgM por la técnica de ELISA para *leptospira* sp como prueba de tamizaje de la enfermedad, con fundamento en la revisión de la literatura y la sugerencia de expertos internacionales, sin contemplar las deficiencias operativas que pudieran tener los pruebas disponibles en el mercado, considerando la prevalencia de la enfermedad en el país.

La Organización Mundial de la Salud ha definido como prueba confirmatoria de oro (*gold standar*) la técnica de la microaglutinación (MAT); sin embargo, considerando las limitaciones de la prueba relacionadas con su costo, dificultad de realización y el requerimiento de personal experto y y equipos) no todos los laboratorios de la red nacional tienen la posibilidad de realizar dicho diagnóstico; (únicamente los LSP de Risaralda y Atlántico y el del INS realizan esta técnica), , generando más demora en el tiempo de diagnóstico.

Adicionalmente, teniendo en cuenta que la leptospirosis es altamente endémica, una proporción de la población aparentemente sana podría ser seropositiva. Esto daría lugar a variabilidad en el punto de corte óptimo. En este estudio, nos propusimos probar la hipótesis de que el punto de corte óptimo para este ensayo en Colombia era superior al punto de corte propuesto por el fabricante.

Por lo anteriormente citado, este proyecto buscó validar las pruebas de ELISA en la detección de anticuerpos IgM para *Leptospira spp.*, en muestras pareadas de pacientes provenientes del programa de diagnóstico de síndromes febriles del Grupo de Microbiología INS, recibidas en el periodo comprendido entre enero de 2010 y julio 2013.

4. Objetivos

4.1 General

Validar las pruebas de ELISA en la detección de anticuerpos IgM para *Leptospira spp.*, en muestras pareadas de pacientes provenientes del programa de diagnóstico de síndromes febriles del Grupo de Microbiología del INS, recibidas en el periodo comprendido entre enero de 2010 y julio de 2013.

4.2 Objetivos Específicos

4.2.1. Describir las características sociodemográficas de los pacientes con infección por leptospirosis incluidos en el estudio.

4.2.2. Identificar los factores asociados a infección por leptospirosis en los pacientes incluidos en el estudio

4.2.3. Determinar las características operativas de los pruebas *Panbio*® y *Virion-Serion*® con sueros de pacientes con infección por *Leptospira spp.*, incluidos en la vigilancia centinela de la enfermedad.

5. Valoración de la Investigación

5.1. Propósito

Esta investigación pretende hacer una contribución a la problemática del diagnóstico en leptospirosis, logrando reducir costos y tiempo para ofrecer un resultado oportuno, y a su vez tener la certeza que la técnica que se está empleando como tamizaje en Colombia, funciona con nuestras condiciones sociodemográficas. Adicionalmente se pretende utilizar las pruebas de ELISA IgM para confirmar los casos en los cuales no sea posible la realización del MAT.

5.2 Consideraciones éticas

La validación de la técnica de ELISA IgM se realizará con muestras clínicas provenientes de pacientes con sospecha clínica de *Lepstospira* spp, incluidos en la vigilancia centinela del evento, Según la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de la Protección Social, la validación es una investigación considerada bajo el riesgo mínimo, ya que se emplea el registro de datos a través de procedimientos comunes, como exámenes serológicos de diagnóstico. Los datos obtenidos a partir del estudio, fueron manejados con la discrecionalidad que amerita y utilizados exclusivamente para el mismo.

Adicionalmente no se causó ninguna molestia o daño en el proceso de la investigación, ni se obtuvo ningún beneficio para los pacientes. Esta investigación pretendió ofrecer un beneficio para el sistema de vigilancia en salud pública nacional.

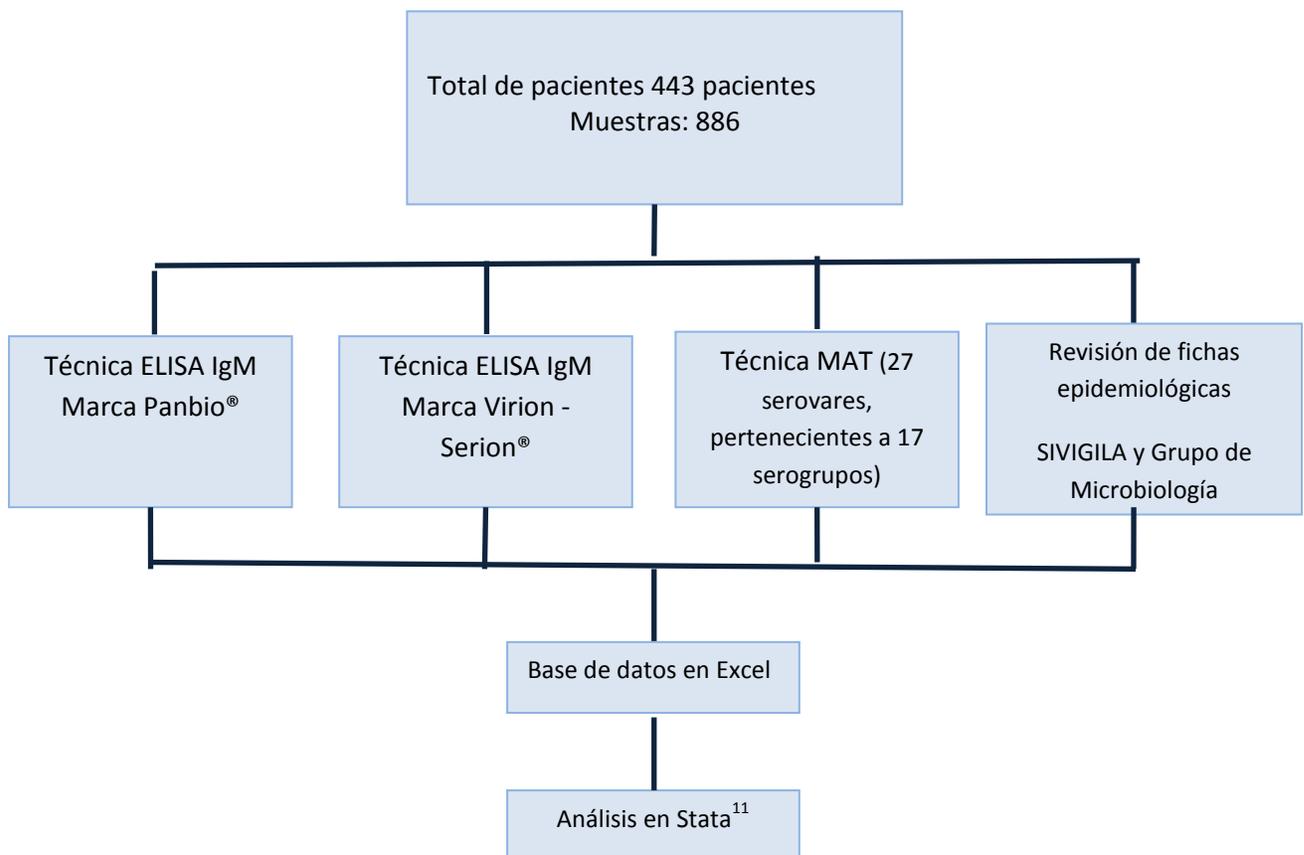
6. Metodología

6.1. Tipo de estudio

Estudio de prueba diagnóstica para validar dos pruebas de ELISA IGM para leptospirosis humana en Colombia.

La metodología que se realizó fue la siguiente:

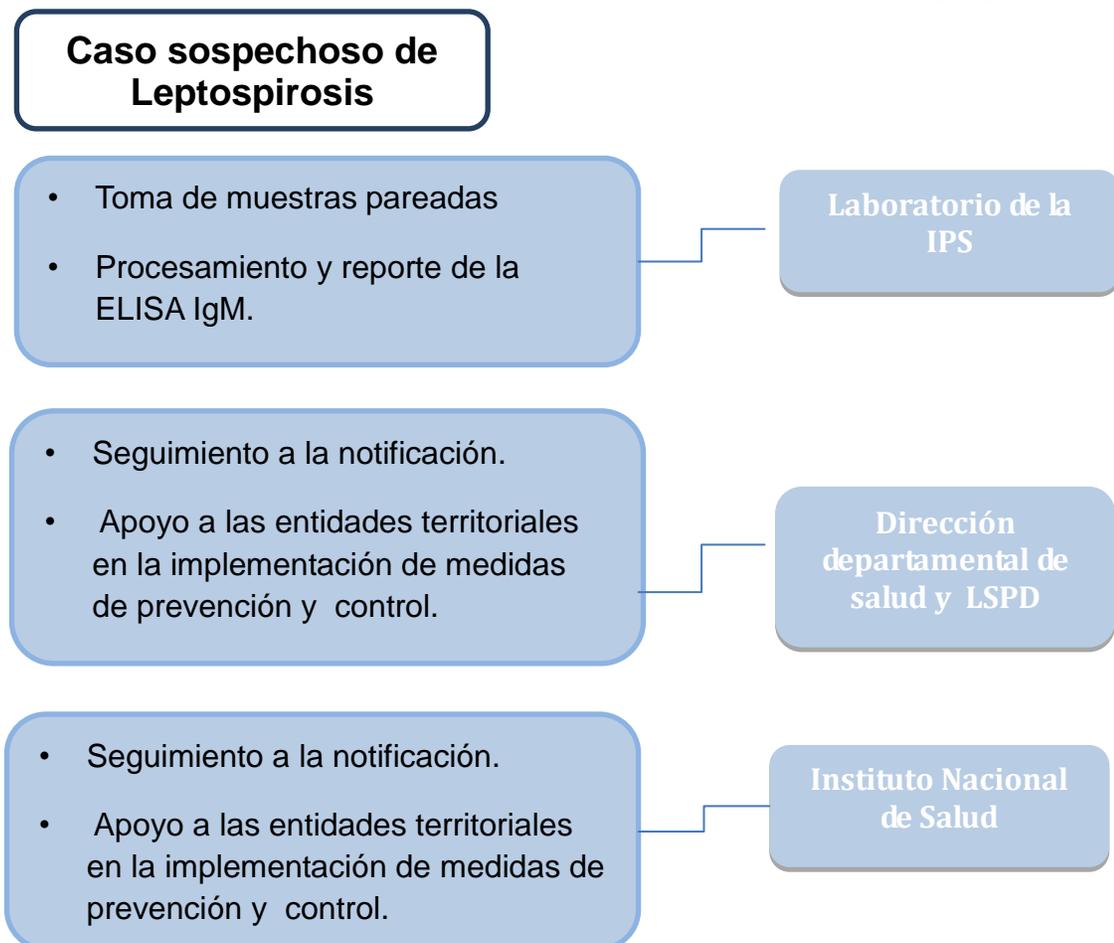
Figura 4. Descripción de la Metodología utilizada en el estudio



6.2. Población, muestra, muestreo

Se emplearon muestras derivadas de la vigilancia por laboratorio de leptospirosis en Colombia, a través de la Red Nacional de Laboratorios, la cual tiene como base todas las IPS del país. En el siguiente eslabón se encuentran los Laboratorios de salud pública departamentales en los 32 departamentos de Colombia y posteriormente, se encuentra el Instituto Nacional de Salud, quien actúa como el laboratorio nacional de referencia para el diagnóstico de leptospirosis en humanos. (Figura 5)

Figura 5. Función de la Red Nacional de Laboratorios en el evento de leptospirosis.



En la seroteca del Grupo de Microbiología reposan 910 muestras pareadas procedentes de 28 departamentos del país, sin incluir Vaupés, Guaviare, Vichada y Quindío quienes no enviaron muestras en el periodo de tiempo de estudio., La primera muestra se recolectó en el periodo inicial de los síntomas, es decir cuando el paciente consulto al clínico (fase aguda) y la segunda muestra 10 a 15 días después de la recolección de la primera muestra (fase convaleciente). El tamaño de la muestra se calculó utilizando el programa Epidat V. 4.1®, con base a una sensibilidad esperada de 96,5%, una especificidad esperada de 98,5%, prevalencia del 12%, el nivel de confianza: 95% y una precisión del 59%; producto de lo cual se estableció que se debían recolectar 433 muestras pareadas, no obstante el estudio recolectó 443 muestras pareadas, las muestras fueron recolectadas en el periodo comprendido entre enero de 2010 y junio de 2013 (Figura 4).

6.3 Recolección de la información

La recolección de la información se realizó mediante dos fuentes secundarias:

1. Formato de envío de muestras de suero para el diagnóstico de eventos febriles FOR-R01.5030-032 (anexo 1), el cual tiene las siguientes variables:

Fecha de toma de la primera muestra, fecha de toma de la segunda muestra, fecha de envío de las muestras, hospital, municipio, LSPD, nombre del paciente, sexo, edad, diagnóstico clínico, signos y síntomas del paciente, datos epidemiológicos, Evolución del paciente (mejoría o muerto) en el anexo 2 se encuentra la clasificación de cada variable.

2. Ficha de notificación del evento de leptospirosis del SIVIGILA código INS 455 (anexo 3 y anexo 4), el cual tiene las siguientes variables:

Datos clínicos: Hallazgos semiológicos (fiebre, mialgias, cefalea, artralgias, vómito, náuseas, dolor retrocular, hiperemia conjuntival, secreción conjuntival, dolor en pantorrilla, diarrea, dolor abdominal, hemoptisis, melenas, epistaxis, erupción, hematuria, prueba de torniquete positiva, esplenomegalia, signos meníngeos, disnea, tos, insuficiencia respiratoria, hepatomegalia, ictericia, insuficiencia hepática, insuficiencia renal.

Antecedentes vacúnales: vacunas contra fiebre amarilla, hepatitis B, hepatitis A y leptospirosis.

Antecedentes epidemiológicos: hay animales en casa, contacto con animales enfermos en los últimos seis meses, ha visto ratas dentro o alrededor de su domicilio, ha visto ratas dentro o alrededor de su lugar de trabajo, fuentes de agua, alcantarillas destapadas cerca del domicilio o sitio de trabajo, inundaciones en las zonas en los últimos 30 días, contacto con aguas estancadas durante los últimos 30 días, antecedentes de actividades deportivas, de baño, pesca en los últimos 30 días, disposición de residuos sólidos, tiempo de almacenamiento de la basura en casa, conoce personas con sintomatología similar en la misma vivienda durante los últimos 30 días. (Anexo 5)

3. Resultados obtenidos de las pruebas, La prueba de oro MAT fue la variable independiente y como variables dependientes se consideraron los resultados de las dos pruebas ELISA IgM Panbio® y Virion®. (Anexo 6)

Se consultaron las fuentes secundarias mencionadas, las cuales reposan en el Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud y con los resultados de laboratorio se elaboró una base de datos en Excel®.

6.4 técnicas utilizadas

Se empleó la técnica ELISA IgM (Panbio®), la técnica ELISA IgM (Virion – serion®) y la técnica de microaglutinación (MAT)- con 27 serovares pertenecientes a 17 serogrupos (ver tabla 2).

6.4.1 Técnica de ELISA IgM PANBIO ®

Requiere de una dilución 1/100 con la solución diluyente de las muestras y los controles, servir 100µl de cada uno en los pozos, incubar durante media hora a 37°C, lavar con solución de lavado cuatro veces, añadir 100µl del conjugado a cada uno de los pozos, incubar a 37°C por media hora, lavar nuevamente cuatro veces, agregar 100µl de Cromógeno TMB a cada pozo, incubar a temperatura ambiente por 10 minutos y adicionar 100µl de la solución de parada. Realizar la lectura biocromática (450 y 630nm) en el Readwell. El resultado se obtiene de dividir la absorbancia de la muestra entre la absorbancia del estándar y multiplicar por el factor. Valores por arriba de 1.1 U/ml tiene significado positivo, entre 0.9 y 1.1 U/ml indican un resultado en zona gris y menor de 0.9 U/ml es un resultado negativo.

6.4.2 Técnica de ELISA IgM VIRION-SERION®

Requiere diluir 1/20 la muestra con el reactivo RF, servir 100 µl de las muestras y los controles (sin diluir) en los pozos, dejando el primero como blanco, incubar por una hora a 37°C en cámara húmeda, llevar al *Washwell* y lavar cuatro veces, adicionar 100µl del conjugado a cada pozo, incubar a 37°C durante 30 minutos, lavar nuevamente cuatro veces y agregar 100 µl de sustrato a cada pozo incluyendo el pozo del blanco, incubar a 37°C durante 30 minutos en cámara húmeda, finalmente añadir 100µl de solución de parada a todos los pozos. Realizar lectura Dicromática en Readwell (405 y 650nm) Para el cálculo e interpretación de resultados, es necesario contar con el software de Serion. El valor mayor a 20 u/ml se considera como positivo, valores entre 15-20 u/ml indican un resultado en zona gris y menores de 15 u/ml un resultado negativo.

6.4.3 Técnica de Microaglutinación (MAT)

Es la técnica de referencia internacional. Se realiza de forma cuantitativa permitiendo detectar anticuerpos aglutinantes en el suero del paciente. En esta prueba se enfrenta el suero con los serovares de *Leptospira* y se observa la presencia de aglutinación. Es una técnica altamente específica, que además permite identificar el posible serovar infectante, brindando información que permite conocer el comportamiento epidemiológico de esta enfermedad.

El procedimiento para realizar esta técnica fue el siguiente:

- Preparación de los antígenos:

Inicialmente se preparó el medio EMJH de acuerdo a las indicaciones de la casa comercial y se realizó la prueba de esterilidad incubándolo a 37° C por 24 horas, luego se adicionó el suplemento y se envasó en cantidades de 9ml en tubos tapa rosca, se realizó el repique de las cepas de los serovares de *leptospira* viva (se utilizó un panel de 28 serovares) (Tabla 2). Se incubaron ocho días a 28 °C.

Se realizó la prueba de identidad diluyendo los antisueros y adicionando el antígeno preparado; posteriormente, se incubó por dos horas a 28°C y se leyó en microscopio de campo oscuro. Se observó la reacción de aglutinación únicamente con el antisuero respectivo, lo cual indica la pureza de las cepas utilizadas.

Los antígenos se diluyeron con Solución Amortiguadora Fosfato (SAF), que se preparó con 0,5 g de Na₂HPO₄, 0,075 g de KH₂PO₄ y 4,25 g de NaCl (Anexo 7) hasta obtener una concentración de 1-2 x10⁸ leptospiras/ml (tubo N° 5 McF).

Dilución de la muestra: Las muestras de suero se diluyeron con SAF 1:50

Reacción antígeno-anticuerpo:

Se enfrentaron cada uno de los sueros diluidos contra todos los serovares, para lo cual se adicionó 50µl de suero diluido (o SAF solo para el control) y 50µl de antígeno diluido en una microplaca plástica flexible, fondo en U, y se incubaron a 28°C por dos horas.

- Lectura:

La lectura de la microaglutinación se realizó tomando con un pincel metálico una gota de cada reacción y colocándola en una lámina portaobjeto, para ser leída en el microscopio de campo oscuro. Se consideró como reactivo cuando se observó una aglutinación $\geq 50\%$ de la *leptospira*. (Figura 6)

- Cuantificación:

Las muestras reactivas, se diluyeron seriadamente al doble con SAF en una microplaca plástica, partiendo de 1:100 hasta 1:3200 y se les adicionó el serovar respectivo; se procedió nuevamente a incubar dos horas a 28°C y se realizó la lectura al microscopio de campo oscuro. Para establecer el título se miró la positividad hasta la dilución donde se observara el 50% de aglutinación.

Figura 6. *Controles de MAT*



Control negativo



Control positivo

- Interpretación: se consideró positivo el suero que realiza la seroconversión, aumento de 4 veces el título entre suero agudo y convaleciente.

Tabla 2. Serovares utilizados, donados por el Instituto Royal Tropical Center.

Espece	Serogrupo	Serovar	Cepa
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
		Bratislava	Jez Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akyyami a
		Rachmati	Rachmat
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus 127
		Castellonis	Castellon 3
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Swart
	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
<i>L. weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522C
	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M20
		icterohaemorrhagiae	RGA
<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Veldrat Batavia 46
		Poi	Poi
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ214
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
<i>L. noguchii</i>		Proechymis	1161U
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<i>L. santarosai</i>	Sejroe	Gorgas	1413U
		Guaricura	Bov G
		Hardjo	Hardjoprajitno
		Saxkoebing	Mus 24
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Sejroe	M 84
<i>L. interrogans</i>		Wolffi	3705
<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342K
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin

Recolección de la información

Esta información se digitó en una base de datos en Ms Excel® con los resultados obtenidos con las técnicas mencionadas.

6.5 Análisis de la información

A partir de la base de datos se realizó el análisis de la información utilizando el programa STATA¹¹®, en el cual se le realizaron las siguientes mediciones:

6.5.1 Medición de especificidad y sensibilidad

Los resultados de cada una de las pruebas de ELISA IgM se calcularon por medio de una tabla de 2x2. En ella se identificaron la sensibilidad y la especificidad, determinadas según los verdaderos positivos VP, los falsos positivos FP, los verdaderos negativos VN y los falsos negativos FN.

Sensibilidad= Verdaderos Positivos/Enfermos = $VP / (VP+FN)$

Especificidad= Verdaderos Negativos / sanos = $(VN+FP)$

6.5.2 Valores predictivos

Se determinó el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) para ver la probabilidad de tener o no la enfermedad, dado que el resultado fuera positivo o negativo respectivamente. Es importante resaltar que los valores predictivos dependen de la prevalencia de la enfermedad en la población (cociente entre enfermos y población) y son los índices que interesan principalmente en la práctica clínica.

6.5.3 Coeficiente de probabilidad

Se determinó el coeficiente de probabilidad positivo (CP) y el coeficiente de probabilidad negativo (CN).

6.5.4 Curvas ROC

Las Curvas de rendimiento diagnóstico o de ROC (Receiver Operating Characteristics) nos indican sobre un par de ejes X-Y los valores que toman, respectivamente el complemento de la especificidad y la sensibilidad a medida que se cambia el punto de corte de la variable continua. Para este trabajo se utilizaron como variable independiente los resultados dicotomizados obtenidos de la técnica MAT y como variable dependiente los resultados de las pruebas tanto de Virion -serion® como Panbio® los cuales se analizaron con el programa Stata11®, lo que permitió apreciar la validez relativa de los mismos.

7. Resultados

Entre enero del 2010 y Junio de 2013, se analizaron 886 muestras, provenientes de 443 pacientes, de estos pacientes un total de 108 fueron positivos y 335 negativos por la prueba de oro “microaglutinación”, por lo que representó la certeza de pacientes definidos como enfermos y no enfermos para leptospirosis.

7.1. Caracterización sociodemográfica de los pacientes con infección por leptospirosis incluidos en el estudio.

Durante enero de 2010 a julio de 2013, fueron analizadas 886 muestras provenientes de (443 pacientes) definidos como casos sospechosos que se incluyeron en este estudio, se consideraron confirmados (108 pacientes) por laboratorio teniendo en cuenta aquellos pacientes que cumplían con el criterio de realizar el proceso de seroconversión por la técnica MAT, y se consideraron descartados aquellos pacientes que tenían un resultado negativo.

De los 108 pacientes que resultaron positivos se encontró: 22 (20%) durante el año 2010, 25 (23%) en el año 2011, 44 (41%) en el año 2012 y 17 (16%) en el año 2013. En el año 2012 se presentó el mayor número de muestras (Figura 7).

Figura 7. Distribución de pacientes positivos por año.



La edad promedio de los sujetos fue de 31 +DE 16 años, con un rango entre 8 y 76 años, y una mediana de 26; donde el 83% de los pacientes eran del sexo masculino (Figura 8), en cuanto a su distribución geográfica la leptospirosis estuvo presente en veinte de veintiocho departamentos de Colombia incluidos en el estudio, en seis departamentos se encontró el 63,7% de positivos para leptospirosis; correspondiendo a Risaralda (15,7%), Sucre (12%), Antioquia (11,1%) Boyacá (8,3%), Huila (8,3%) y Santander (8,3%) (Figura 9).

Figura 8. Distribución por sexo de los sujetos del estudio.

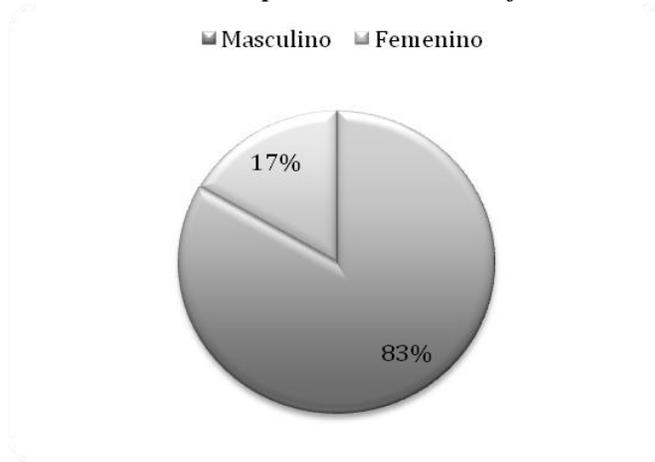
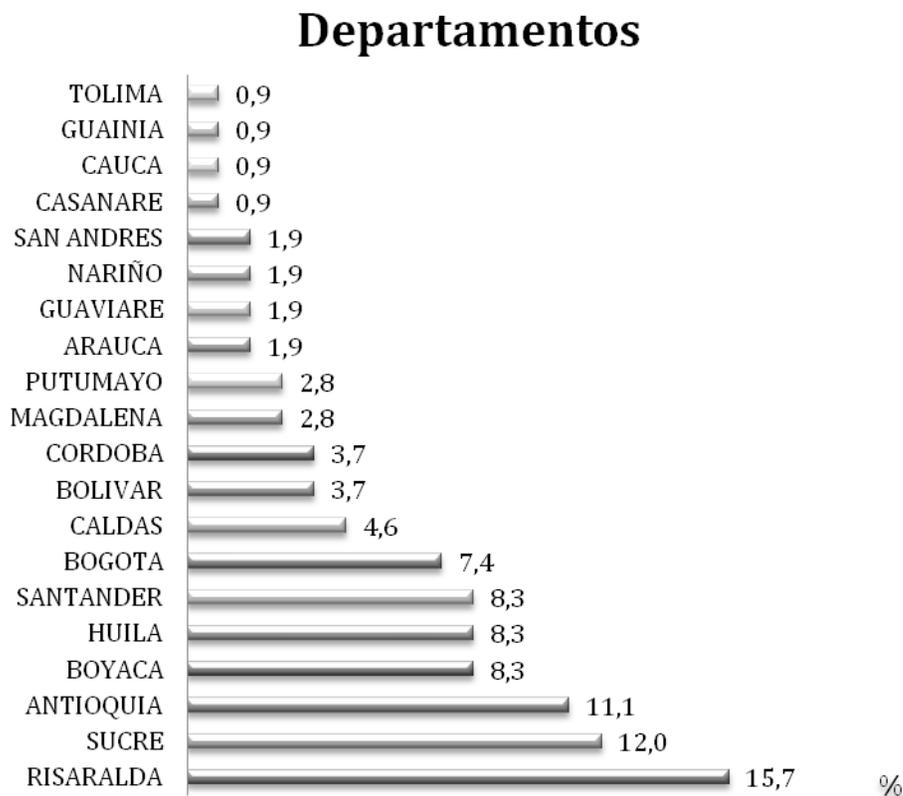


Figura 9. Distribución geográfica de los sujetos del estudio



7.2. Factores asociados a infección por leptospirosis en los pacientes incluidos en el estudio.

La comparación de la presentación de signos y síntomas de los casos sospechosos de leptospirosis del estudio se muestra en la tabla 3. El síntoma predominante fue fiebre (96,5%), también gran parte de los pacientes presentaron cefalea (81%), seguido de mialgias (77,1%), artralgias (56,6%) y nauseas (55,4%). Sólo el 40,7% presentó ictericia y el 7,4% hepatomegalia. En general, la proporción de sospechosos

estudiados que presentaron signos hemorrágicos de falla de uno o más órganos fue menor a 5%.

Tabla 3. *Presentación de signos y síntomas de los sujetos del estudio*

Síntomas	Si	%	n
Fiebre	83	96,5	86
Cefalea	68	81	84
Mialgias	64	77,1	83
Artralgias	47	56,6	83
Nauseas	46	55,4	83
Vómito	44	53,7	82
D. abdominal	38	46,3	82
Ictericia	33	40,7	81
Dolor retroocular	28	34,6	81
Diarrea	24	29,3	82
Dolor en pantorrillas	21	26,3	80
Hematuria	10	12,5	80
Hiperemia	9	11,3	80
Melenas	7	8,8	80
Tos	7	8,8	80
Brote	6	7,5	80
Hepatomegalia	6	7,4	81
Hemoptisis	4	4,9	81
Esplenomegalia	4	5	80
Disnea	4	5	80
Insuficiencia. Renal	4	4,9	81
Epistaxis	3	3,8	80
Insuficiencia respiratoria	3	3,8	80
Insuficiencia hepática	3	3,8	80
Secreción	2	2,5	80
Prueba de torniquete +	1	1,3	80
Signos Meníngeos	1	1,3	80

Para los pacientes con diagnóstico confirmado para leptospirosis reportaron haber convivido con animales domésticos y de granja, siendo más frecuente los perros (46,2%) y gatos (22,3%) (Tabla 4).

Tabla 4. *Tipos de animales con los que convive.*

Animales	Si	%	No	%
Perros	45	46,2	38	45,8
Gatos	21	22,3	59	73,8
Ninguno	21	22,2	62	74,7
Otros	13	14,3	67	83,8
Porcinos	12	13,3	68	85
Equinos	8	9,3	72	90
Bovinos	6	7,3	74	92,5

En cuanto a otros posibles factores de riesgo se halló que 57,6% reportó haber “*visto ratas dentro o alrededor de su domicilio*”, el 44,0% refieren no tener disposición de residuos sólidos, el 41,9% declaró que “*ha visto ratas dentro o alrededor de su lugar de trabajo*”, el 22,6% no tenía agua potable, el 39,5% ha tenido contacto con aguas estancadas, cerca del 30,2% reportó alcantarillas destapadas cerca de su lugar de trabajo o domicilio y el 22% realizó actividades deportivas en río, al igual, se reportaron otras variables con un porcentaje menor al 20% (Tabla 5).

Tabla 5. Posibles factores de riesgo en pacientes positivos para leptospirosis

Variables	Si	%	No	%
Fuentes de agua Acueducto	65	77,4	19	22,6
Ha visto ratas dentro o alrededor de su domicilio	49	57,6	36	42,4
Disposición de residuos sólidos 1=Recolección 2=Peri domiciliaria	47	56,0	37	44,0
Tiempo de almacenamiento de las basuras en casa 1=1-3 días 2= 4-7 días 3=más de 7 días	47	59,5	32	40,5
Antecedentes actividades deportivas Sin antecedentes	37	44,6	46	55,4
Ha visto ratas dentro o alrededor de su trabajo	36	41,9	50	58,1
¿Contacto con aguas estancadas en los últimos 30 días?	34	39,5	52	60,5
¿Presencia de alcantarillas destapadas cerca de su domicilio o sitio de trabajo?	26	30,2	60	69,8
Antecedentes actividades deportivas Rio	18	22,0	64	78,0
¿Persona con sintomatología similar en la misma vivienda durante los últimos 30 días?	14	16,3	72	83,7
¿Inundaciones en la zona en los últimos 30 días?	13	15,1	73	84,9
Contacto con animales enfermos en los últimos 6 meses	11	12,8	75	87,2
Fuentes de agua Pozo Comunitario	11	13,4	71	86,6
Fuentes de agua Tanque de almacenamiento	10	12,5	70	87,5
Antecedentes actividades deportivas Arroyo	10	12,5	70	87,5
Fuentes de agua Rio	7	8,8	73	91,3
Antecedentes actividades deportivas Lago laguna	4	5,0	76	95,0
Antecedentes actividades deportivas Represa	3	3,8	77	96,3

Para el análisis bivariado se tomaron las variables que se presentaban por encima del 50%, o que tenían una pertinencia clínica en la enfermedad, se observó una relación significativa en el síntoma mialgias $p= 0,007$, OR 1,7 encontrando que el riesgo es mayor en una probabilidad del 63% en las personas que refirieron haber tenido mialgias, en cuanto a las otras variables analizadas no se identificó una asociación estadísticamente significativa (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis bivariado de las variables que tienen pertinencia clínica.

Grupo de la variable	Variable	OR	IC 95%	P
Hallazgos semiológicos	Fiebre	2,2	0,77 – 6,62	0,08
	Cefalea	1,5	0,97 – 2,41	0,08
	Mialgias	1,7	1,16 – 2,69	0,007*
	Ictericia	1,4	0,99 - 2,05	0,05
	I. renal	0,97	0,43 - 2,21	0,95
	I. Hepática	0,67	0,26 - 1,70	0,40
Posibles factores de riesgo	Convive con Perros	0,78	0,55 - 1,13	0,19
	Convive con Porcinos	1,15	0,69 - 1,90	0,57
	Ha visto ratas dentro o alrededor de su domicilio	0,98	0,68 - 1,41	0,93
	Ha visto ratas dentro o alrededor de su trabajo.	0,96	0,67 - 1,37	0,82
	Personas con sintomatología similar en la misma vivienda durante los últimos 30 días	0,67	0,42 - 1,09	0,10
	Inundaciones en la zona en los últimos 30 días	1,25	0,76 - 2,04	0,36
	Fuentes de agua - Acueducto	0,97	0,63 - 1,49	0,91
	Fuentes de agua – Pozo comunitario	1,03	0,80 - 1,32	0,79
	Fuentes de agua -Rio	0,94	0,49 - 1,77	0,85

*Estadísticamente significativo.

7.3. Características operativas de las pruebas de ELISA Panbio® y Virion-Serion® con sueros de pacientes con infección por Leptospira spp, incluidos en la vigilancia centinela de la enfermedad.

Para determinar las características operativas de la prueba se realizó el análisis bajo los puntos de corte recomendados por el fabricante. Se encontró que los pacientes en fase aguda de la prueba de Panbio® tenían una sensibilidad de 69% y una especificidad 66%, el valor predictivo positivo fue 39% y negativo 87%, el coeficiente de probabilidad positivo fue 2 y el coeficiente de probabilidad negativo 0,5 con una precisión de 67%. Los resultados no se correlacionaron con los obtenidos por el fabricante, ellos reportan una sensibilidad del 96,5% y una especificidad de 98,5% (Tabla 7)

En cuanto a la prueba de Virion Serion® encontramos en los pacientes de fase aguda una sensibilidad de 59%, una especificidad de 70%, el valor predictivo positivo fue 39% y negativo 84%, el coeficiente de probabilidad positivo fue 1,9 y negativo de 0,5 con una precisión de 67%, no obstante el fabricante reporta una sensibilidad de 97% y una especificidad de 96% (Tabla 7)

En las muestras de la fase convaleciente analizadas con el punto de corte recomendado por el fabricante, encontramos para la prueba Panbio® una sensibilidad de 88% y una especificidad de 62%, el valor predictivo positivo fue

43% y negativo 94%, el coeficiente de probabilidad positivo fue 2,3 y el coeficiente de probabilidad negativo 0,1 con una precisión de 68%; para la prueba de Virion Serion® se encontró una sensibilidad de 84% y una especificidad de 65%, el valor predictivo positivo fue 44% y negativo 93%, el coeficiente de probabilidad positivo fue 2,4 y el coeficiente de probabilidad negativo 0,2 con una precisión de 70%; las dos pruebas para la muestra en fase convaleciente presentaron un buen rendimiento y la precisión es similar para ambas pruebas (Tabla 8).

No obstante, es importante precisar que a pesar de encontrar la prueba de Panbio® con mejor rendimiento que la prueba de Virion Serion®, los intervalos de confianza se superponen.

Tabla 7. Características operativas de las pruebas de ELISA IgM en muestras de suero agudo de las pruebas Panbio® y Virion/Serion®

Características	ELISA IgM	IC 95%	ELISA IgM	IC 95%
	Panbio®		Virion/serion®	
Sensibilidad	69%	60,2 – 77,3	59%	49,8 – 68
Especificidad	66%	60,4 – 70,5	70%	64,7 – 74,5
Valor predictivo positivo	39%	32,8 – 40,5	39%	31,6 – 46,4
Valor predictivo negativo	87%	82,2 – 90,5	84%	79,4 – 87,9
Precisión	67%	62 – 70,8	67%	62,7 – 71,4
Coeficiente de probabilidad positivo	2	1,96 – 2,08	1,9	1,88 – 2,04
Coeficiente de probabilidad negativo	0,5	0,43 – 0,49	0,5	0,55 – 0,61

Tabla 8. Características operativas de las pruebas de ELISA IgM en muestras de suero convaleciente

Características	ELISA IgM		ELISA IgM	
	Panbio®	IC 95%	Virion/serion®	IC 95%
Sensibilidad	88%	80,4 – 92,8	84%	76,2 – 89,9
Especificidad	62%	56,4 – 66,8	65%	59,8 – 69,9
Valor predictivo positivo	43%	36,2 – 49,1	44%	35,1 – 50,5
Valor predictivo negativo	94%	90,1 – 96,5	93%	88,7 – 95,4
Precisión	68%	63,6 – 72,3	70%	65,3 – 73,8
Coefficiente de probabilidad positivo	2,3	2,2 – 2,3	2,4	2,36 – 2,47
Coefficiente de probabilidad negativo	0,1	0,16 – 0,22	0,2	0,21 – 0,27

El análisis de las curvas ROC para una variable dicotómica en los pacientes en fase aguda, mostró para la prueba de marca Virion-serion® un área bajo la curva de 0,696, y para la prueba de Panbio® el área bajo la curva fue de 0,726 (Figura 10 y 11).

Figura 10. Curva de características operativas (ROC) de la prueba de ELISA IgM Virion/Serion® en muestras de suero agudo

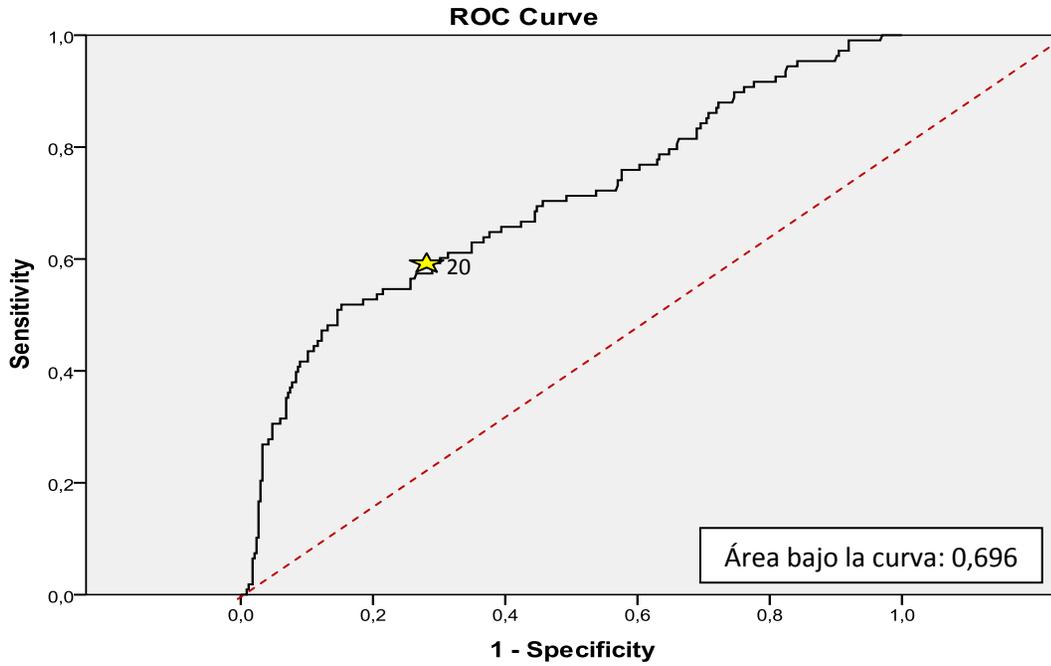
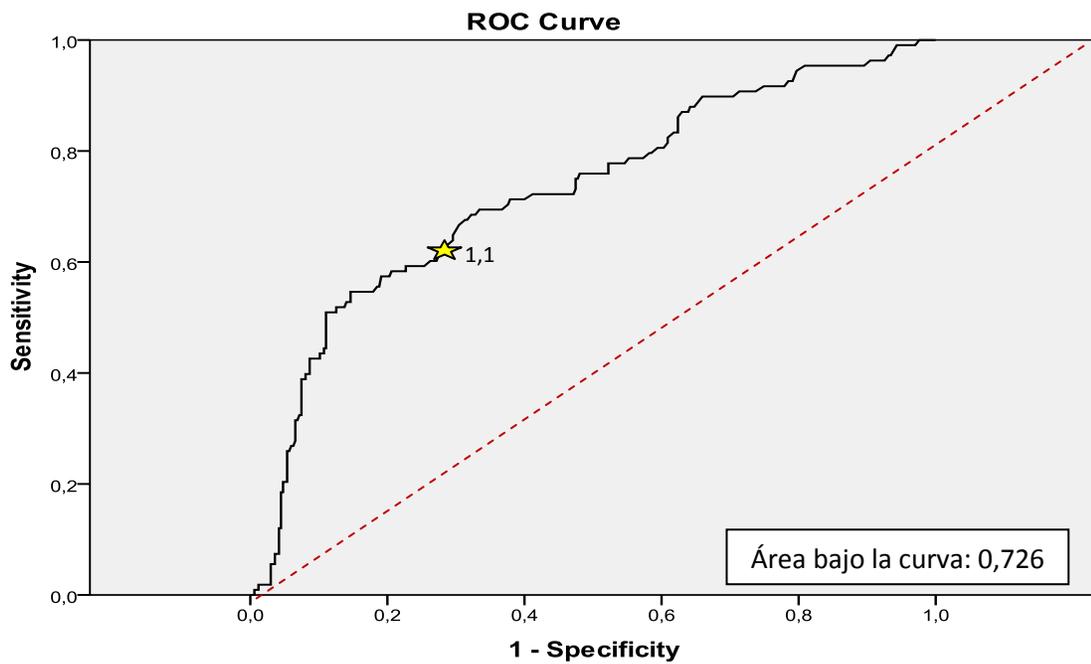


Figura 11. Curva de características operativas (ROC) de la prueba de ELISA IgM Panbio® en muestras de suero agudo



En las tablas 9 y 10 se muestran las sensibilidades y especificidades encontradas en diferentes puntos de corte para cada una de las pruebas, respectivamente. El fabricante considera para la prueba de Virion/Serion® como positivo mayor a 20, dudoso entre 15 y 20 y negativo menor de 15; y para la prueba Panbio® se considera positivo mayor a 1,1, dudoso entre 0,9 y 1,1 y negativo menor de 0,9.

Para la prueba Virion® se analizaron los puntos de corte de 15 a 30, encontrando en el punto de corte considerado ≥ 15 una sensibilidad de 66%, una especificidad de 60% con una precisión de 62%; en el punto de corte 30, a este nivel la sensibilidad fue del 52%, la especificidad 84% y la precisión diagnóstica de 76% (Tabla 9).

Tabla 9. *Sensibilidades y especificidades de la prueba Virion- Serion® derivadas de diferentes puntos de corte en muestra aguda*

Punto de corte	Sensibilidad	IC 95%	Especificidad	IC95%	Precisión	IC 95%
15	66%	56,39 –74,01	60%	54,97 – 65,39	62%	57,02 –66,04
16	65%	55,44 –73,17	62%	57,09 – 67,41	63%	58,39 –67,35
17	63%	53,56 –71,48	65%	59,82 – 69,98	65%	60 –68,87
18	61%	51,69 –69,77	66%	61,05 – 71,12	65%	60,46 –69,31
19	61%	51,69 - 69,77	68%	62,89 - 72,82	66%	61,84 –70,61
20	59%	49,83 - 68,05	70%	64,73 – 74,52	67%	62,77 –71,47
21	59%	49,83 - 68,05	71%	65,97 – 75,64	68%	63,69 –72,34
22	57%	47,99 - 66,32	73%	67,52 – 77,04	69%	64,39 –72,98
23	56%	46,15 - 64,58	74%	69,39 – 78,71	70%	65,32 –73,84
24	55%	45,24 - 63,7	76%	71,59 – 80,65	71%	66,72– 75,13
25	55%	45,24 – 63,7	78%	73,17 - 82,02	72%	67,89 - 76,2
26	54%	44,33 - 62,82	79%	74,43 - 83,12	73%	68,59 - 76,84
27	53%	43,43 - 61,94	80%	75,71 - 84,2	74%	66,29 - 77,48
28	52%	42,53 - 61,05	82%	77,31 - 85,56	74%	70,23 - 78,33
29	52%	42,53 –61,05	83%	78,59 - 86,63	75%	71,18 - 79,18
30	52%	42,53 - 61,05	84%	79,56 - 87,43	76%	71,89 –79,81

Para la marca Panbio® se analizaron los puntos de corte de 0,7 a 2, basado en estos resultados en el punto de corte ≥ 1 encontramos que se mejora la sensibilidad a un 71%, se ve una mejor relación entre sensibilidad y especificidad con una precisión de 64%; para el punto de corte $\geq 1,8$, encontrando una sensibilidad de 55%, una especificidad de 85% y la precisión diagnóstica de 78% (ver tabla 10).

Tabla 10. Sensibilidades y especificidades de la prueba Panbio® derivadas de diferentes puntos de corte en muestra aguda.

Punto de corte	Sensibilidad	IC 95%	Especificidad	IC95%	Precisión	IC 95%
0,7	78%	69,06 –84,59	45%	40,12 – 50,73	53%	48,62 –57,87
0,8	76%	67,06 -83,01	51%	45,71 – 56,36	57%	52,48 –61,64
0,9	72%	63,12 –79,8	55%	49,27 – 59,88	58%	54,28 –83,4
1,0	71%	62,15 -78,98	62%	56,48 – 66,83	64%	59,54 –68,44
1,1	69%	60,21 –77,34	66%	60,44 – 70,55	67%	62,07 –70,82
1,2	67%	57,34– 74,85	70%	64,43 – 74,24	69%	64,39 –72,98
1,3	60%	50,76 –68,91	73%	67,83 – 77,32	70%	65,32– 73,84
1,4	59%	49,83 –68,05	73%	70,65 – 79,82	72%	67,19 –75,56
1,5	59%	49,83 - 68,05	77%	72,53 - 81,47	73%	68,59 - 76,84
1,6	57%	47,99 - 66,32	78%	75,07 - 83,66	74%	70 - 78,12
1,7	55%	45,24 - 63,7	82%	77,95 - 86,09	76%	71,41 - 79,39
1,8	55%	45,24 - 63,7	85%	80,86 - 88,49	78%	73,54 - 81,28
1,9	52%	42,53 - 61,05	86%	82,17 - 89,55	78%	73,78 - 81,49
2	51%	41,63 –60,16	88%	84,15 - 91,11	79%	74,97 - 82,54

El análisis para las muestras de suero convaleciente se encontró que las curvas ROC arrojaron los siguientes resultados: prueba de Virion/ Serion® un área bajo la curva de 0,831 y para la prueba de Panbio® de 0,868. (Figura 12 y 13)

Figura 12. Curva de características operativas (ROC) de la prueba de ELISA IgM Virion/Serion® en muestras de suero convaleciente

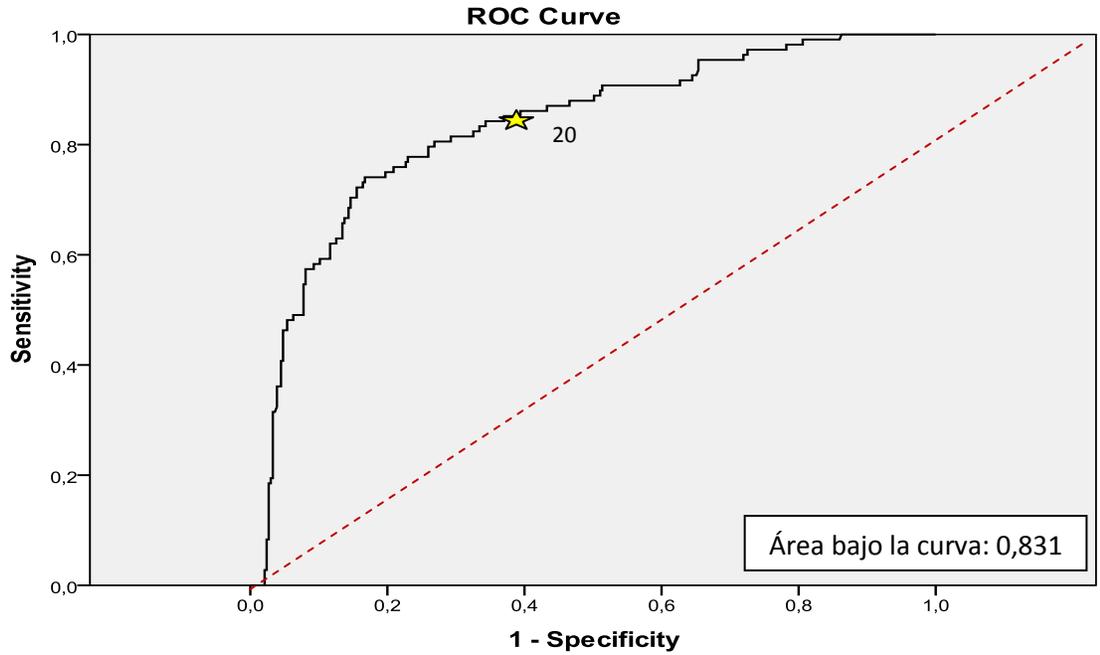
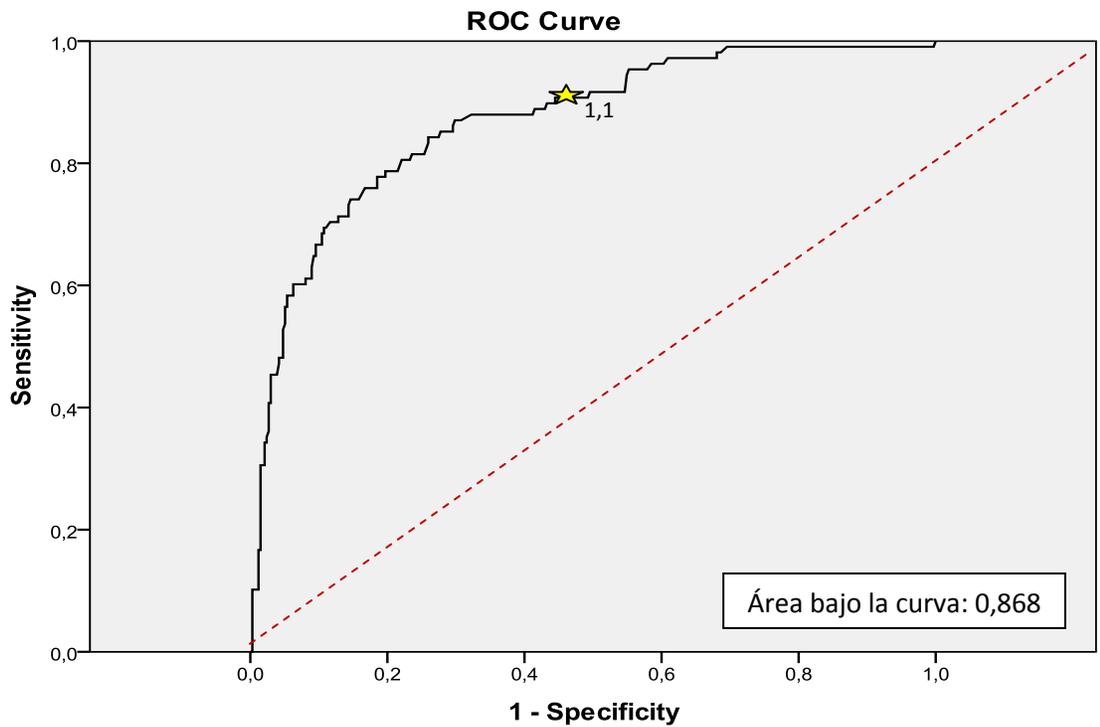


Figura 13. Curva de características operativas (ROC) de la prueba de ELISA IgM Panbio® en muestras de suero convaleciente



A su vez se realizó el análisis de los diferentes puntos de corte para cada prueba mostrándonos para la prueba de Virion/serion® en el punto de corte ≥ 20 tenemos una sensibilidad de 84%, una especificidad de 65% con una precisión del 70%; para el punto de corte de ≥ 27 tenemos una sensibilidad de 80%, una especificidad de 74% con una precisión del 75% (Tabla 11). Para la prueba Panbio® encontramos que en el punto de corte de ≥ 1 la sensibilidad es de 89%, la especificidad de 57% con una precisión del 65%, en el punto de corte $\geq 1,8$ nos arrojó una sensibilidad del 76%, una especificidad del 82% con una precisión del 80%. (Tabla 12).

Tabla 11. Sensibilidades y especificidades de la prueba Virion- Serion® derivadas de diferentes puntos de corte en muestra convaleciente

Punto de corte	Sensibilidad	IC 95%	Especificidad	IC95%	Precisión	IC 95%
15	87%	79,41 –92,12	57%	51,36 – 61,92	64%	59,54– 68,44
16	86%	78,34 – 91,4	60%	54,37 – 64,82	66%	61,61 –70,39
17	85%	77,28 –90,67	63%	57,69 – 67,98	68%	63,93 -72,55
18	84%	76,23 –89,93	64%	58,91 – 69,13	69%	64,62 –73,2
19	84%	76,23 - 89,93	64%	59,22 - 69,41	69%	64,85 –73,41
20	84%	76,23 - 89,93	65%	59,82 – 69,98	70%	65,32 –73,84
21	83%	75,19 - 89,19	67%	61,35 – 71,41	71%	60,25 –74,7
22	82%	74,15 - 88,44	67%	61,97 – 71,97	71%	66,48 –74,92
23	81%	73,12 - 87,68	68%	63,19 – 73,11	72%	67,19 –75,56
24	81%	72,1 - 86,92	71%	65,66 – 75,36	73%	68,82– 77,05
25	81%	72,1 - 86,92	72%	67,21 – 76,76	74%	70 - 78,12
26	80%	71,08 - 86,15	73%	68,15 - 77,6	75%	70,47 - 78,54
27	80%	71,08 - 86,15	74%	69,08 - 78,43	75%	71,18 - 79,18
28	78%	69,06 - 84,59	74%	69,08 - 78,43	75%	70,71 - 78,75
29	78%	69,06 - 84,59	75%	70,02 - 79,27	76%	71,41 - 79,39
30	78%	69,06 - 84,59	76%	70,96 - 80,1	76%	72,12 - 80,02

Tabla 12. Sensibilidades y especificidades de la prueba Panbio® derivadas de diferentes puntos de corte en muestra convaleciente

Punto de corte	Sensibilidad	IC 95%	Especificidad	IC95%	Precisión	IC 95%
0,7	94%	88,41 –97,43	45%	39,83 – 50,43	57%	52,46 –61,64
0,8	92%	84,92 -95,55	50%	44,82 – 57,47	60%	55,64 –64,72
0,9	91%	83,79 –94,89	54%	48,98 – 59,58	63%	58,62 –67,56
1,0	89%	81,58 –93,53	57%	51,66 – 62,21	65%	60,23 –69,09
1,1	88%	80,49 –92,83	62%	56,48 – 66,83	68%	63,69 –72,34
1,2	88%	80,49 –92,83	67%	61,66 – 71,69	72%	67,65 –75,99
1,3	85%	77,28 –90,67	70%	65,35 – 77,08	74%	69,76 – 77,9
1,4	83%	75,19 –89,19	74%	69,08 – 78,43	76%	72,12 –80,02
1,5	81%	72,1 - 86,92	77%	71,9 - 80,92	77%	73,54 - 81,28
1,6	79%	71,08 - 86,15	78%	73,48 - 82,3	79%	74,5 - 82,12
1,7	78%	69,06 - 84,59	80%	75,71 - 84,2	80%	75,69 - 83,17
1,8	76%	67,06 - 83,01	82%	76,98 - 85,29	80%	76,17 - 83,58
1,9	74%	65,08 - 81,41	85%	80,86 - 88,49	82%	78,57 - 85,66
2	71%	62,15 –78,98	87%	83,16 - 90,33	83%	79,54 - 86,48

Dado que es donde se encuentra la sensibilidad por encima del 70% y existe una mejor relación entre sensibilidad y especificidad, en la prueba Panbio®, encontrando una precisión del 80%; si se desearía utilizar esta prueba como confirmatoria en la muestra de fase convaleciente se recomienda como punto de corte ideal $\geq 1,8$ a este nivel la sensibilidad fue del 76%, la especificidad del 82%.

8. Discusión

El principal aporte de este trabajo es la descripción de las características operativas de las pruebas diagnósticas para la leptospirosis, siendo el primer estudio a nivel nacional, dando a conocer para nuestro país como se comporta las pruebas ELISA IgM con la certeza que clasifica pacientes enfermos y sanos.

El diagnóstico clínico de la leptospirosis es difícil debido a la diversidad y poca especificidad de los síntomas y signos que presentan los pacientes, los cuales pueden confundirse con otras enfermedades (32). El diagnóstico por laboratorio depende de la variedad de ensayos como la detección de anticuerpos específicos mediante MAT, la cual es considerada el patrón de oro a nivel mundial, recomendado por la OMS en la enfermedad de leptospirosis (11). No obstante, esta técnica tiene limitaciones como la escasa disponibilidad en los laboratorios de la RNL, elevado costo económico y la dificultad para obtener la muestra pareada y no representa utilidad para guiar el manejo clínico temprano de la enfermedad, dado que los títulos de anticuerpos detectados por esta técnica aumentan más tarde que los detectados por otros métodos por tal motivo se tiene establecido dentro de los lineamientos dados por el INS como técnica de tamizaje para la enfermedad de leptospirosis la prueba de ELISA IgM (6).

Se observó que la mayoría de pacientes positivos para la infección en el estudio pertenecían al sexo masculino (83%), correlacionado con lo reportado por la

literatura donde se presentan más casos en hombres que en mujeres (54). En el país, esto ha sido observado en estudios de seroprevalencia, en un estudio realizado en Cali se encontró el 85% de casos en hombres, en otro estudio realizado para determinar el comportamiento de la leptospirosis en el Atlántico el 82% fueron hombres (42). Esta proporción de los casos en hombres puede estar relacionada con exposición asociado con la actividad ocupacional, el contacto con animales y la agricultura (54,55).

Los pacientes donde la leptospirosis fue detectada presentaron edades en un amplio rango (8 a 76 años); sin embargo, se observó una alta proporción de casos en edad productiva; no existe una predisposición de la adquirir la enfermedad con la edad, pero si se ha descrito como un riesgo la edad productiva por el desarrollo de actividades que pueden representar un riesgo (56).

La descripción de los sujetos del estudio mostró que la mayoría de casos (63,7%) ocurrieron en los departamentos de Risaralda, Sucre, Antioquia, Boyacá, Huila y Santander. Estos departamentos participan de manera activa en la vigilancia de la leptospirosis por laboratorio en el país. En el caso del LSP de Antioquia se ha realizado la sensibilización del personal clínico y de la comunidad logrando fortalecer la vigilancia de la leptospirosis, por lo cual, su notificación siempre ha presentado una de las mayores proporciones. Adicionalmente, es importante aclarar que en Colombia existe un subregistro de la notificación debido a las debilidades del

proceso de vigilancia nacional. Este fenómeno ocurre en otros países (36, 54, 65), por lo tanto se necesita mejorar el sistema de vigilancia para poder lograr una mayor comprensión de la verdadera incidencia y patogenicidad de la enfermedad.

Dentro de las variables de síntomas analizadas se encontró estadísticamente significativo las mialgias (OR 1,67 p=0,001). Sin embargo, la presentación clínica de la enfermedad es altamente variable y este síntoma no es patognomónico de la enfermedad, por lo tanto, pueden ocurrir en cualquiera de las patologías febriles icterohemorrágicas como dengue, y rickettsiosis, entre otras, en los cuales las mialgias se pueden presentar del 46 al 77% de los casos (54). A pesar de no ser significativo, se resalta que la ictericia se presentó en el 40,7% de los casos; concordando con lo reportado por Astudillo et al., donde la ictericia ocurrió sólo en un 36% de los casos (45).

En los factores de riesgo analizados no se evidenció significancia estadística, sin embargo, el contacto con perros y gatos presentaron mayor porcentaje que el contacto con otro tipo de animales, al igual, el observar roedores en lugares de trabajo o en el hogar, y el contacto con el aguas estancadas. En países de Centro y Sur América, entre los posibles factores de riesgo descritos están relacionados con las actividades que realizan las personas, se considera que la transmisión está principalmente ligada a actividades ocupacionales de trabajadores de cadena agrícola, veterinarios y ganaderos (56) ; en segunda instancia, está el contacto en

aguas contaminadas (57; 58) y en tercer lugar la transmisión domiciliaria, que se da en personas que presentan convivencia con animales domésticos, silvestres o roedores (59).

La medición de anticuerpos IgM mediante ELISA con las pruebas disponibles en el mercado tiene un valor diagnóstico limitado en la muestra tomada en fase aguda, ya que con los puntos de corte sugeridos por el fabricante, la prueba de Virion/Serion® presenta una sensibilidad de 59%, mientras que la prueba de Panbio® una sensibilidad de 69%. Si bien puede considerarse que los resultados de sensibilidad mayores que 70% son aceptables en una prueba de tamizaje, hay que tener en cuenta que las diferencias entre las dos pruebas no son significativas ya que los intervalos de confianza de las mismas se superponen. En diferentes estudios la sensibilidad de estas pruebas ha sido variable, en los ELISA “*in House*” se reportaron sensibilidades entre el 35 – 97,5% para países como Perú, India, Hawái y Sri Lanka (60,61,62,63); mientras que para la ELISA de Panbio® se han observado diferentes valores de sensibilidad en países como Brasil, Ciudad de Salvador (87,5%), Barbados (70%), EEUU (35%), Laos (60,9%) y Tailandia (90,8%) (61,64,65,66,67). En contraste, no se encuentran diversos reportes de sensibilidad para la prueba Virion, un estudio en EEUU reportó una sensibilidad de 43% para esta prueba (61).

En relación a la especificidad de la pruebas para este estudio se encontraron valores bajos (66% para Panbio® y 70% para Virion-serion®). Esta baja especificidad puede generar una disminución en el hallazgo de los verdaderos negativos, por consiguiente se genera un aumento en los falsos positivos, los cuales posteriormente se confirmarían con la prueba de MAT, por lo tanto estos pacientes no se verán reflejados en el ajuste de los casos. En cuanto a especificidad en los ELISA “*in house*” se reporta buena especificidad entre 79 y 98,7%, a diferencia de los comerciales que reportan más variabilidad entre 55 – 98%.

La sensibilidad y especificidad reportada por ambos fabricantes (Panbio®: S 96,5%, E 98,5% y Virion®: S 97%, E 96%), es diferente a lo encontrado en este estudio, siendo nuestros resultados considerablemente menores en ambos valores. Esto probablemente ocurra por las diferentes características sociodemográficas, ecopidemiológicas y culturales, ya que estas pruebas fueron validadas en Australia y Nueva Zelanda (Panbio®), y en Alemania (Virion®). Los valores de las pruebas puede variar dependiendo de la evolución de la enfermedad, al iniciar la enfermedad, entre los 5 a 10 días los valores pueden ser inferiores que si se realiza a los 15 días del inicio de la enfermedad (11). Sin embargo, estos estudios no especifican el tiempo de evolución de la enfermedad, por lo cual es difícil inferir que se estén viendo afectadas por este parámetro.

Con respecto a los valores predictivos, se conoce que se ven afectados con la

prevalencia de la enfermedad, resultado en un parámetro útil para la toma de decisión clínica; considerando que en Colombia se han descrito prevalencias que oscilan entre 67,9 y 12,5% (68), los valores predictivos negativos encontrados en este estudio demuestran una certeza de un 87% (Panbio®) y 84% (Virion/Serion®) de que los pacientes estarían realmente sanos.

Al realizar las curvas ROC se evidenció que la prueba Panbio tienen un rendimiento diagnóstico cercano al aceptable, debido a que el área bajo la curva es superior a 0,7 (Virion - serion®: 0,696 y Panbio®: 0,726); por lo tanto, es importante tener en cuenta que la ELISA IgM no se debe utilizar como prueba diagnóstica única, su interpretación debe estar acompañada de la evaluación del cuadro clínico y la confirmación, de ser posible, con otras pruebas diagnósticas (11).

Los resultados encontrados en este estudio pueden determinar que las pruebas no cumplen con los parámetros para ser utilizadas como pruebas de tamizaje en fase aguda, debido a que no detectan todos los casos positivos. Sin embargo, la prueba de Panbio, es la que muestra mayor rendimiento operativo, aunque se tendría que considerar disminuir el punto de corte para mejorar la sensibilidad. Esta decisión, puede resultar en la captación de un alto número de falsos positivos que deberán ser descartados con una prueba de mayor sensibilidad y especificidad como la MAT.

En el análisis de la prueba Panbio® el punto de corte correspondiente a 1,0, mostró

una convergencia equilibrada entre la sensibilidad (71%) y la especificidad (62%) con una precisión del 64%; con este punto de corte se incrementa la sensibilidad de 69% (valor con el punto de corte recomendado por el fabricante) a 71%, por consiguiente, se realiza una mejor clasificación de los pacientes falsos negativos. En el caso de utilizar un valor más bajo en el punto de corte, se afecta la especificidad, por lo tanto se aumenta el número de falsos positivos.

En los resultados para la fase convaleciente de la enfermedad se observó un incremento de la sensibilidad con respecto a la fase aguda tanto para Panbio (88%) como para Virion (84%). En contraste, la especificidad disminuyó en ambas pruebas (Panbio 62%, Virion 65%). El cambio en la sensibilidad puede atribuirse a que hay una mayor producción de anticuerpos hacia el día 15 de la enfermedad (11). En cuanto a la disminución de la especificidad podría estar relacionada con la detección de trazas de anticuerpos IgM, los cuales se ha demostrado pueden persistir durante meses después de la infección (11), y ser captados por la Elisa IgM, pero no por la prueba de MAT, donde no se observa el proceso de seroconversión, por consiguiente se clasificarían como casos falsos positivos.

Al observar las curvas ROC de ambas pruebas encontramos que tienen un buen rendimiento para la muestra convaleciente (Panbio® 0,868% y Virion/Serion® 0,831%), debido a que los pacientes falsos positivos encontrados en la fase aguda se clasifican como verdaderos positivos en la fase convaleciente. Sin embargo, debido

a los valores de sensibilidad y especificidad de las dos pruebas, solo se podría recomendar el uso de la prueba de Panbio®, aumentando el punto de corte con el fin de mejorar la precisión global de la prueba. En el punto de corte de 1,8 se obtuvo una sensibilidad de 76%, especificidad de 82% y una precisión del 80%. Los puntos de corte para esta prueba también fueron aumentados en un estudio en Tailandia, donde se estableció un punto de corte ≥ 2 (67).

La prueba de ELISA Panbio® puede ser de utilidad para adelantar el diagnóstico presuntivo y así iniciar el tratamiento de manera oportuna en pacientes en la fase aguda, pero se debe considerar modificar los puntos de corte basándose en lo encontrado en este trabajo, que a pesar de no observar una buena sensibilidad, podría mejorar la discriminación de los casos. Adicionalmente, las muestras de la primera y segunda fase deben ser confirmadas por la prueba de MAT, al igual, se debe diseñar estrategias para superar la dificultad existente de los casos sospechosos que se obtienen del SIVIGILA, ya que no se logran confirmar, porque no se envía la muestra de la fase convaleciente para la prueba confirmatoria.

Es importante resaltar que este trabajo tuvo presente disminuir algunos sesgos previstos:

Sesgo de revisión del diagnóstico o de la prueba: los operadores que procesaron fueron diferentes para las técnicas a realizar (ELISA IgM y MAT) y a su vez

estaban cegados para el resultado de las otras técnicas; una de las limitantes fue que los operadores tenían acceso a la información clínica y categoría del paciente pero esto no interfirió en sus resultados.

Sesgo de verificación diagnóstica: En nuestro estudio el resultado de la prueba no condiciona la realización del patrón de oro. Todos los pacientes fueron evaluados prospectivamente de la misma manera y a todos se les realizaron todas las pruebas en evaluación así como el patrón de oro.

Para este análisis se encontró una limitante y fue el pobre diligenciamiento de los datos en todas las fuentes secundarias usadas, algunas variables no se pudieron analizar debido a que tenían más del 10% de pérdidas en los datos.

9. Conclusiones y recomendaciones

- El estudio mostró que la leptospirosis se presentó más en hombres, asociado a la edad productiva, al igual, se observó más captación de casos en seis departamentos Colombia.
- Respecto a la sintomatología, se observaron los síntomas y signos asociados a la leptospirosis, pero solo se obtuvo un valor significativo para mialgias. En los factores de riesgo establecidos no se evidenció ninguna asociación significativa.
- En el caso de la prueba de ELISA IgM Virion/Serion® se evidenció que no es la prueba ideal en la fase aguda, dado que la sensibilidad encontrada para los diferentes puntos de corte no resulta favorable y limita su uso. Sin embargo, en la fase convaleciente se observó un mejor rendimiento de la prueba aumentando el punto de corte a 27. El hecho de que esta prueba no sea de utilidad en la fase aguda, donde tiene la mayor pertinencia clínica, hace que su uso como prueba de rutina se revalorado.
- La prueba de ELISA IgM Panbio®, aunque obtuvo un mejor rendimiento que la prueba de Virion/Serion®, no presentó valores de sensibilidad aceptables

para ser utilizada como prueba de tamizaje. Sin embargo, para determinar presuntivamente los casos de la leptospirosis se debe cambiar el punto de corte a ≥ 1 , obteniendo así un buen equilibrio en la sensibilidad y especificidad. En la fase convaleciente la prueba obtuvo valores satisfactorios para su uso en el mismo punto de corte que la fase aguda. Teniendo en cuenta estos resultados la prueba de Panbio® resulta la más opcional para ser usada como prueba de tamizaje en Colombia.

- La prueba de Elisa Panbio® puede ser utilizada de manera rutinaria en los laboratorios, por lo cual, se debe emitir una directriz a los laboratorios de la red. Al igual, establecer que todos los casos positivos por esta prueba tienen que ser confirmados por la prueba MAT.
- Como recomendación se deben ejercer medidas de sensibilización al personal encargado del área de la vigilancia en el mejoramiento de la recolección la segunda muestra para la confirmación definitiva de los casos, y de la información, con el fin de disminuir la pérdida de los datos, para así poder realizar mejores análisis a futuro.
- En el presente estudio se observó que la ELISA Panbio® presenta limitaciones para el uso, pues los valores de sensibilidad no son los óptimos, por lo cual se recomienda evaluar otros métodos que permitan el diagnóstico

más certero y preciso en la fase inicial, la cual presenta relevancia clínica. Entre las técnicas más rápidas se podrían implementar la reacción en cadena de la polimerasa, PCR en formato convencional o en tiempo real.

Bibliografía

1. Marta A. Guerra. Leptospirosis: Public health perspectives. *Biologicals* 2013; 41: 295-7.
2. Céspedes M, et al. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente, *Rev. Perú Med Exp Salud Publica* 22(4), 2005.
3. Céspedes M, Tapia R, Balda L, González D, Glenny M, Joseph M. Vinetz J. Brote de leptospirosis asociado a la natación en una fuente de agua subterránea en una zona costera, lima – Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2009; 26(4): 441-48.
4. Musso D, La Scola B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2013; 46:245 – 252.
5. Picardeau M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine et maladies infectieuses* 2013;43: 1–9.
6. Instituto Nacional de Salud –INS- (2010). Protocolo Leptospirosis 2014. disponible en:<http://www.ins.gov.co/lineasdeaccion/SubdireccionVigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Leptospirosis.pdf>.
7. Ben Adler, Alejandro de la Peña Moctezuma. *Leptospira* and leptospirosis.

Veterinary Microbiology 2010; 140: 287–296.

8. Versalovic, Carroll, Funke, Jorgensen, Landry, Warnock. Manual of Clinical Microbiology, 10th edition
9. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ninth edition
10. Bermúdez S, Pulido M, Roy Andrade R. Seroprevalencia de *Leptospira spp* en caninos y humanos de tres barrios de Tunja, Colombia. Rev. MVZ Córdoba 2010;15 (3):2185-2193.
11. OMS, & OPS. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, la vigilancia y el control., 7-123.
12. Costa F, Porter F, Rodriguez G, Farias H, Tucunduva de Faria M, Wunder E, Osikowicz L, Kosoy M, Galvao reis M, Ko A, Childs J. Infections by leptospira interrogans, seoul virus, and Bartonella spp. Among Norway rats (*Rattus norvegicus*) from the urban slum environment in Brazil. Vector.borne and zoonotic diseases. 2014; 14(1): 33 – 40.
13. S.C.Hathaway, D.K. Blackmore. Ecological aspects of the epidemiology of infection with leptospire of the ballum serogroup in the black rat (*rattus rattus*) and the brown rat (*Rattus novegicus*) in New Zealand. J.Hyg., Camb. 1981; 87: 427- 436.

14. Mayer A, Hammerl J, Schmidt S, Ulrich R, Pfeffer M, Woll D, Scholz H, Thomas A, Karsten Nöckler T. *Leptospira spp.* in Rodents and Shrews in Germany. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014; 11: 7562-7574.
15. Matthias MA, Levett PN. Leptospiral carriage by mice and mongooses on the island of Barbados. *West Indian Med J* 2002; 51(1): 10-13.
16. Matthias M, Diaz M, Campos K, Calderon M, Willig M, Pacheco V, Gotuzzo E, Gilman R, Vinetz J. 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; 13(5):964 – 974.
17. L Azócar-Aedo A, HL Smits B, G Montic. Leptospirosis in dogs and cats: epidemiology, clinical disease, zoonotic implications and prevention. *Arch Med Vet* 2014; 46: 337-348.
18. Acosta H, Moreno C, Viágara D. Leptospirosis revisión de tema. *Colombia Médica.* 1994; 25: 36-42.
19. Nájera S, Alvis N, Babilonia D, Ligia Alvarez L, Máttar S. Leptospirosis ocupacional en una región del Caribe colombiano. *Salud pública de México* 2005; 47(3).
20. Turner, L.H., Leptospirosis. *Br Med J*, 1969; 1(5638): 231-5.
21. Gancheva G, Karcheva M. Severe Leptospirosis Observed in a Man Who

- Had Just Returned from Abroad. *Balkan Med J.* 2013; 30: 116-9.
22. Segura E, Ganoza C, Campos K, Ricaldi J, Torres S, Silva H, Céspedes M, Matthias M, Swancutt M, Loópez R, Gotuzzo E, Guerra H, Gilman R, Vinetz J. Clinical Spectrum of Pulmonary Involvement in Leptospirosis in a Region of Endemicity, with Quantification of Leptospiral Burden. *Clin Infect Dis.* 2005; 40(3): 343–351.
23. Kim Nhang Truong and Jenifer Cobur. The emergence of severe pulmonary hemorrhagic leptospirosis: questions to consider. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2012; 1(24): 1 – 6.
24. Albert I. Ko, Goarant C, Picardeau M. *Leptospira*: The Dawn of the Molecular Genetics Era for an Emerging Zoonotic Pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2009; 7(10): 736–747.
25. Carl Vaughan, Cornelius C. Cronin, Elizabeth Kenny Walsh and Michael Whelton. The Jarisch -Herxheimer reaction in leptospirosis. *Postgrad Med J.* 1994; 70:118- 121.
26. Ashford D.A., et al., Asymptomatic infection and risk factors for leptospirosis in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg*, 2000; 63(5-6): 249-54.
27. Bovet P., et al., Factors associated with clinical leptospirosis: a population-based case- control study in the Seychelles (Indian Ocean). *Int J Epidemiol*, 1999; 28(3): 583-90.
28. Bharti A.R., et al., Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance.

Lancet Infect Dis, 2003; 3(12): 757-71.

- 29.OMS. Report of the Second Meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group. 2011: 1 – 34. Disponible en:
- 30.E, Jay M, Deresinski S, Shieh W, Sherif R, Zaki S, Tompkins L, Scott L. Reemerging Leptospirosis. California. Emerg Infect Dis. 2004; 10(3): 406–412.
- 31.Sánchez S, Espinosa D , Ríos C, Berzunza M, Becker I. Leptospirosis in Mexico: Epidemiology and Potential Distribution of Human Cases. PLoS One. 2015; 10(7): 1 – 16.
- 32.Ignacio A. Vado-Solís, María F. Cárdenas-Marrufo, Hugo Laviada-Molina, Francisco Vargas-Puerto, Bertha Jiménez-Delgadillo, Jorge E. Zavala-Velázquez. Estudio de casos clínicos e incidencia de leptospirosis humana en el estado de Yucatán, México durante el período 1998 a 2000. Rev Biomed 2002; 13:157-164.
- 33.Instituto Nacional de Salud Perú. Informe de situacion de la leptospirosis en el Perú 2007. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-/Leptopirosis/InformesituaciondeleptospirosisPer%C3%BA2007.pdf>.
- 34.Vanaporn Wuthiekanun,Nisa Sirisukkarn,Prayad Daengsupa, Prangyong Sakaraserane, Amornwadee Sangkakam, Wirongrong Chierakul, Lee D. Smythe, Meegan L. Symonds, Michael F. Dohnt, Andrew T. Slack, Nicholas P. Day, and Sharon J. Peacock. Clinical Diagnosis and Geographic

- Distribution of Leptospirosis, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. 2007;13(1):124 – 26.
35. Rodriguez B, et. al. Leptospirosis humana: ¿un problema de salud? *Rev. Cubana de Salud Pública*. 2000; 26 (1): 7-34.
36. Ann Florence B Victoriano, Lee D Smythe, Nina Gloriani-Barzaga, Lolita L Cavinta, Takeshi Kasai, Khanchit Limpakarnjanarat, Bee Lee Ong, Gyanendra Gongal, Julie Hall, Caroline Anne Coulombe, Yasutake Yanagihara, Shin-ichi Yoshida and Ben Adler. Leptospirosis in the Asia Pacific region. *BMC Infectious Diseases*. 2009; 9:1-9.
37. Walteros D. Informe final leptospirosis 2013. Instituto Nacional de Salud. 2012; 1-18. Disponible en:
<http://www.ins.gov.co/lineasdeaccion/SubdireccionVigilancia/Informe%20e%20Evento%20Epidemiologico/LEPTOSPIROSIS%202013.pdf>.
38. Agudelo P, Quiroz A, Ángel V.H, Moreno N, Loaiza, Muñoz L.F ,Rodas J. D. Prevalence of *Leptospira* spp. in Urban Rodents from a Groceries Trade Center of Medellin, Colombia. *Am J TropMedHyg*vol. 2009; 81: 906-910
39. Perez-Garcia JA. Hallazgos histopatológicos en necropsias de leptospirosis. Documento del Departamento de Patología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Libre de Barranquilla. 1999.

40. Sebek Z, Sixl W, et al. Serological investigations for leptospirosis in humans in Colombia. *Geogr Med Suppl* 1989; 3: 51-60.
41. Ahmad SN, et al. Laboratory diagnosis of leptospirosis. *J posgrad Med* 2005; 51: 195-200
42. Macías et. al. Comportamiento de la leptospirosis en el departamento del Atlántico (Colombia). *Salud Uninorte*, 2005; 20: 18-29.
43. Segura O, et. al. Brote de leptospirosis humana en Risaralda Colombia, junio de 2006. *IQEN*. 2007; 12(7):100-108.
44. Agudelo P. Et al. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño: Estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. *Cad. Saú de Pública*. 2007; 23(9): 2094-2102.
45. Astudillo M, et. al. Estudio seroepidemiológico de leptospirosis humana en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Revista cubana de medicina tropical* 2009; 61(2):0-0.
46. Laguado et al. Investigación de fiebre de origen desconocido en una localidad colombiana del Caribe. *Colombia Médica*. 2005; 36(4): 254-262.
47. Instituto nacional de Salud. Boletín epidemiológico, hasta la semana epidemiológica numero 29 de 2015. Disponible en :

<http://www.ins.gov.co/boletinepidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2015%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2029.pdf>.

48. Ministerio de Salud y Protección Social. Plan decenal de salud pública, PDSP, 2012 – 2021. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/Plan%20Decenal%20Documento%20en%20consulta%20para%20aprobaci%C3%B3n.pdf>.
49. C. Ochoa Sangrador, G. Orejas. Epidemiología y metodología científica aplicada a la pediatría (IV): Pruebas diagnósticas. An Esp Pediatr. 1999;50:301-314.
50. Begoña B F. Validez de las pruebas diagnósticas. In: Gobierno de Navarra. Departamento de salud, editor. Epidemiología Clínica aplicada a la toma de decisiones en medicina. Pamplona: 2001: 69-108.
51. Fernandez AF, Alonso MJ, Perez V. Métodos de investigación en cardiología clínica. Estudio de la evaluación de las pruebas diagnósticas en cardiología. Puesta al día. 1998.
52. Diamond GA. Clinical epistemology of sensitivity and specificity. J Clin Epidemiol 1992; 45(1):9-13.

53. Lisset Evelyn Fuentes Smith. Metodología para la elección de punto de corte óptimo para dicotomizar covariables continuas. *Rev Cubana Genet Comunit.* 2013;7(3):36-42.
54. I. Chikeka and J. S. Dumler. Neglected bacterial zoonoses. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 404–415
55. David A. Haake and Paul N. Levett. Leptospirosis in Humans. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2015 ; 387: 65–97.
56. Manuel Céspedes Z, Lourdes Balda J, Dana González Q, Rafael Tapia L. Situación de la leptospirosis en el Perú 1994 - 2004. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2006 ; 23(1), 56 - 66.
57. Navarrete J, Moreno M, Rivas B, Velasco O. Leptospirosis prevalence in a population of Yucatan, México. *Journal of Pathogens.* 2010 ; doi: 10.4061/2011/408604. 5 paginas.
58. Velasco O, Rivas B, Sánchez M, Soriano J, Rivera H, Garibay V. Leptospirosis crónica en México: diagnóstico microscópico y evidencias que respaldan su existencia e importancia. *Revista Mexicana de Patología Clínica.* 2009; 56(3):157-167.
59. Schelotto F, Hernández E, González S, Del Monte A, Ifran S. A Ten-Year Follow-Up Of Human Leptospirosis In Uruguay: An Unresolved Health

- Problem. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 2012 ; 54(2):69-75.
60. Céspedes M, Glenny M, Felices V, Balda L, Suárez V. Prueba de Elisa indirecta para la detección de anticuerpos IgM para el diagnóstico de leptospirosis humana. Rev Peru Med Exp Salud Publica 2002; 19 (1): 24-7.
61. Alan J.A. McBridea, Daniel A. Athanazioa, Mitermayer G. Reisa and Albert I. Koa,b. Leptospirosis. Current Opinion in Infectious Diseases. 2005; 18:376–386.
62. Effler PV, Bogard AK, Domes 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.
63. Agampodi SB, Thevanesam V, Senaratne T. Validity of a commercially available IgM ELISA test for diagnosing acute leptospirosis in high endemic districts of Sri Lanka. Sri Lankan Journal of Infectious Diseases. 2014; 4(2):83-9.
64. McBride A, Balbino L. Santos, Queiroz A, Santos A, Hartskeerl R, Reis M, Albert I. Ko. Evaluation of Four Whole-Cell Leptospira-Based Serological Tests for Diagnosis of Urban Leptospirosis. clinical and vaccine immunology. 2007; 1245-8.

65. Paul N. Levett, Songee L. Branch. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assay methods for detection of immunoglobulin m antibodies in acute leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002; 66(6), 2002: 745–8.
66. Stuart D. Blacksell, et al,. Limited diagnostic capacities of two commercial assays for the detection of *Leptospira* immunoglobulin M antibodies in Laos. *Clin Vaccine Immunol.* 2006; 13(10): 1166-9.
67. Varunee Desakorn et al,. Accuracy of a Commercial IgM ELISA for the Diagnosis of Human Leptospirosis in Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012;86(3):524–7.
68. Adriana Pulido-Villamarín , Gustavo Carreño-Beltrán , Marcela Mercado-Reyes , Paola Ramírez-Bulla. Situación epidemiológica de la leptospirosis humana en Centroamérica, Suramérica y el Caribe. Open access. 2014, Vol. 19 (3): 247-264.

Anexos

Anexos I.

Fichas laboratorio de microbiología

 Instituto Nacional de Salud	PROCESO REDES EN SALUD PÚBLICA	Envío de muestras de suero para diagnóstico de eventos febriles. Rickettsias y Leptospira	Página 1 de 1
		REG-R01.001.5030-O32	Versión Nº 01

Fecha de toma de la primera muestra de suero Día Mes Año

Fecha de toma de la segunda muestra de suero Día Mes Año

Fecha del envío de la muestra Día Mes Año

Hospital Municipio

Laboratorio de salud pública remitente

Datos del paciente

Nombre del paciente No de registro

Género Masculino Femenino Edad SD

Diagnóstico clínico

Signos y síntomas del paciente

Datos epidemiológicos

Evolución del paciente Mejoría Muerte

Resultados de las pruebas realizadas

ELISA IgM *Leptospira*

Microaglutinación *Leptospira*

IgM Rickettsia

IgG Rickettsia

Nombre de la persona responsable

Anexo 2.

Definición de Variables por escala y unidad de medición de la fuente de información del Grupo de Microbiología

Variable	Definición	Escala	Unidad de medición
Fecha de toma de la primera muestra	Fecha en que se realiza la primera obtención de la muestra	NA	NA
Fecha de toma de la segunda muestra	Fecha en que se realiza la segunda obtención de la muestra	NA	NA
Fecha del envío de la muestra	Fecha en que se envía la muestra al laboratorio	NA	NA
Hospital	Hospital donde se atiende al paciente	Nominal	Hospitales
Municipio	Municipio donde ocurre el caso	Nominal	Municipio
Laboratorio de Salud Publica	Laboratorio de salud pública que remite la muestra	Nominal	Departamentos
Nombre del paciente	Nombre completo del paciente	NA	NA
Sexo	sexo al que pertenece el paciente	Nominal	1=Masculino. 2=Femenino
Edad	Años de vida que tiene el paciente	Razón	Años
Diagnóstico clínico	Diagnóstico que se le asigna al paciente	Nominal	Diagnósticos referidos
Signos y síntomas del paciente	Signos y síntomas que refiere el paciente	Nominales	Síntomas
Datos epidemiológicos	Algún dato que se considera relevante para la enfermedad	Nominal	Datos epidemiológicos
Evolución del paciente	Estado del paciente al momento de remitir la muestra	Nominal	1=Muerte 2=Mejoría

Anexo 3. Ficha del Sivigila. Evento 455.

SISTEMA NACIONAL DE VIGILANCIA EN SALUD PÚBLICA Subsistema de Información SIVIGILA Ficha de notificación		
Leptospirosis código INS: 455		
RELACION CON DATOS BÁSICOS		FOR-002 0000-014 V-03 AÑO 2014
A. Nombre y apellidos del paciente		B. Tipo de ID* C. N° de identificación
* TIPO DE ID: 1- NO REGISTRO CIVIL 2- TI. TARETA IDENTIDAD 3- CC. CÉDULA CIUDADANA 4- CE. CÉDULA EXTRANJERA 5- PA. PASAPORTE 6- MD. MENOR 2010 7- AD. ADULTO 2010		
5. DATOS CLÍNICOS		
5.1. Hallazgos semiológicos (marque con X los que se presente)		
<input type="checkbox"/> 1. Fiebre	<input type="checkbox"/> 7. Dolor articular	<input type="checkbox"/> 15. Hemopte
<input type="checkbox"/> 2. Mialgias	<input type="checkbox"/> 8. Hiperemia conjuntival	<input type="checkbox"/> 14. Moones
<input type="checkbox"/> 3. Letargo	<input type="checkbox"/> 9. Secreción conjuntival	<input type="checkbox"/> 15. Epistaxis
<input type="checkbox"/> 4. Antraxias	<input type="checkbox"/> 10. Dolor en pantorillas	<input type="checkbox"/> 16. Erupción
<input type="checkbox"/> 5. Vómito	<input type="checkbox"/> 11. Diarrea	<input type="checkbox"/> 17. Herpetaria
<input type="checkbox"/> 6. Neutro	<input type="checkbox"/> 12. Dolor abdominal	<input type="checkbox"/> 18. Prueba de omiquete positiva
		<input type="checkbox"/> 19. Esplenomegala
		<input type="checkbox"/> 20. Signos meníngeos
		<input type="checkbox"/> 21. Dura
		<input type="checkbox"/> 22. Tia
		<input type="checkbox"/> 23. Insuficiencia respiratoria
		<input type="checkbox"/> 24. Hpatomegala
		<input type="checkbox"/> 25. Ictericia
		<input type="checkbox"/> 26. Insuficiencia hepática
		<input type="checkbox"/> 27. Insuficiencia renal
6. ANTECEDENTES VACUNALES		
6. Vacuna de fiebre amarilla	6.1.1 Número de dosis	6.2 Vacuna de hepatitis A
<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No <input type="radio"/> 3. Desconocido		<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No <input type="radio"/> 3. Desconocido
6.3 Vacuna de hepatitis B	6.3.1 Número de dosis	6.4 Vacuna de leptospirosis
<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No <input type="radio"/> 3. Desconocido		<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Desconocido
		6.4.1 Número de dosis
7. ANTECEDENTES ENDEMIOLÓGICOS		
7.1 ¿Hay animales en la casa?	7.2 ¿Contacto con animales enfermos en los últimos 3 meses?	7.3 ¿Ha visto ratas dentro o alrededor de su domicilio?
<input type="radio"/> 1. Perros <input type="radio"/> 4. Equinos <input type="radio"/> 7. Otro	<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No	<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No
<input type="radio"/> 2. Gatos <input type="radio"/> 5. Pordinos	T.11 ¿Cuál otro?	7.4 ¿Ha visto ratas dentro o alrededor de su lugar de trabajo?
<input type="radio"/> 3. Bovinos <input type="radio"/> 6. Ninguno		<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No
7.5 Fuentes de agua	7.6 ¿Alcantarillas destapadas cerca del domicilio o sitio de trabajo?	7.7 ¿Inundaciones en la zona en los últimos 30 días?
<input type="checkbox"/> 1. Acueducto <input type="checkbox"/> 2. Pozo comunitario	<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No	<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No
<input type="checkbox"/> 3. Río <input type="checkbox"/> 4. Tanque de almacenamiento		7.8 ¿Contacto con aguas estancadas durante los últimos 30 días?
7.9 Antecedentes de actividades deportivas, de caza o pesca en los últimos 30 días antes del comienzo de los síntomas en:	7.10 Disposición de residuos sólidos	7.11 Tiempo de almacenamiento de la basura en casa
<input type="radio"/> 1. Represa <input type="radio"/> 2. Río <input type="radio"/> 3. Arroyo	<input type="radio"/> 1. Recolección	<input type="radio"/> 1. 1-3 días <input type="radio"/> 2. 4-7 días
<input type="radio"/> 4. Lago/laguna <input type="radio"/> 5. Sin antecedente	<input type="radio"/> 2. Disposición/indefinición	<input type="radio"/> 3. Más de 7 días
		7.12 ¿Conoce personas con sintomatología similar en la misma vivienda durante los últimos 30 días?
		<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No
8. DATOS DE LABORATORIO		
8.1 Hallazgos del laboratorio	<input type="checkbox"/> 1. Leucocitosis	<input type="checkbox"/> 4. Neutropenia
	<input type="checkbox"/> 2. Leucopenia	<input type="checkbox"/> 5. Linfocitosis
	<input type="checkbox"/> 3. Neutrofilia	<input type="checkbox"/> 6. Trombocitosis
		<input type="checkbox"/> 7. Trombocitopenia
		<input type="checkbox"/> 8. Hemocentración
		<input type="checkbox"/> 9. Alteración de transaminasas
		<input type="checkbox"/> 10. Alteración de bilirrubinas
		<input type="checkbox"/> 11. Alteración de BUN
		<input type="checkbox"/> 12. Alteración de creatinina
		<input type="checkbox"/> 13. CPK elevada
8.2 Diagnósticos diferenciales		
8.2.1 Dengue	8.2.2 Malaria	8.2.3 Hepatitis A
<input type="radio"/> 1. Positivo <input type="radio"/> 2. Negativo <input type="radio"/> 3. No se realizó	<input type="radio"/> 1. Positivo <input type="radio"/> 2. Negativo <input type="radio"/> 3. No se realizó	<input type="radio"/> 1. Positivo <input type="radio"/> 2. Negativo <input type="radio"/> 3. No se realizó
8.2.4 Hepatitis B	8.2.5 Hepatitis C	8.2.6 Fiebre amarilla
<input type="radio"/> 1. Positivo <input type="radio"/> 2. Negativo <input type="radio"/> 3. No se realizó	<input type="radio"/> 1. Positivo <input type="radio"/> 2. Negativo <input type="radio"/> 3. No se realizó	<input type="radio"/> 1. Positivo <input type="radio"/> 2. Negativo <input type="radio"/> 3. No se realizó
8.3 Diagnóstico de leptospirosis		
8.3.1 Tipo de muestra	8.3.2 Destino de la muestra	8.3.2.1 ¿Cuál?
<input type="radio"/> 1. Sangre <input type="radio"/> 2. Suero <input type="radio"/> 3. Otra <input type="radio"/> 4. Tejido <input type="radio"/> 5. Ninguna	<input type="radio"/> 1. INE <input type="radio"/> 2. ICA <input type="radio"/> 3. Laboratorio de salud pública <input type="radio"/> 4. Otro	
8.3.3 Pruebas diagnósticas	8.3.4 Nuestras paradas	8.3.5 Fecha de toma 1ª muestra (dd/mm/aaaa)
<input type="checkbox"/> Cultivo orina/sangre <input type="checkbox"/> 1. Positivo <input type="checkbox"/> 2. Negativo <input type="checkbox"/> 3. Pendiente <input type="checkbox"/> 4. No se realizó	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	
<input type="checkbox"/> Histopatológica <input type="checkbox"/> 1. Positivo <input type="checkbox"/> 2. Negativo <input type="checkbox"/> 3. Pendiente <input type="checkbox"/> 4. No se realizó		8.3.6 Fecha de toma 2ª muestra (dd/mm/aaaa)
<input type="checkbox"/> PCR <input type="checkbox"/> 1. Positivo <input type="checkbox"/> 2. Negativo <input type="checkbox"/> 3. Pendiente <input type="checkbox"/> 4. No se realizó		
<input type="checkbox"/> ELISA <input type="checkbox"/> 1. Positivo <input type="checkbox"/> 2. Negativo <input type="checkbox"/> 3. Pendiente <input type="checkbox"/> 4. No se realizó		
<input type="checkbox"/> Microaglutinación (MAT) <input type="checkbox"/> 1. Positivo <input type="checkbox"/> 2. Negativo <input type="checkbox"/> 3. Pendiente <input type="checkbox"/> 4. No se realizó		
8.3.7 Identificación serogrupos	8.3.8 Títulos de primera muestra	8.3.9 Títulos de segunda muestra
<input type="radio"/> 1. Hardjo <input type="radio"/> 2. Pomona <input type="radio"/> 3. Caricida <input type="radio"/> 4. Icteroantrales		
<input type="radio"/> 5. Grippitypifosa <input type="radio"/> 6. Bratislava <input type="radio"/> 7. Otro	8.3.8 ¿Cuál? _____	
9. TRATAMIENTO		
9.1. ¿El paciente recibió tratamiento antibiótico previa la consulta?	<input type="radio"/> 1. Si <input type="radio"/> 2. No	9.2 ¿Cuál tratamiento antibiótico?
9.3. Tratamiento antibiótico formulado actualmente	9.3.1 Dosis	9.3.2 Tiempo de tratamiento (días)
NOMBRE _____		
cómo sivigila@ins.gov.co ins_sivigila@gmail.com		
0117268243		

Departamento Municipio Código Sub-Indicador

1.4 Evento Código evento

1.5 Tipo de Documento Tarjeta de Identidad Pasaporte Registro civil Muestra de identificación Cédula de ciudadanía Acta de identificación Cédula de extranjería

1.6 Número de Identificación

1.7 Variable global para identificación de registro

1.8 Fecha de toma del suero (dd/mm/aaaa)

1.9 Fecha de la recepción en el laboratorio (dd/mm/aaaa)

1.10 Fecha de resultado (dd/mm/aaaa)

1.11 Valor

1.12 Fecha de toma del suero (dd/mm/aaaa)

1.13 Fecha de la recepción en el laboratorio (dd/mm/aaaa)

1.14 Fecha de resultado (dd/mm/aaaa)

1.15 Valor registrado

Muestra	Prueba	Agente	Resultado
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Muestra	Prueba	Agente	Resultado
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

MUESTRO		Prueba		AGENTE		Agente	
CÓDIGO	PRUEBA	CÓDIGO	PRUEBA	CÓDIGO	AGENTE	CÓDIGO	AGENTE
1	BIOM	01	Anti-Hc Tabale	0	Isotipos	01	typhosa pneumoniae
2	URINA	04	Anti-Hc TM	1	Salmonella	02	Cholerae pneumoniae
3	HEMOCITO	05	Anti-Hc	2	Shigella	03	Agona pneumoniae
4	HEMOCITO	06	HEMOCITO	3	Dengue	04	typhosa pneumoniae
5	HEMOCITO	07	HEMOCITO	4	Chikungunya	05	typhosa pneumoniae
6	HEMOCITO	08	HEMOCITO	5	Chikungunya	06	typhosa pneumoniae
7	HEMOCITO	09	HEMOCITO	6	Chikungunya	07	typhosa pneumoniae
8	HEMOCITO	10	HEMOCITO	7	Chikungunya	08	typhosa pneumoniae
9	HEMOCITO	11	HEMOCITO	8	Chikungunya	09	typhosa pneumoniae
10	HEMOCITO	12	HEMOCITO	9	Chikungunya	10	typhosa pneumoniae
11	HEMOCITO	13	HEMOCITO	10	Chikungunya	11	typhosa pneumoniae
12	HEMOCITO	14	HEMOCITO	11	Chikungunya	12	typhosa pneumoniae
13	HEMOCITO	15	HEMOCITO	12	Chikungunya	13	typhosa pneumoniae
14	HEMOCITO	16	HEMOCITO	13	Chikungunya	14	typhosa pneumoniae
15	HEMOCITO	17	HEMOCITO	14	Chikungunya	15	typhosa pneumoniae
16	HEMOCITO	18	HEMOCITO	15	Chikungunya	16	typhosa pneumoniae
17	HEMOCITO	19	HEMOCITO	16	Chikungunya	17	typhosa pneumoniae
18	HEMOCITO	20	HEMOCITO	17	Chikungunya	18	typhosa pneumoniae
19	HEMOCITO	21	HEMOCITO	18	Chikungunya	19	typhosa pneumoniae
20	HEMOCITO	22	HEMOCITO	19	Chikungunya	20	typhosa pneumoniae
21	HEMOCITO	23	HEMOCITO	20	Chikungunya	21	typhosa pneumoniae
22	HEMOCITO	24	HEMOCITO	21	Chikungunya	22	typhosa pneumoniae
23	HEMOCITO	25	HEMOCITO	22	Chikungunya	23	typhosa pneumoniae
24	HEMOCITO	26	HEMOCITO	23	Chikungunya	24	typhosa pneumoniae
25	HEMOCITO	27	HEMOCITO	24	Chikungunya	25	typhosa pneumoniae
26	HEMOCITO	28	HEMOCITO	25	Chikungunya	26	typhosa pneumoniae
27	HEMOCITO	29	HEMOCITO	26	Chikungunya	27	typhosa pneumoniae
28	HEMOCITO	30	HEMOCITO	27	Chikungunya	28	typhosa pneumoniae
29	HEMOCITO	31	HEMOCITO	28	Chikungunya	29	typhosa pneumoniae
30	HEMOCITO	32	HEMOCITO	29	Chikungunya	30	typhosa pneumoniae
31	HEMOCITO	33	HEMOCITO	30	Chikungunya	31	typhosa pneumoniae
32	HEMOCITO	34	HEMOCITO	31	Chikungunya	32	typhosa pneumoniae
33	HEMOCITO	35	HEMOCITO	32	Chikungunya	33	typhosa pneumoniae
34	HEMOCITO	36	HEMOCITO	33	Chikungunya	34	typhosa pneumoniae
35	HEMOCITO	37	HEMOCITO	34	Chikungunya	35	typhosa pneumoniae
36	HEMOCITO	38	HEMOCITO	35	Chikungunya	36	typhosa pneumoniae
37	HEMOCITO	39	HEMOCITO	36	Chikungunya	37	typhosa pneumoniae
38	HEMOCITO	40	HEMOCITO	37	Chikungunya	38	typhosa pneumoniae
39	HEMOCITO	41	HEMOCITO	38	Chikungunya	39	typhosa pneumoniae
40	HEMOCITO	42	HEMOCITO	39	Chikungunya	40	typhosa pneumoniae
41	HEMOCITO	43	HEMOCITO	40	Chikungunya	41	typhosa pneumoniae
42	HEMOCITO	44	HEMOCITO	41	Chikungunya	42	typhosa pneumoniae
43	HEMOCITO	45	HEMOCITO	42	Chikungunya	43	typhosa pneumoniae
44	HEMOCITO	46	HEMOCITO	43	Chikungunya	44	typhosa pneumoniae
45	HEMOCITO	47	HEMOCITO	44	Chikungunya	45	typhosa pneumoniae
46	HEMOCITO	48	HEMOCITO	45	Chikungunya	46	typhosa pneumoniae
47	HEMOCITO	49	HEMOCITO	46	Chikungunya	47	typhosa pneumoniae
48	HEMOCITO	50	HEMOCITO	47	Chikungunya	48	typhosa pneumoniae
49	HEMOCITO	51	HEMOCITO	48	Chikungunya	49	typhosa pneumoniae
50	HEMOCITO	52	HEMOCITO	49	Chikungunya	50	typhosa pneumoniae
51	HEMOCITO	53	HEMOCITO	50	Chikungunya	51	typhosa pneumoniae
52	HEMOCITO	54	HEMOCITO	51	Chikungunya	52	typhosa pneumoniae
53	HEMOCITO	55	HEMOCITO	52	Chikungunya	53	typhosa pneumoniae
54	HEMOCITO	56	HEMOCITO	53	Chikungunya	54	typhosa pneumoniae
55	HEMOCITO	57	HEMOCITO	54	Chikungunya	55	typhosa pneumoniae
56	HEMOCITO	58	HEMOCITO	55	Chikungunya	56	typhosa pneumoniae
57	HEMOCITO	59	HEMOCITO	56	Chikungunya	57	typhosa pneumoniae
58	HEMOCITO	60	HEMOCITO	57	Chikungunya	58	typhosa pneumoniae
59	HEMOCITO	61	HEMOCITO	58	Chikungunya	59	typhosa pneumoniae
60	HEMOCITO	62	HEMOCITO	59	Chikungunya	60	typhosa pneumoniae
61	HEMOCITO	63	HEMOCITO	60	Chikungunya	61	typhosa pneumoniae
62	HEMOCITO	64	HEMOCITO	61	Chikungunya	62	typhosa pneumoniae
63	HEMOCITO	65	HEMOCITO	62	Chikungunya	63	typhosa pneumoniae
64	HEMOCITO	66	HEMOCITO	63	Chikungunya	64	typhosa pneumoniae
65	HEMOCITO	67	HEMOCITO	64	Chikungunya	65	typhosa pneumoniae
66	HEMOCITO	68	HEMOCITO	65	Chikungunya	66	typhosa pneumoniae
67	HEMOCITO	69	HEMOCITO	66	Chikungunya	67	typhosa pneumoniae
68	HEMOCITO	70	HEMOCITO	67	Chikungunya	68	typhosa pneumoniae
69	HEMOCITO	71	HEMOCITO	68	Chikungunya	69	typhosa pneumoniae
70	HEMOCITO	72	HEMOCITO	69	Chikungunya	70	typhosa pneumoniae
71	HEMOCITO	73	HEMOCITO	70	Chikungunya	71	typhosa pneumoniae
72	HEMOCITO	74	HEMOCITO	71	Chikungunya	72	typhosa pneumoniae
73	HEMOCITO	75	HEMOCITO	72	Chikungunya	73	typhosa pneumoniae
74	HEMOCITO	76	HEMOCITO	73	Chikungunya	74	typhosa pneumoniae
75	HEMOCITO	77	HEMOCITO	74	Chikungunya	75	typhosa pneumoniae
76	HEMOCITO	78	HEMOCITO	75	Chikungunya	76	typhosa pneumoniae
77	HEMOCITO	79	HEMOCITO	76	Chikungunya	77	typhosa pneumoniae
78	HEMOCITO	80	HEMOCITO	77	Chikungunya	78	typhosa pneumoniae
79	HEMOCITO	81	HEMOCITO	78	Chikungunya	79	typhosa pneumoniae
80	HEMOCITO	82	HEMOCITO	79	Chikungunya	80	typhosa pneumoniae
81	HEMOCITO	83	HEMOCITO	80	Chikungunya	81	typhosa pneumoniae
82	HEMOCITO	84	HEMOCITO	81	Chikungunya	82	typhosa pneumoniae
83	HEMOCITO	85	HEMOCITO	82	Chikungunya	83	typhosa pneumoniae
84	HEMOCITO	86	HEMOCITO	83	Chikungunya	84	typhosa pneumoniae
85	HEMOCITO	87	HEMOCITO	84	Chikungunya	85	typhosa pneumoniae
86	HEMOCITO	88	HEMOCITO	85	Chikungunya	86	typhosa pneumoniae
87	HEMOCITO	89	HEMOCITO	86	Chikungunya	87	typhosa pneumoniae
88	HEMOCITO	90	HEMOCITO	87	Chikungunya	88	typhosa pneumoniae
89	HEMOCITO	91	HEMOCITO	88	Chikungunya	89	typhosa pneumoniae
90	HEMOCITO	92	HEMOCITO	89	Chikungunya	90	typhosa pneumoniae
91	HEMOCITO	93	HEMOCITO	90	Chikungunya	91	typhosa pneumoniae
92	HEMOCITO	94	HEMOCITO	91	Chikungunya	92	typhosa pneumoniae
93	HEMOCITO	95	HEMOCITO	92	Chikungunya	93	typhosa pneumoniae
94	HEMOCITO	96	HEMOCITO	93	Chikungunya	94	typhosa pneumoniae
95	HEMOCITO	97	HEMOCITO	94	Chikungunya	95	typhosa pneumoniae
96	HEMOCITO	98	HEMOCITO	95	Chikungunya	96	typhosa pneumoniae
97	HEMOCITO	99	HEMOCITO	96	Chikungunya	97	typhosa pneumoniae
98	HEMOCITO	100	HEMOCITO	97	Chikungunya	98	typhosa pneumoniae
99	HEMOCITO	101	HEMOCITO	98	Chikungunya	99	typhosa pneumoniae
100	HEMOCITO	102	HEMOCITO	99	Chikungunya	100	typhosa pneumoniae

Resultado

1 = Positivo
 2 = Negativo
 3 = No procesado
 4 = Inadecuado
 5 = Usado
 6 = Valor registrado
 7 = Compatible
 9 = Desconocido

Anexo 4. Directorio de SIVIGILA, Leptospirosis

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVIGILA	Versión: 03
		2014 - 02 - 03
	INT-R02.4000-013	Página 200 de 385

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Semana	SEMANA	2	Texto	Semana epidemiológica según calendario vigente Rango.1-53.	SI	
Año	AÑO	4	Texto	Año correspondiente a la Semana Epidemiológica	SI	
Código del prestador de servicios de salud	COD_PRE	10	Texto	Código asignado en el SGSSS a los prestadores de servicios de salud que se hayan registrado en el "Registro Especial de Prestadores de Servicios de Salud" Ejemplo: 52 001 00001	SI	
Código de prestador de servicios de salud - Sub índice	COD_SUB	2	Texto	Código asignado en el SGSSS a los prestadores de servicios de salud que indica sede ó territorio.	SI	
Código Evento	COD_EVE	4	Texto	Código del Evento según CIE X ó Código del Instituto Nacional de Salud.	SI	
Tipo Identificación	TIP_IDE	2	Texto	RC = Registro Civil TI = Tarjeta de identidad. CC = Cédula de ciudadanía CE = Cédula de extranjería. PA = Pasaporte MS = Menor sin identificación. AS = Adulto sin identidad.	SI	
Número Identificación	NUM_IDE	17	Texto	Número del documento señalado.	SI	
Hallazgos semiológicos fiebre	FIEBRE	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	



Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Hallazgos semiológicos Mialgias	MIALGIAS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos cefalea	CEFALEA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos artralgia	ARTRALGIAS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos vómito	VÓMITO	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos náusea	NÁUSEAS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos dolor retrocular	DRETROCULA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos hiperemia conjuntival	HIPEREMIA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos Secreción conjuntival	SECRECIÓN	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos dolor en pantorrillas	DPANTORRIL	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos Diarrea	DIARREA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos dolor abdominal	DABDOMINAL	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos Hemoptisis	HEMOPTISIS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos Melenas	MELENAS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos Epistaxis	EPISTAXIS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos Erupción	BROTE	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos hematuria	HEMATURIA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVIGILA		Versión: 03
				2014 - 02 - 03
		INT-R02.4000-013		Página 202 de 305

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Hallazgos semiológicos Prueba de Torniquete positiva	PTORNIQUFT	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos esplenomegalia	ESPLENOMEG	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos signos meningeos	SMENINGEOS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos disnea	DISNFA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos tos	IOS	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos insuficiencia respiratoria	IRESPIRATO	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos hepatomegalia	HEPATOMEGA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos ictericia	ICTERICIA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos insuficiencia hepática	HEPÁTICA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos semiológicos insuficiencia renal	IRENAL	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Vacuna fiebre amarilla	VACUNA_FA	1	Texto	1 = Si 2 = No 3 = Desconocido	SI	
Número de dosis FA	DOSIS_FA	2	Texto	Texto	NO	
Vacuna Hepatitis A	VAC_HFP_A	1	Texto	1 = Si 2 = No 3 = Desconocido	SI	
Número de dosis HA	DOSIS_HA	2	Texto	Texto	NO	
Vacuna hepatitis B	VAC_HFP_B	1	Texto	1 = Si 2 = No 3 = Desconocido	SI	
Número de dosis HB	DOSIS_HB	2	Texto	Texto	NO	
Vacuna de Leptospirosis (Cuberial)	VAC_LEPTOS	1	Texto	1 = Si 2 = No 3 = Desconocido	SI	

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVIGILA	Versión: 03
			2014 - 02 - 03
		INT-R02.4000-013	Página 203 de 385

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Número de dosis de Leptospirosis	DOSIS_LEPT	2	Texto	Texto	NO	
Hay perros en su casa	PERROS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Hay gatos en su casa	GATOS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Hay bovinos en su casa	BOVINOS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Hay equinos en su casa	EQUINOS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Hay porcinos en su casa	PORCINOS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Ninguno	NINGUNO	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Hay otros animales en su casa	OTROS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Cuales otros animales	CUAL_OTROS	30	Texto	Texto	NO	
Contacto con animales enfermos en los últimos 6 meses	ANI_FNFFRM	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Ha visto ratas dentro o alrededor de su domicilio	RATAS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Ha visto ratas dentro o alrededor de su lugar de trabajo	HAIAS_ALRE	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Fuentes de agua Acueducto	ACUEDUCTO	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Fuentes de agua Pozo Comunitario	POZO	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Fuentes de agua Río	RIO	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Fuentes de agua Tanque de almacenamiento	TANQUE	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	Versión: 03	
		MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVIGILA	
		7/014 - 07 - 013	
		INT-R12.4/00-013	Pagina 204 de 335

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
¿Presencia de alcantarillas destapadas cerca de su domicilio o sitio de trabajo?	ALCAN_DES	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
¿Inundaciones en la zona en los últimos 30 días?	INUNDACION	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
¿Contacto con aguas estancadas en los últimos 30 días?	C_AGU_ESTA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Antecedentes actividades deportivas Represa	REPRESA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Antecedentes actividades deportivas Río	RÍO	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Antecedentes actividades deportivas Arroyo	ARROYO	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Antecedentes actividades deportivas Lago/laguna	LAGOLAGUNA	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Antecedentes actividades deportivas Sin antecedente	SINANTFCFD	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Disposición de residuos sólidos	D_RFS_SDI	1	Texto	1 = Recolección 2 = Disposición peri domiciliaria	SI	
Tiempo de almacenamiento de la basura en casa	T_ALM_BAS	1	Texto	1 = 1-3 días 2 = 4- / días 3 = más de 7 días	SI	
¿Personas con sintomatología similar en la misma vivienda durante los últimos 30 días?	P_SIN_SIMI	1	Texto	1 = Si 2 = No	SI	
Hallazgos de laboratorio. leucocitosis	LEUCOCITOS	1	Texto	1 - Si 2 - No	NO	

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVGILA	Versión: 03
			2014 - 02 - 03
		INT-R02.4000-013	Página 205 de 385

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Hallazgos de laboratorio: leucopenia	LEUCOPENIA	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Neutrofilia	NEUTROFILI	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Neutropenia	NEUTROPENI	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Linfocitosis	LINFOCITOS	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Trombocitosis	TROMBOCITO	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Trombocitopenia	T_CITOPENI	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: hemoconcentración	HEMCCONCEN	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Alteraciones de transaminasas	ATRANSAMIN	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Alteraciones de bilirrubinas	ABILIRRUEI	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Alteraciones en el BUN	ABUN	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: Alteraciones en la creatinina	ACRFATININ	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Hallazgos de laboratorio: CPK elevada	CPK_ELEVAD	1	Textb	1 = Sí 2 = No	NO	
Diagnósticos diferenciales: Dengue	DENGUE	1	Textb	1 = positivo 2 = negativo 3 = no se realizó	NO	
Diagnósticos diferenciales: Malaria	MALARIA	1	Textb	1 = positivo 2 = negativo 3 = no se realizó	NO	

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVIGILA		Versión: 03
				2014-02-03
		INT-R02.4000-013		Página 206 de 385

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Diagnósticos diferenciales: Hepatitis A	HEPATITISA	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = no se realizó	NO	
Diagnósticos diferenciales: Hepatitis B	HEPATITISB	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = no se realizó	NO	
Diagnósticos diferenciales: Hepatitis C	HEPATITISC	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = no se realizó	NO	
Diagnósticos diferenciales: Fiebre amarilla	FAMARILLA	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = no se realizó	NO	
Tipo de Muestra	TIPO_MTRA	1	Texto	1 = Sangre 2 = Suero 3 = Orina 4 = Tejido 5 = ninguna	NO	
Destino de la muestra	DEST_MTRA	1	Texto	1 = INS 2 = ICA 3 = Laboratorio dptal de salud publica 4 = Otro	NO	
Otro cual	CJAL_DESTI	30	Texto	Texto	NO	
Pruebas Diagnósticas: Cultivo de Orina/Sangre	CJL_ORI_SA	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = pendiente 4 = no se realizó	NO	
Pruebas Diagnósticas: Histoquímica	HISTOQJIMI	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = pendiente 4 = no se realizó	NO	
Pruebas Diagnósticas: PCR	PCR	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = pendiente 4 = no se realizó	NO	
Pruebas Diagnósticas: ELISA	ELISA	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = pendiente 4 = no se realizó	NO	
Pruebas Diagnósticas: MAT	MAT	1	Texto	1 = positivo 2 = negativo 3 = pendiente 4 = no se realizó	NO	

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVIGILA	Versión: 03
			2014 - 02 - 03
			Página 207 de 385

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Muestras pareadas	MFAREADAS	1	Texto	1 = Sí 2 = No	NO	
Fecha de toma primera muestra	TT_PRL_MTR	10	Fecha	AAAA-MM-DD (Año-Mes-Día separados por guiones) (Norma ISC 8601, NTC 1034)	NO	
Fecha de toma segunda muestra	TT_SEG_MTR	10	Fecha	AAAA-MM-DD (Año-Mes-Día separados por guiones) (Norma ISC 8601, NTC 1034)	NO	
Identificación serovares Hardjo	HARDJO	1	Texto	1 = Sí 2 = No	NO	
Identificación serovares Pomona	POMONA	1	Texto	1 = Sí 2 = No	NO	
Identificación serovares Canicola	CANICOLA	1	Texto	1 = Sí 2 = No	NO	
Identificación serovares Icterohaemorrhagiae	ICTEROHAEM	1	Texto	1 = Sí 2 = No	NO	
Identificación serovares Grippityphosa	GRIPPOTYPI	1	Texto	1 = Sí 2 = No	NO	
Identificación serovares Bratislava	BRATISLAVA	1	Texto	1 = Sí 2 = No	NO	
Otro cual ?	OTRO_SF_CUAL	30	Texto	Texto	NO	
Títulos primera muestra	TIT_P_MTRA	30	Texto	Texto	NO	
Títulos segunda muestra	TIT_S_MTRA	30	Texto	Texto	NO	
El paciente recibió tratamiento antibiótico previo a la consulta	TTO_PRFVIO	1	Texto	1 = Sí 2 = No	SI	
Cual tratamiento antibiótico	TTO_PR_CUA	30	Texto	Texto	NO	

 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	PROCESO VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA	MANUAL DEL USUARIO SOFTWARE SIVIGILA	Versión: 03
			2014 - 02 - 03
			Página 208 de 385

Leptospirosis (Cod. 455)

NOMBRE LÓGICO	NOMBRE DEL CAMPO	LONG	TIPO	VALORES PERMITIDOS	OBLIG	VALIDACIÓN
Tratamiento antibiótico formulado actualmente Nombre	TTO_ACTUAL	30	Texto	Texto	SI	
Tratamiento antibiótico formulado actualmente Dosis	DOSIS_ANTI	10	Texto	Texto	SI	
Tratamiento antibiótico formulado actualmente Tiempo en tratamiento (días)	TIEMPO_TTO	10	Texto	Texto	SI	
Identificación serovares Otro	OTRO_SEROV	1	Texto	1 = Sí 2 = NO	NO	

Anexo 5

Definición de Variables por escala y unidad de medición de la fuente de información SIVIGILA

Variable	Escala	Unidad de medición
Hallazgos semiológicos (fiebre, mialgias, cefalea, artralgias, vomito, nauseas, dolor retrocular hiperemia conjuntival, secreción conjuntival, dolor en pantorrilla, diarrea, dolor abdominal, hemoptisis, melenas, epistaxis, erupción, hematuria, prueba de torniquete positiva, esplenomegalia, signos meníngeos, disnea, tos, insuficiencia respiratoria, hepatomegalia, ictericia, insuficiencia hepática, insuficiencia renal.	Nominal	Si/No
Hay animales en casa (perro, gato, porcinos, equinos, bovinos, ninguno, otros)	Nominal	SI/NO
Contacto con animales enfermos en los últimos 6 meses,	Nominal	SI/NO
Ha visto ratas dentro o alrededor de su domicilio,	Nominal	SI/NO
Ha visto ratas dentro o alrededor de su lugar de trabajo,	Nominal	SI/NO
Fuentes de agua, (Acueducto, pozo comunitario, rio, tanque de almacenamiento)	Nominal	SI/NO
Presencia de alcantarillas destapadas cerca del domicilio o sitio de trabajo,	Nominal	SI/NO
Inundaciones en las zonas en los últimos 30 días,	Nominal	SI/NO
Contacto con aguas estancadas durante los últimos 30 días,	Nominal	SI/NO
Antecedentes de actividades deportivas,(represa, rio, arroyo, lago/laguna, sin antecedente).	Nominal	SI/NO
Disposición de residuos sólidos,	Nominal	SI/NO
Tiempo de almacenamiento de la basura en casa,	Nominal	1= 1-3 días 2= 4-7 días 3=más de 7 días.
Conoce personas con sintomatología similar en la misma vivienda durante los últimos 30 días.	Nominal	SI/NO

Anexo 6

Definición de Variables por escala y unidad de medición de los resultados obtenidos.

Variable	Escala	Unidad de medición
MAT	Razón	Título
MAT	Nominal	Positivo/Negativo
ELISA IgM Panbio®	Nominal	Positivo/Negativo
ELISA IgM Panbio®	Numérica	Índex
ELISA IgM Virion-serion®	Nominal	Positivo/Negativo
ELISA IgM Virion-serion®	Numérica	Índex

Anexo 7.

Reactivos para la técnica MAT.

- **Preparación del medio EMJH**

El medio de cultivo marca Difco y se compone de dos elementos:

- Un medio base referencia EMJH
- Un suplemento Líquido referencia

Preparación del medio de cultivo líquido:

- Del medio base se pesan 2.3 gramos para 900 ml de agua destilada o ultra-pura.
- Una vez disuelto, se esteriliza a 121 °C y a 15 libras de presión durante 15 minutos.
- Se coloca en prueba de esterilidad a 37 °C durante 24-48 horas.
- Se le agregan 100 ml del suplemento.
- Se homogeniza y se distribuye en tubos tapa rosca de 16 x 150 en cantidad de 9.0 ml por tubo.

Preparación del medio de cultivo semisólido

- Pesar 1.5 de agar
- Del medio base se pesan 2.3 gramos para 900 ml de agua destilada o ultra-pura.
- Disolver por ebullición-
- Esterilizar a 121 °C y a 15 libras de presión durante 15 minutos.
- Se coloca en prueba de esterilidad a 37 °C durante 24-48 horas.
- Se te agregan 100 ml del suplemento.
- Se homogeniza y se distribuye en tubos tapa rosca de 16 x 150 en cantidad de 9.0 ml por tubo.

- *Solución amortiguadora con fosfatos (SAF)*

Na Cl 8.5 g

Na₂ HPO₄ 1 g

KH₂ PO₄ 0.15 g

Agregar 1 litro de agua destilada

Disolver calentando con agitación constante

Retirar del calor cuando la solución este transparente

Autoclavar a 120 C durante 15 min a 15 libras de presión.