



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Factores pronóstico de letalidad por leptospirosis humana severa en Colombia 2011-2013: estudio de base poblacional con datos de vigilancia en salud pública

MD. Fredy Orlando Mendivelso Duarte
Código: 599258

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina,

Bogotá D.C., Colombia

2015

Factores pronóstico de letalidad por leptospirosis humana severa en Colombia 2011-2013: estudio de base poblacional con datos de vigilancia en salud pública

MD. Fredy Orlando Mendivelso Duarte
Código: 599258

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de:
Magíster en Epidemiología Clínica

Director

PhD., MPH, MD Fernando Pio De La Hoz Restrepo

Línea de investigación:

Epidemiología de las enfermedades infecciosas

Grupo de investigación:

Epidemiología y evaluación en salud pública

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina,
Bogotá D.C., Colombia
2015

Dedicatoria

*A mi esposa Milena por todo su amor y apoyo
A mis hijos Juan Antonio y Nicolás Alejandro
porque son la razón y la alegría de nuestras vidas*

Agradecimientos

A todos los docentes de la Maestría en Epidemiología Clínica por la dedicación e interés puesto en nuestro proceso de formación.

Resumen

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, endémica en países de zona tropical y subtropical y considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una enfermedad desatendida y con gran potencial epidémico. Su agente etiológico es una bacteria del género *Leptospira* con más de 200 serovares patógenos para el hombre. Clínicamente se caracteriza por aparición súbita de fiebre, cefalea, artralgias, rash, mialgias y dolor retro ocular. Los síntomas se confunden con otras enfermedades febriles agudas como dengue, fiebre amarilla y malaria. Las formas severas de la enfermedad requieren hospitalización dado que causan complicaciones en órganos como pulmón, hígado y riñón. La confirmación de los casos se realiza por criterios clínicos y de laboratorio, siendo la prueba de Microaglutinación (MAT) el estándar de oro recomendado por la OMS. La mortalidad reportada oscila entre el 5 y 35%, pero no existe claridad acerca del comportamiento de los factores clínicos, epidemiológicos y de laboratorio en el pronóstico de letalidad en formas severas de la enfermedad en Colombia desde la perspectiva de los sistemas de vigilancia rutinaria en salud pública.

Métodos

Se diseñó un estudio caso-cohorte retrospectivo con datos recolectados a partir de la notificación individual de casos de leptospirosis al sistema nacional de vigilancia en Colombia durante los años 2011 a 2013. Se incluyeron pacientes hospitalizados confirmados con MAT en muestras pareadas. Caso fueron los pacientes que fallecieron y los controles no pareados se seleccionaron aleatoriamente de la cohorte de pacientes confirmados por MAT y que no fallecieron durante la hospitalización. Se calculó la asociación de todas variables incluidas en la vigilancia epidemiológica del evento. El desenlace de interés fue letalidad. Los análisis se realizaron mediante el cálculo de medidas de frecuencia y tendencia central. Se calcularon OR crudos y ajustados de Mantel-Haenszel. Se calcularon los IC del 95% así como el valor p en las variables de interés y se consideró significativo cuando $p < 0,05$. Se utilizó una técnica de análisis multivariado o Análisis de Componentes Principales (ACP) para identificar un conjunto de variables relacionadas con el pronóstico de letalidad denominadas componentes principales (factores). Se generaron matrices de correlaciones, análisis de la medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) y la prueba de esfericidad de Bartlett. Se incluyeron en el ACP matrices con valores de $KMO > 0,60$ y Test de Bartlett con valor $p < 0,05$. Seleccionamos el método de extracción de Máxima Verosimilitud, realizamos gráficos de sedimentación y finalmente, se generó la matriz de componentes rotados con el método de rotación: Normalización Varimax con Kaiser (hasta 25 iteraciones). Los datos fueron analizados con el software Stata 13.0. Los OR significativos del análisis bivariado y el set de variables del ACP se incluyeron en el análisis de regresión logística (función logit) para estimar la asociación de variables de interés con letalidad.

Resultados

Un total de 78 pacientes cumplieron criterios para confirmación clínica y por laboratorio de leptospirosis con formas severas (hospitalización). La letalidad se presentó en 16 pacientes (casos) y se seleccionaron aleatoriamente 48 de 62 controles disponibles para un total de 64 pacientes incluidos en el estudio. La media de edad en los casos (45,3 años D.E±18,7) fue mayor que los controles ($p=0,06$). Los hombres se hospitalizaron más (84,3%) y presentaron más letalidad (OR-MH=1,2; IC95% 0,2-7,1). La disnea (OR=5,1 IC95% 1,01-20,3) y la elevación del Nitrógeno Ureico (BUN) (OR=5,1 IC95% 1,3–20,3) estuvieron más asociados con la letalidad. En el 43,8% de los pacientes se identificaron serovares patógenos de la especie *L. Interrogans* la cual está relacionada con las mayores complicaciones de leptospirosis. Los serovares patógenos prevalecen en dos regiones de Colombia: el Urabá Antioqueño y El Magdalena Medio. Con el ACP se seleccionaron las tres primeras componentes con un porcentaje acumulado de variabilidad del 69,9% en pacientes confirmados por MAT. Los análisis de regresión logística mostraron que la **disnea** ajustada por insuficiencia hepática y elevación del BUN es el principal factor pronóstico de letalidad en los datos del sistema de vigilancia.

Conclusión

La leptospirosis es una enfermedad endémica en países de zonas tropicales como Colombia, la presencia de factores pronóstico como disnea a partir de datos de vigilancia rutinaria en salud pública, posibilita generar alertas tempranas para el manejo de pacientes con mayor riesgo de letalidad. La letalidad de la leptospirosis es alta en las formas severas y ocurre con periodos relativamente cortos de evolución clínica

Palabras clave:

Leptospirosis humana, letalidad, factores pronóstico, epidemiología, vigilancia en salud pública, Colombia

Abstract

Introduction

Leptospirosis is an endemic in countries of tropical and subtropical and considered by the World Health Organization (WHO) as a neglected disease with epidemic potential zoonotic disease of worldwide distribution. Its causative agent is a bacterium of the genus *Leptospira* over 200 serovars pathogenic for man. It is characterized by sudden onset of fever, headache, joint pain, rash, myalgia and retro eye pain. The symptoms are confused with other acute febrile diseases such as dengue fever, yellow fever and malaria. Severe forms of the disease require hospitalization because they can cause complications in organs such as lung, liver and kidney. The confirmation of cases is done by clinical and laboratory criteria, being the microscopic agglutination test (MAT) the gold standard recommended by WHO. The reported mortality ranges from 5 to 35%, but there is no clarity about the behavior of clinical factors, epidemiological and laboratory in the prognosis of lethality in severe forms of the disease in Colombia from the perspective of routine surveillance systems in public health.

Methods

A case-cohort retrospective data collected from individual notification of cases of leptospirosis national surveillance system in Colombia during the years 2011 to 2013 study confirmed hospitalized patients with MAT were included in paired samples was designed. Case were the patients who died and non-matched controls were randomly selected from the cohort of patients confirmed by MAT selected and who did not die during hospitalization. the association of all variables in epidemiological surveillance of the event was calculated. The outcome of interest was lethality. Analyses were performed by calculating measures of frequency and central tendency. OR crudes were calculated and adjusted Mantel-Haenszel. the 95% confidence interval and the p value in the variables of interest were calculated and considered significant when $p < 0.05$. Multivariate analysis technique or Principal Component Analysis (PCA) to identify a set of variables related to prognosis lethality called principal components (factors) was used. They were generated correlation matrices, analysis of the extent of sampling adequacy Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) and Bartlett's test of sphericity. They were included in the ACP matrices with KMO values > 0.60 and Bartlett test with $p < 0.05$. Select the extraction method Maximum Likelihood, perform graphics sedimentation and finally, the matrix components rotated with the rotation method was generated: Varimax with Kaiser Normalization (up to 25 iterations). Data were analyzed using Stata 13.0 software. The OR significant bivariate analysis and the set of variables of the ACP were included in the logistic regression analysis (logit function) to estimate the association of variables of interest with lethality.

Results

A total of 78 patients met criteria for clinical and laboratory with severe forms of leptospirosis (hospitalization) confirmation. The fatality occurred in 16 patients (cases) and 48 of 62 randomly selected controls available for a total of 64 patients included in the study. The average age in cases (18.7 ± 45.3 years d.e.) was higher than controls ($p = 0.06$). Men are more hospitalized (84.3%) and had more lethality (OR-MH = 1.2, 95% CI 0.2 to 7.1). Dyspnea (OR = 5.1, 95% CI 1.01 to 20.3) and rising Blood Urea Nitrogen (BUN) (OR = 5.1 95% CI 1.3 to 20.3) were more associated with lethality. In 43.8% of patients serovars pathogens *L. Interrogans* species which is related to the major complications of leptospirosis were identified. Pathogenic serovars prevalent in two regions of Colombia: Antioquia and Magdalena. With the first three components ACP were selected with a cumulative percentage of variability in 69.9% patients confirmed by MAT. The logistic regression analysis showed that the adjusted dyspnea liver failure and elevated BUN is the main prognostic lethality data factor surveillance system.

Conclusion

Leptospirosis is an endemic disease in tropical countries such as Colombia, the presence of prognostic factors such as breathlessness on data from public health surveillance, is possible to generate early alarm for the management of patients with increased risk of lethality. The lethality of leptospirosis is high in severe forms and occurs relatively short periods of clinical evolution

Keywords

Leptospirosis humana, letalidad, factores pronóstico, epidemiología, vigilancia en salud pública, Colombia

Contenido

	Pág.
1. Formulación del problema.....	19
2. Marco teórico.....	21
3. Justificación	32
4. Objetivos.....	35
5. Hipótesis de estudio	36
6. Materiales y métodos	37
7. Análisis estadístico	41
8. Resultados generales	43
9. Discusión	56
10. Consideraciones éticas	64
11. Divulgación.....	65
12. Anexos	67
13. Bibliografía	72

Lista de figuras

Pág.

Figura 1. Tasa de mortalidad por Leptospirosis, Colombia 1998 - 2010.....	25
Figura 2. Historia natural de la leptospirosis humana.....	27
Figura 3. Naturaleza bifásica de la leptospirosis.....	30
Figura 4. Flujograma de la investigación y gestión de los datos	44
Figura 5. Distribución geográfica del número de serovares de leptospira spp identificados, según municipio de procedencia de los casos. Colombia 2011-2013.....	52
Figura 6. Gráfico de sedimentación de componentes en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT	58

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1. Casos de Leptospirosis notificados a los sistemas de salud de algunos países de América.....	22
Tabla 2. Prevalencia de casos y métodos de diagnóstico de leptospirosis reportados en investigaciones en América Latina y el Caribe.....	22
Tabla 3. Total de casos de leptospirosis notificados al sistema nacional de vigilancia en salud pública. Colombia 2007-2011.....	23
Tabla 4. Especies de Leptospira y algunos serovares patógenos	25
Tabla 5. Pruebas diagnósticas de uso frecuente para Leptospirosis	30
Tabla 6. Análisis de datos demográficos en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013.....	43
Tabla 7. Signos y síntomas en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013	45
Tabla 8. Indicadores de oportunidad en el tiempo de consulta y hospitalización en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013.....	46
Tabla 9. Antecedentes epidemiológicos de riesgo en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013	46
Tabla 10. Hallazgos de laboratorio en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013	47
Tabla 11. Tipo y porcentaje de aislamiento de serovares en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013.....	48
Tabla 12. Análisis descriptivos de las variables incluidas en la escala o índice de riesgo en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT	50
Tabla 13. Matriz de correlaciones en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT	51
Tabla 14. Análisis Factorial en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT	52
Tabla 15. Varianza total explicada en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT	55
Tabla 16. Matriz de componentes rotados por el método Varimax, en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT.....	53

Lista de abreviaturas

BUN	Nitrógeno ureico en sangre
CDC	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades
CIE10	Clasificación Internacional de Enfermedades, versión 10
DANE	Departamento Nacional de Estadística
INS	Instituto Nacional de Salud
MAT	Microaglutinación
MSPS	Ministerio de Salud y la Protección Social
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDSP	Plan Decenal de Salud Pública
RIPS	Registro Individual de Prestación de Servicios de Salud
SGGGS	Sistema General de Seguridad Social en Salud

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa de origen bacteriano y de distribución mundial que forma parte de las enfermedades zoonóticas; su agente etiológico es una espiroqueta (Spirochaetes o Spirochaetae) perteneciente al género leptospira de las cuales se han descrito más de 200 serovares patógenos(1) dentro de los que destacan *L. ictero-haemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. pomona*, *L. grippityphosa*, *L. pyrogenes*, *L. javanica*, *L. autumnalis* y *L. Borinca*. Su principal reservorio son los roedores y menos frecuente perros, vacas, equinos y cerdos que pueden padecer la enfermedad y eliminar la bacteria por orina convirtiéndolos en hospederos accidentales. El hombre es un huésped accidental pero no es un diseminador efectivo de la enfermedad debido a que la sobrevivencia de la leptospira en la orina es muy corta, principalmente por su pH(2).

La transmisión a los seres humanos se produce principalmente por contacto con agua o suelos contaminados con la orina de roedores, perros y ganado infectados o que han estado en contacto con la bacteria; por lo que se describen dos formas de transmisión: la directa por el contacto **directo** de un animal o persona con orina contaminada y la **indirecta**, que corresponde al contacto con agua, alimentos o suelo contaminado con la orina que contiene la bacteria(3).

Los cambios fisiopatológicos de la enfermedad se caracterizan por la aparición de los primeros síntomas inespecíficos en un lapso de 4 a 7 días; siendo los signos y síntomas más frecuentes: fiebre, ojos llorosos y enrojecidos, decaimiento, mialgias, astenia, cefalea, náusea y vómito. En las formas severas o complicadas de la enfermedad se pueden presentar ictericia, meningitis, trastornos de coagulación, lesión renal, pulmonar, insuficiencia hepática y muerte(4, 5).

La infección por leptospirosis se ha descrito como una enfermedad inespecífica que tiene múltiples diagnósticos diferenciales y puede pasar desapercibida por los clínicos conllevando a un bajo diagnóstico y sub registro de casos en los países con y sin epidemia(6). Actualmente es clasificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una enfermedad emergente/reemergente y desatendida en muchos países; con potencial epidémico y que se concentra principalmente en regiones tropicales o subtropicales (7-11).

La presentación de casos está relacionada con la presencia de roedores, periodos de lluvia e inundaciones y deficientes condiciones de saneamiento básico, principalmente aspectos relacionados con mala disposición de basuras y consumo o utilización de agua no potable o contaminada. La verdadera situación epidemiológica de la leptospirosis en el mundo no se conoce con exactitud a pesar de que varios países cuentan con la implementación de sistemas de vigilancia epidemiológica de esta enfermedad(12, 13).

La patogénesis es poco conocida, y la toxina bacteriana o factores de virulencia son probablemente responsables de muchas características de la enfermedad donde la forma anictérica (90% casos) es la presentación más frecuente, y su cuadro clínico se asemeja a la gripe u otras enfermedades febriles agudas que generalmente retardan el manejo de la enfermedad (ej. Dengue, FA, Malaria, Hepatitis, Rickettsiosis, Hantavirus)(14)

El síndrome de Weil (5-10% de los casos), representa la forma severa de la enfermedad (ictérica), su cuadro clínico es similar a la sepsis bacteriana y afecta múltiples órganos como riñones, hígado y pulmones causando gran morbilidad y mortalidad por trastornos hemorrágicos. El diagnóstico de la enfermedad se basa en criterios clínicos, epidemiológicos y de laboratorio donde se usan las pruebas de ELISA (sensibilidad 79,2% y especificidad 95%), micro aglutinación - MAT en muestras pareadas que se considera el estándar de oro (sensibilidad 68,8% y especificidad 100%) y PCR (sensibilidad 55% y especificidad 100%)(15, 16)

Comportamiento del evento a nivel mundial y en América

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó en 2006 que la incidencia anual de casos estaba cercana a 500.000 y la mortalidad era del 10%. De acuerdo a la temperatura ambiental se ha estimado que la incidencia anual de la enfermedad es de 0,1 – 1 x 100 mil habitantes en climas templados, 10 – 100 x 100 mil habitantes en climas húmedos tropicales y mayor de 100 x 100 mil habitantes en brotes y grupos de alto riesgo. La Organización Panamericana de la Salud –OPS estima la incidencia de la enfermedad en 5 casos x 100 mil habitantes en América Latina.(8)

Comportamiento del evento en Colombia

En Colombia el primer caso documentado de la enfermedad en humanos se remonta al año de 1968 y el primer brote se presentó en 1995 en la ciudad costera de Barranquilla. La enfermedad fue incluida por el Ministerio de Salud en el decreto 2257 de 1986, el cual reglamenta parcialmente los títulos VII y XI de la Ley 9 de 1979 relacionados con la investigación, prevención y control de las zoonosis en Colombia y que actualmente se encuentra en revisión para su reglamentación. La enfermedad, también fue incluida como evento de notificación obligatoria en el sistema nacional de vigilancia el cual ha permitido sistematizar datos desde el año 2005 en el software del sistema nacional de vigilancia (Sivigila). Los registros de notificación han aumentado de manera progresiva por diversas razones entre las cuales cabe mencionar mayor sospecha de la enfermedad por el personal de salud, disponibilidad de protocolo de vigilancia en salud pública y disponibilidad de pruebas de diagnóstico entre otros elementos y que han llevado a estimar un promedio de 1.980 casos notificados de la enfermedad cada año(17).

El Instituto Nacional de Salud (INS) ha informado un aumento en el número de casos notificados en el sistema nacional de vigilancia SIVIGILA desde el 2008 con 1322 casos y 29 mortalidades por año y en el 2011 hasta el mes de Octubre el reporte de 2187 casos y 37 fallecimientos, describiendo un aumento progresivo en la carga de la enfermedad en el territorio nacional(17). Llama la atención que se ha identificado un aumento progresivo en los casos de mortalidad notificados al sistema de vigilancia y los realizados al DANE, sin que exista un análisis detallado de las circunstancias en que esto ha venido ocurriendo.

Letalidad en leptospirosis

En la actualidad persisten las diferencias en las cifras oficiales de morbilidad y mortalidad por leptospirosis a nivel global; entre otras causas, por los criterios o métodos de diagnóstico para confirmar la enfermedad, la heterogeneidad y no especificidad en las exposiciones, poca claridad en la fisiopatología según la virulencia del serovar implicado así como la variedad en las manifestaciones clínicas de la enfermedad (18). También resulta crítico la coincidencia en la aparición de enfermedades infecciosas de mayor prevalencia tales como: dengue, malaria y otros síndromes febriles agudos en las zonas donde se presentan los casos de leptospirosis(19). Esto causa en los profesionales de la salud baja sospecha de la enfermedad y más aún, poca claridad en identificar los factores pronóstico relacionados con letalidad(20, 21).

En los pocos estudios que abordan factores pronósticos y letalidad por leptospirosis como el realizado por Spichler AS. et al. mediante diseño de casos y controles en Brasil, se menciona la hemorragia pulmonar severa como el detonante de la dificultad respiratoria aguda alcanzando una letalidad superior al 50%(22); sin embargo, los autores aclaran que la distribución de este factor varía entre otras causas, por el serovar implicado en la infección. La insuficiencia renal aguda fue descrita como el segundo factor pronóstico de muerte en ausencia de la disnea. Otros factores pronósticos menos frecuentes mencionados en el mismo estudio son la edad avanzada, oliguria, hiperpotasemia, creatinina sérica anormal, síndrome de dificultad respiratoria aguda hemorragia pulmonar, niveles elevados de bilirrubina, hipotensión, arritmias y problemas de salud mental. Es necesario hacer claridad el estudio fue realizado sobre casos recolectados por muchos años en centros de referencia y no abordados o analizados desde la perspectiva de los sistemas de vigilancia poblacional(23, 24).

Un estudio reciente con 101 pacientes con leptospira realizado por Goswamia et al. en la India menciona que en los resultados del análisis de regresión de Cox para el análisis de supervivencia (25) la aspartato aminotransferasa (HR 1,208, IC del 95%: 1,051 a 1,388) y el número de días sintomático antes del inicio de antibiótico (HR 1,304, IC 95% 1,081-1,574) fueron predictores significativos de letalidad.

La búsqueda de factores pronóstico de letalidad en leptospirosis incluye la investigación en biomarcadores específicos como el Pentraxin-3 (PTX3) el cual es un biomarcador de enfermedad vascular(26). La familia pentraxina incluye la proteína c-reactiva (PCR); Sin embargo, a diferencia de la PCR, el PTX3 se expresa predominantemente en las lesiones ateroscleróticas que involucran macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, o células musculares lisas. En el estudio realizado por Wagenaar et al en 2009 en 52 pacientes con leptospirosis confirmada por laboratorio se encontró asociación significativa del PTX3 con la aparición de formas severas de la enfermedad(27) y con desenlaces fatales (OR 9.5; 95%CI: 2.9-45), al igual que el TP prolongado (OR 1.4, 95% CI: 1.0–1.8)(28). Otros marcadores propuestos para el seguimiento y detección de formas severas de las formas severas de leptospirosis es la Copeptina que es el extremo terminal carboxílico de la pro hormona vasopresina, se secreta por la neurohipófisis con la arginina-vasopresina. La concentración de copeptina parece reflejar estrechamente el nivel de estrés endógeno individual, así como el riesgo de muerte en múltiples trastornos médicos (29, 30)

Estudios en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) como el realizado por Velissaris et al en una serie de 10 pacientes ingresados a UCI en un periodo de cuatro años, mostró que las escalas de predicción de mortalidad de uso frecuente en este servicio como las mediciones

dinámicas del Sequential Organ Failure Assessment score (score SOFA)(31) y mediciones al ingreso como el APACHE-II; no predicen de forma adecuada desenlaces fatales y recomienda la validación de nuevos scores o más específicos para las formas severas de la enfermedad (32). Otros autores mencionan que el APACHE-III predice de forma adecuada la mortalidad en formas severas de leptospirosis en pacientes manejados en UCI(33).

También se han desarrollado modelos específicos para predecir la aparición de una complicación letal en las formas severas de la enfermedad como el síndrome de hemorragia pulmonar, como el propuesto y validado por Marotto et al en Brasil en 2010 con 203 pacientes que fueron hospitalizados en un hospital de referencia durante un periodo de seis años. El modelo presentó cinco factores asociados de forma independiente con la aparición del síndrome pulmonar hemorrágico: potasio sérico elevado (OR=2.6; 95%CI=1.1-5.9), creatinina elevada (OR=1.2; 95%CI=1.1-1.4); taquipnea (OR=1.1; 95%CI=1.1-1.2), shock (OR=69.9; 95%CI=20.1-236.4) y puntaje de Glasgow <15 (OR=7.7; 95%CI = 1.3-23.0). La validación del modelo realizada en un nuevo estudio de cohorte, clasificó correctamente 92% de los pacientes (Kappa= 0.80); sin embargo, es necesario precisar que la sospecha oportuna de la enfermedad conlleva a un manejo inmediato de la condición. La tasa de mortalidad reportada por los autores asociada al síndrome pulmonar hemorrágico fue del 7,9% (34).

Otros signos como la presencia de ictericia y alteraciones del electrocardiograma han sido descritos como factores pronóstico de letalidad en 35 casos confirmados de leptospirosis en Francia(35). La presión media de la arteria pulmonar ($p = 0.007$) como patrón hemodinámico(36), edad mayor de 65 años, antecedentes de alcoholismo, leucocitosis y síndrome de falla orgánica multisistémica también se han asociado como predictores de mortalidad en formas severas(37).

Según lo relacionado en los párrafos anteriores, los factores pronóstico de la letalidad varían según la eco-epidemiología de la enfermedad y el contexto donde son realizados los estudios; motivo por el cual, resulta pertinente analizar las características clínicas y epidemiológicas de la enfermedad que puedan identificar factores asociados a la letalidad en pacientes hospitalizados, desde una perspectiva de análisis diferente y con implicaciones para la práctica de clínica y de salud pública como son los datos captados en los sistemas de vigilancia en salud pública del país, con la intención de explorar la posibilidad de formular alertas tempranas ante la sospecha de letalidad en pacientes hospitalizados.

1. Formulación del problema

1.1. Pregunta de investigación

¿Cuáles son los factores pronóstico de letalidad en leptospirosis humana severa en los casos notificados al sistema de vigilancia en salud pública en Colombia?

1.2. Planteamiento del problema

En Colombia, la mortalidad por leptospirosis humana se ha incrementado durante la última década; según registros oficiales, anualmente mueren en promedio 59 personas por esta causa; sin embargo, se considera que existe un subregistro de la enfermedad dado que en muchas ocasiones los síntomas y signos son confundidos y tratados como otras enfermedades infecciosas febriles agudas(38). En los datos del sistema nacional de vigilancia, la incidencia de casos notificados ha variado en los últimos cinco años pasando de 1,6 a 2,4 casos por 100.000 habitantes, de igual manera, la letalidad reportada se incrementó del 2,0% a 2,4% para el 2012 lo que refleja el incremento de esta condición como problema de salud pública(17).

En nuestro medio, la mayoría de los esfuerzos se orientan a la búsqueda de un diagnóstico etiológico de condiciones endémicas como dengue y malaria, retrasando el manejo específico de la leptospirosis. Dada la gran cantidad de similitudes con otras enfermedades, aún no disponemos de investigaciones en el contexto local que permitan al médico y a los sistemas de vigilancia identificar de forma temprana pacientes que puedan desarrollar complicaciones potencialmente letales (respiratorias y/o hemorrágicas) en las formas severas de la enfermedad y por lo tanto, realizar intervenciones oportunas y garantizar un seguimiento estrecho a grupos considerados de alto riesgo(39). Las investigaciones realizadas a nivel local han priorizado estudios de brote y seroprevalencia(40, 41) dejando al margen estudios sobre manejo clínico y complicaciones en los enfermos; sin embargo, a partir de los escasos datos publicados, se puede evidenciar que más del 70% de los pacientes han requerido de manejo hospitalario lo cual sugiere inicialmente que se trata de formas severas de la condición.

La Leptospirosis humana es considerada por la OMS como una enfermedad huérfana y en esta dirección, nuestro país ha aprobado una serie de normas como la ley 1392 de 2010 que reconoce las enfermedades huérfanas como de especial interés y se

adoptan normas tendientes a garantizar la protección social por parte del estado colombiano a la población que padece de enfermedades huérfanas y sus cuidadores; el decreto 1954 de 2012 que promueve la implementación de un sistema de información para enfermedades huérfanas y más recientemente la resolución 430 de 2013 define el listado oficial para Colombia de enfermedades huérfanas, el cual incluye la Leptospirosis humana(9).

Son varias las situaciones que se consideran problemáticas en el diagnóstico, manejo clínico, vigilancia rutinaria e investigación de los pacientes afectados por Leptospirosis humana en Colombia, las cuales permitirían orientar mejor las acciones de vigilancia(17, 42):

- No se ha determinado con precisión la prevalencia de la enfermedad en Colombia y se estima un sub-diagnóstico importante al igual que baja notificación
- Existe un aumento progresivo de casos de enfermedad reportados al sistema de vigilancia y del número de mortalidades atribuidas a la leptospirosis
- Los médicos no contemplamos regularmente esta patología como diagnóstico diferencial en el estudio de pacientes con síndromes febriles agudos con y sin ictericia
- Se desconoce la distribución geográfica de serovares de mayor virulencia en el país
- Se carece de una guía de práctica clínica para el abordaje de la enfermedad.
- Son escasos los estudios que describen asociación entre exposiciones de riesgo y factores pronóstico de letalidad

2. Marco teórico

2.1 Definición

La Leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial que causa una enfermedad infecciosa aguda cuyo agente etiológico es una Espiroqueta del género *Leptospira* de la cual se han descrito más de 200 serovares patógenos. Su transmisión a los seres humanos se produce principalmente por contacto con agua o suelos contaminados con la orina de roedores, perros y ganado infectados. La OMS define una zoonosis como la transmisión de cualquier enfermedad o infección de animales vertebrados a humanos y viceversa(1, 7, 43, 44).

2.2 Epidemiología

La enfermedad es de distribución mundial, predomina en áreas tropicales y sub-tropicales con moderados y altos índices de lluvia e inundaciones. En países de medianos y bajos ingresos con asentamientos urbanos es frecuente la ocurrencia de brotes de la enfermedad después de inundaciones(41, 45, 46). En los países que mantienen procesos de vigilancia del evento, se considera que la enfermedad es poco reportada entre otras causas por la baja sospecha de la infección en pacientes afectados por síndrome febril agudo; también contribuyen la sintomatología difusa, la autolimitación del cuadro clínico en la mayoría de los pacientes y la falta de estudio microbiológico sistemático en pacientes con manifestaciones clínicas y características epidemiológicas compatibles con la enfermedad. Lo anterior determina en gran parte el bajo número de reportes así como el tratamiento y la implementación de medidas de prevención y educación oportunas(47, 48).

El subregistro de casos informados a los sistemas de vigilancia es una de las debilidades para establecer la carga de enfermedad, pero también las dificultades con el diagnóstico y conocimiento de la enfermedad por parte del personal de salud. Las distintas definiciones de caso en los países, sistemas de vigilancia y utilizadas en investigación, convierten en limitados los esfuerzos a que a través de revisiones de literatura buscan establecer indicadores de referencia sobre carga de enfermedad(49).

A nivel global, no existe consenso real sobre la carga de la enfermedad; sin embargo, la OMS estima que su incidencia es aproximadamente de 0,1 – 1 casos x 100.000 habitantes en climas templados, 10 – 100 x 100.000 en climas húmedos tropicales y más de 100 x

100.000 en brotes y grupos de alto riesgo(7, 18). La OMS estima que la mortalidad por el evento puede ser superior al 10%; sin embargo, los datos publicados en diferentes países de la zona tropical reportan que puede oscilar entre 25 y 50% cuando se complica con la presencia del Síndrome Pulmonar Hemorrágico(50, 51).

En Centroamérica, Suramérica y el Caribe, el aumento de reporte de casos a los sistemas de vigilancia reflejan el creciente impacto de la enfermedad para la salud pública; sin embargo, Brasil es el país de la región con mayor número de casos notificados (Tabla 1).

Tabla 1. Casos de Leptospirosis notificados a los sistemas de salud de algunos países de América

País	Año		
	2009	2010	2011
Brasil	3891	3789	4582
Argentina	75	427	464
Cuba	-	145	286
México	106	317	112
Honduras	105	199	84
Uruguay	42	97	12
Chile	9	5	1

Fuente: Ministerios de Salud de cada país

Un indicador proxy de la carga de la enfermedad en la región ha sido evaluar los resultados de investigaciones realizadas para estimar la prevalencia de la enfermedad; estos resultados muestran amplia variación tanto en la prevalencia como en la prueba diagnóstica usada para la confirmación de casos (Tabla 2)

Tabla 2. Prevalencia de casos y métodos de diagnóstico de leptospirosis reportados en investigaciones en América Latina y el Caribe

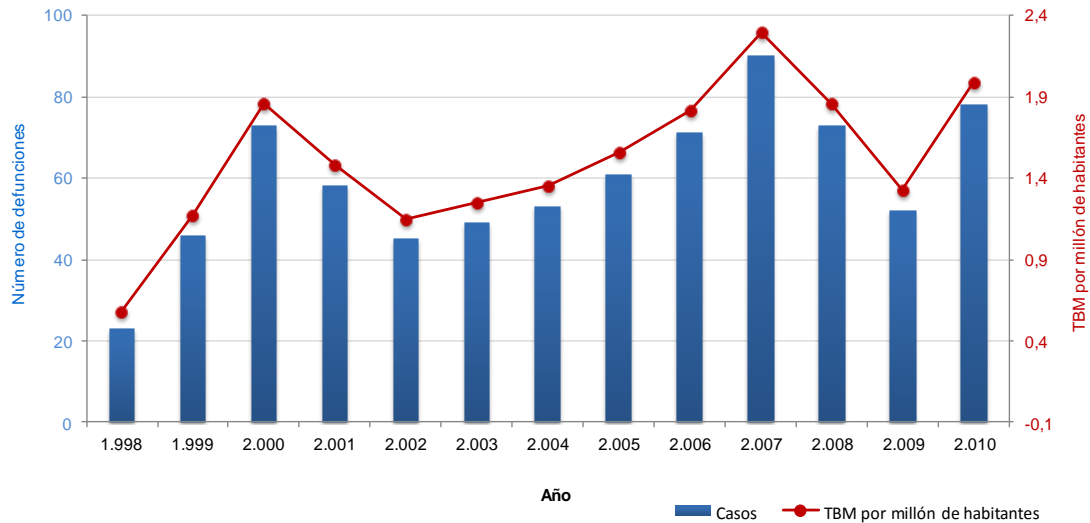
Autor	Año	Caso Sospechoso	Caso Confirmado	Proporción de Casos	Técnica Diagnóstica	País
Vanasco et al.	2008	812	182	22,4%	MAT	Argentina
Veltrini & Langoni	2012	25	2	8%	MAT	Brasil
Rodríguez et al.	2007	293	81	27,6%	MAT	Cuba
Berdasquera et al.	2007	885	61	6,9%	MAT - Hemoaglutinación	Cuba
Liverpool et al.	2008	108	40	37%	MAT Elisa	Guyana
Adesiyun et al.	2011	68	8	11,8%	MAT Elisa	Belice
Céspedes et al.	2009	268	27	10,1%	MAT Elisa	Perú
Rodríguez et al.	2009	292	24	8,2%	PCR MAT	México

Fuente: Pulido-Villamarín A, Carreño-Beltrán G, Mercado-Reyes M, Ramírez-Bulla P. Situación epidemiológica de la leptospirosis humana en Centroamérica, Suramérica y el Caribe. Universitas Scientiarum. 2014; 19:247-64 (referencia 23)

En Colombia, según cifras del Departamento Nacional de Estadística (DANE) la enfermedad ha sido causa directa de muerte a 772 personas (71,4% Hombres) entre los años 1998 y 2010, afectando principalmente a personas con edades entre 16 y 64 años (70,9%), residentes en cabecera municipal (85,8%) y a población pobre no asegurada

(37,8%). La tasa cruda de mortalidad se ha incrementado pasando de 0,5 a 1,95 por cada millón de habitantes (Figura 1)

Figura 1. Tasa de mortalidad por Leptospiriosis, Colombia 1998 - 2010



Fuente: Elaboración propia a partir de los datos de Estadísticas Vitales (Nacimientos y Defunciones) del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) de Colombia. Causa básica de muerte según códigos CIE10 (A270 - A278 - A279).

La notificación de casos al Sistema Nacional de Vigilancia (Sivigila) se ha incrementado entre otras acciones, por la promoción de las acciones de vigilancia que adelanta el Instituto Nacional de Salud (INS); sin embargo, no todos tienen pruebas de laboratorio para la confirmación de los casos a pesar de ser notificados como confirmados. A continuación, se muestra el comportamiento de la notificación en Colombia en los últimos años (Tabla 3)

Tabla 3. Total de casos de leptospirosis notificados al sistema nacional de vigilancia en salud pública. Colombia 2007-2011.

Año	Notificados	Probables	Confirmados*	Porcentaje de confirmación (%)
2007	1.055	307	748	70,9
2008	1.357	592	765	56,3
2009	1.815	827	988	54,4
2010	2.256	1.021	1.235	54,7
2011	2.543	1.397	1.089	42,8
Total	9.026	4.144	4.825	53,4

Fuente: Sivigila, Instituto Nacional de Salud, 2007-2011.

*Notificados como confirmados por clínica y nexa epidemiológico según protocolo de vigilancia del INS

2.3 Microbiología e inmunología

La etimología de la palabra “*leptospira*” se origina de del griego “*leptos*” que significa delgado y del Latin “*spira*” que significa espiral. La *Leptospira* es una bacteria perteneciente al *Phylum Spirochaetes*, orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* del género *Leptospira*. El género *Leptospira* se divide en tres subgrupos: Saprofíticas (6 especies), Patógenas (9 especies) e Indeterminado (6 especies). Filogenéticamente todas pertenecen a un grupo monofilético altamente relacionado. Dentro del subgrupo de *Leptospira* Patógena existen más de 200 serovares y morfológicamente son bacilos móviles Gram negativos, helicoidales, aerobios estrictos que miden 0,1 μm de diámetro y 6 a 12 μm de longitud(2, 39), poseen dos flagelos laterales en el espacio periplásmico que confieren su motilidad y son generalmente curvados en ambos extremos. En medio líquido la *Leptospira* tiene movimientos rápidos y ondulados rotando sobre su propio eje. La *Leptospira* tiene baja resolución al microscopio de luz dado que es más delgada que el espectro de luz visible(52). La *Leptospira* es una bacteria aerobia obligada, se cultiva de forma óptima a temperaturas que oscilan entre 28 – 30 °C y un pH de 7,2 – 7,6. El crecimiento en medio líquido es lento y puede tardar entre 2 y 13 semanas(53).

Aunque es frecuente encontrar referencias a la clasificación de la *Leptospira* por serovares patógenos, se recomienda clasificarla por su grado de relación genética dado que el sistema de serovar no está legitimado taxonómicamente(2); sin embargo, es común referirse a estas como serovares patógenos dada que su identificación presuntiva a través de pruebas serológicas confiere importancia bajo la perspectiva epidemiológica y de salud pública(54). Es necesario hacer claridad en que no siempre la respuesta serológica tiene relación directa con el serotipo infectante responsable de la sintomatología (55). El genoma de la *leptospira* consta de dos cromosomas circulares, el genoma es más grande que el de otras espiroquetas como *Treponema* spp., y *Borrelia* spp., lo cual indica la capacidad de la *leptospira* para vivir en diferentes ambientes (huéspedes animales y medio ambiente)(54). En años recientes se ha incrementado el trabajo de diferentes grupos de investigación encaminados a lograr la secuenciación del genoma de la *leptospira*(56-58) entre cuyos objetivos se destacan: poder identificar marcadores moleculares multilocus que puedan diferenciar especies de *leptospiras* en muestras biológicas humanas sin la necesidad de aislamiento bacteriano; delinear relaciones taxonómicas y filogenéticas entre especies de *leptospiras* proporcionando información sobre la base genética del lipopolisacárido estructura O-antígeno que determinaría el serovar sin necesidad de tipificación serológica y finalmente, poder correlacionar los polimorfismos genéticos y la virulencia de la *leptospira*, proceso clave para pensar en el desarrollo de vacunas(5).

La variedad antigénica del Lipopolisacárido de *Leptospira* permite clasificar la *leptospira* en más de 260 serotipos (54) y más de 65 patógenas (Tabla 4)

Tabla 4. Especies de *Leptospira* y algunos serovares patógenos

SPECIES	SELECTED PATHOGENIC SEROVARS
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Bratislava, Lai
<i>L. noguchii</i>	Panama, Pomona
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum, Hardjo, Javanica
<i>L. santarosai</i>	Bataviae
<i>L. kirschneri</i>	Bim, Bulgarica, Grippytyphosa, Cynopteri
<i>L. weilii</i>	Celledoni, Sarmin
<i>L. alexanderi</i>	Manhao 3
<i>L. alstonii</i>	Sichuan
<i>L. meyeri</i>	Sofia
<i>L. wolffii</i>	Khorat
<i>L. kmetyi</i>	Manilae
<i>L. wolbachii</i>	Nonpathogen
<i>L. biflexa</i>	Nonpathogen
<i>L. vanthielii</i>	Nonpathogen
<i>L. terpstrae</i>	Nonpathogen
<i>L. yanagawae</i>	Nonpathogen
<i>L. idonii</i>	Nonpathogen
<i>L. inadai</i>	Indeterminate
<i>L. fainei</i>	Indeterminate
<i>L. broomii</i>	Indeterminate
<i>L. licerasiae</i>	Indeterminate

Fuente: Haake DA, Levett PN. 241 - *Leptospira* Species (Leptospirosis). In: Blaser JEBDJ, editor. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition). Philadelphia: Content Repository Only; 2015. p. 2714-20.e2

Por otra parte, resultados recientes de la clasificación genética basada en la secuenciación de DNA de la familia *Leptospiraceae* identifica 13 especies genómicas patógenas que son(5, 59):

- *Leptospira interrogans*
- *Leptospira borgpetersenii*
- *Leptospira weilii*
- *Leptospira noguchii*
- *Leptospira santarosai*
- *Leptospira kirschneri*
- *Leptospira alexanderi*
- *Leptospira alstonii*
- *Leptospira fainei*
- *Leptospira inadai*
- *Leptospira licerasiae*
- *Leptospira terpstrae*
- *Leptospira wolffii*.

El sistema de clasificación antigénica (serovar) y el desarrollado más recientemente (genética) coinciden en su uso porque la caracterización genética es posible en sólo unos pocos laboratorios de investigación (policlonal y anticuerpos monoclonales) capaces de definir serovares(53).

2.4 Fisiopatología

La infección ocurre a través del contacto directo o indirecto de las membranas mucosas o abrasiones en piel con agua, tierra o vegetación contaminada con la orina de animales infectados(7). Animales salvajes y domésticos pueden ser reservorio de la leptospira, pero son los roedores los más relacionados con los casos de infección en estudios de brotes e infecciones en humanos. Mamíferos pequeños como el perro y animales de granja como el ganado también pueden ser fuente de infección para los humanos(60, 61). Los animales generalmente se infectan durante sus primeros años de vida, algunos son afectados por la enfermedad y la mayoría excreta la leptospira de manera continua o intermitente durante toda su vida(2).

El contacto directo es la principal forma de infección en trabajadores veterinarios, agrónomos, ganaderos y otros profesionales que tienen relación directa con la atención y cuidado de animales lo cual le concede en eminente riesgo ocupacional (42, 62, 63). El contacto indirecto es más común y es debido a la exposición con agua o tierra contaminada con orina de animales infectados y representa la principal forma de infección en países tropicales. En esta categoría se pueden ubicar las infecciones adquiridas durante actividades de recreación como el turismo de aventura en áreas tropicales endémicas(40, 64-67).

Una vez ingresan al cuerpo, la leptospira es diseminada por todo el torrente sanguíneo causando una vasculitis sistémica responsable del espectro clínico de la enfermedad. Los casos con vasculitis severa (10%) pueden causar hemorragia pulmonar severa(8, 16), isquemia de la corteza renal y necrosis de las células del epitelio tubular renal, ictericia y lesión con o sin necrosis de las células hepáticas. Los mecanismos por los cuales la leptospira causan enfermedad no son bien conocidos pero recientes investigaciones muestran que la leptospira posee varios factores con diferente grado de virulencia entre los que destaca el lipopolisacárido (LPS) principal determinante antigénico de la leptospira, el cual resulta estructural e inmunológicamente similar a la LPS de las bacterias Gram negativas. Dentro del grupo de las lipoproteínas de superficie se destacan: *LipL32*, *Loa22*, *Lig A*, *LigB*, *LigC* y *Len A* que se unen a la proteína del plasminógeno de la célula huésped, que es capaz de convertir plasminógeno a plasmina. (5, 68). La *LipL32* estimula la producción de hemolisinas directamente induciendo procesos de hemólisis que caracterizan las formas severas de la patología. Modelos in vitro han demostrado la presencia de citotoxinas responsables de la infiltración de macrófagos y células polimorfonucleares en el huésped.

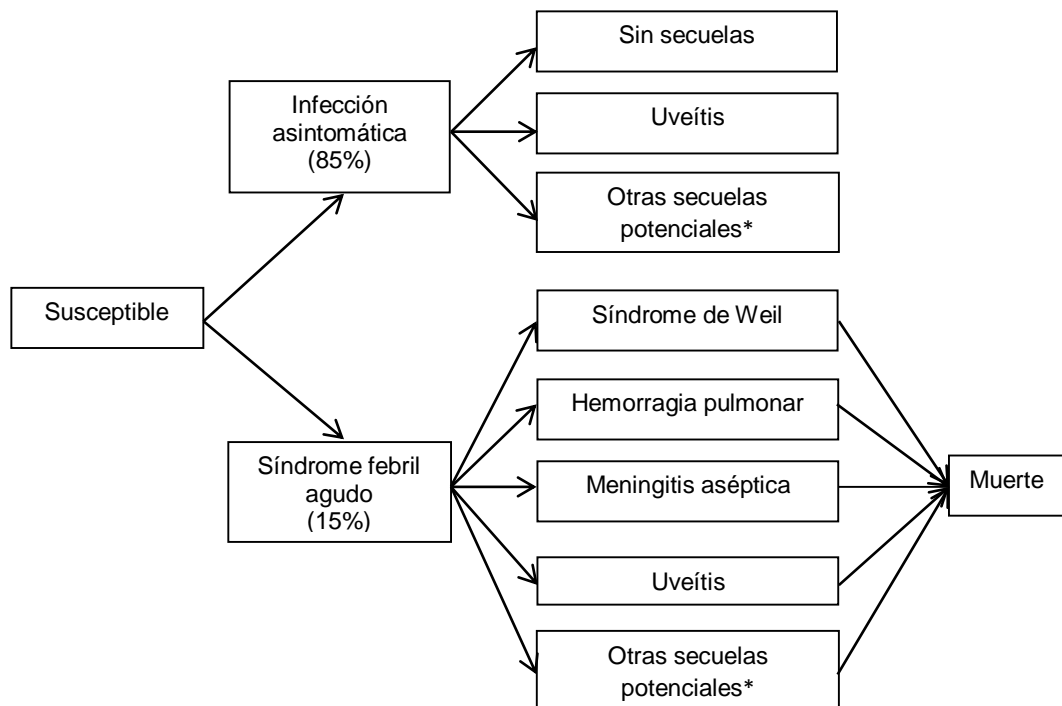
2.5 Manifestaciones clínicas

Existe un rango amplio de manifestaciones clínicas en la infección la cual puede ser asintomática, quedando comprobada únicamente por la seroconversión. Cuando la enfermedad es sintomática, puede causar enfermedad febril anictérica autolimitada (85 a 90% de casos) o manifestarse bajo su forma más severa conocida como síndrome de Weil (5 a 10 % de casos). La OMS con la ayuda de expertos del área clínica, epidemiología y salud pública, ha propuesto un modelo para explicar la historia natural de la enfermedad (Figura 2) destacando la letalidad potencial de las formas severas. El inicio de síntomas es súbito con la aparición de cefalea, fiebre, mialgias, artralgias, inyección conjuntival y en

algunos casos rash. Las formas severas se acompañan de ictericia, insuficiencia renal aguda y trastornos hemorrágicos (forma ictérica de la enfermedad).

Algunas formas severas no se acompañan de ictericia o de la lesión renal aguda pero ocasionan letales neumonitis hemorrágicas. La trombocitopenia constituye un marcador de riesgo para complicaciones de tipo respiratorio.

Figura 2. Historia natural de la leptospirosis humana.



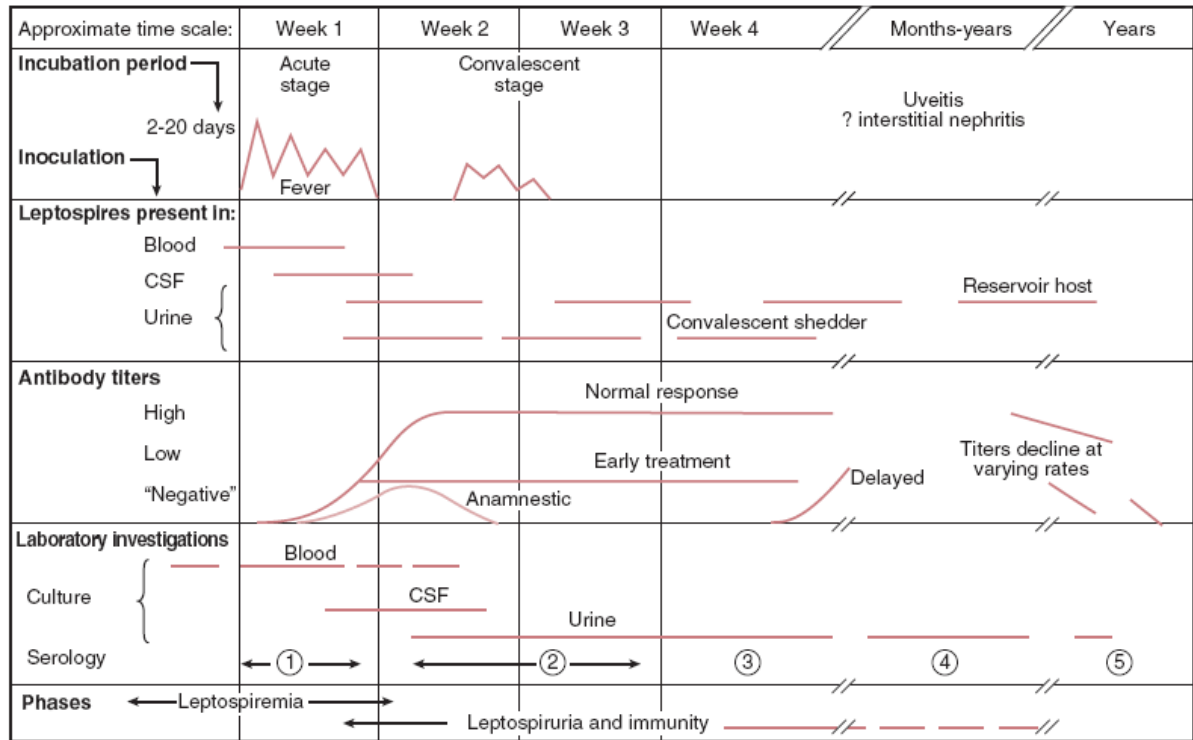
Fuente: Informal Consultation on Global Burden of Leptospirosis: Methods of Assessment. WHO 2006

*Incluye depresión y otras formas de trastorno mental

El periodo estimado de incubación oscila entre 5 a 14 días seguido de la aparición de fiebre alta intermitente (38 a 40 °C) dando inicio a la fase sintomática, dolor de cabeza, mialgias, inyección conjuntival, escalofríos, decaimiento marcado, dolor abdominal, náuseas, vómitos, anorexia, tos, diarrea, disfagia, erupciones maculo-papulares pretibiales y lumbago. Otros signos menos frecuentes en esta fase son la aparición de linfadenopatía, hepatomegalia y esplenomegalia. La fase aguda suele durar de 5 a 7 días. En esta fase las pruebas de laboratorio son inespecíficas pero siguen la presencia de un cuadro infeccioso (Figura 3)(7). Las muestras de laboratorio para el estudio de la enfermedad suelen corresponder a los análisis de serología que se toman en las primeras tres semanas de la fase aguda (numerales 1 y 2 de la figura 3), en la fase de convalecencia es posible identificar la leptospira lo que indica respuesta inmune retardada (numeral 3 de la figura 3). Los análisis que se realizan después de la semana cinco permiten obtener información

sobre los grupos infectantes presuntivos o realizar estudios epidemiológicos de seroprevalencia.

Figura 3. Naturaleza bifásica de la leptospirosis



Fuente: Haake DA, Levett PN. 241 - Leptospira Species (Leptospirosis). In: Blaser JEBDJ, editor. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition). Philadelphia: Content Repository Only; 2015. p. 2714-20.e2.

La fase inmune de la enfermedad que inicia aproximadamente tres semanas después del inicio de síntomas puede acompañarse de la aparición de un síndrome febril agudo con o sin ictericia, insuficiencia renal, arritmias, síntomas pulmonares, meningitis aséptica, inyección conjuntival, hepatoesplenomegalia, mialgias y otras alteraciones (figura 2). Las formas más severas de la enfermedad se denominan enfermedad de Weil, caracterizada por fiebre superior a 40 °C y la rápida aparición de la insuficiencia hepática, insuficiencia renal aguda, neumonitis hemorrágica, arritmia cardíaca y muerte. Los pacientes que evolucionan a formas severas de la enfermedad tienen tasas de mortalidad que oscilan entre el 5% y el 40%(2, 69).

2.6 Factores relacionados con la ocurrencia y complicaciones de la enfermedad

Los factores asociados a la aparición de la enfermedad pueden clasificarse en ambientales, epidemiológicos y ocupacionales, mientras que los asociados a las complicaciones de la enfermedad (pronóstico) suelen ser principalmente clínicos. Dentro de los factores ambientales que favorecen la aparición de la enfermedad están las altas temperaturas características en los países ubicados en la zona tropical, las lluvias

frecuentes, temperaturas superiores a 28 °C y la presencia de estancamientos de agua posterior a inundaciones entre otros. Como factores epidemiológicos de importancia se destaca la presencia de roedores dentro y fuera de la vivienda, caminar descalzo, realizar actividades en ríos, lagunas y otras fuentes de agua potencialmente contaminada con la orina de animales infectados, tener contacto frecuente con residuos o desechos orgánicos e inorgánicos, consumo de agua no potable y por último, tener animales domésticos en la vivienda (perros, gatos, cerdos, conejos, caballos y vacas). Los factores ocupacionales se centran en actividades o profesiones como médicos veterinarios, agrónomos, agricultores y personal que desarrolla acciones de cuidado y atención de animales domésticos y de producción como la ganadería(70).

Finalmente, los factores clínicos descritos en algunas investigaciones como relacionados con la aparición de complicaciones o formas severas de la enfermedad son: edad mayor de 40 años, oliguria, hipercalemia, creatinina sérica >3mg/dl, estertores pulmonares y disnea, hipotensión, arritmias, bilirrubinas elevadas (BD >80 mg/dl), elevación de transaminasas (>200 U/L), trombocitopenia en ausencia de coagulación intravascular diseminada y alteraciones mentales de base(71-73).

2.7 Diagnóstico

La leptospirosis se diagnostica por laboratorio mediante varias alternativas que incluyen la detección de anticuerpos (serología), cultivo de la bacteria en muestras procedentes de orina, sangre o tejidos, inmunofluorescencia y reacción en cadena de la polimerasa. Sin embargo la sensibilidad y especificidad de las pruebas señaladas, la disponibilidad de las mismas y la fase de la enfermedad en que se toman, complejizan el proceso de confirmación diagnóstica (7). La OMS destaca la prueba de aglutinación microscópica (MAT) como el "gold standard" para el diagnóstico serológico de leptospirosis por su alta especificidad en la identificación del serovar en comparación con otras pruebas serológicas entre las que se incluye los ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA)(7). La técnica de MAT creada por Martin y Petit (74), consiste en la microaglutinación con antígenos vivos, requiere enfrentar diluciones sucesivas del suero del paciente a un grupo de serovares seleccionados de leptospirosis, que luego de incubados durante 60 minutos a 37°C son observados en microscopio de campo oscuro.

La respuesta de anticuerpos aparece entre el 5 y 12 día de la enfermedad, y los máximos títulos pueden alcanzarse entre la 3ª y 4ª semanas, siendo muy variables entre cada paciente. El punto de corte de la prueba es el título con la dilución más alta que aglutina el 50% de las leptospirosis con respecto al suero utilizado como control negativo. Si bien constituye la técnica "gold standard", solo puede ser realizada en centros de referencia, con infraestructura adecuada y personal entrenado para la lectura e interpretación de los resultados y mantenimiento de los serovares cultivados como cepario de referencia para el diagnóstico. Los anticuerpos aglutinantes pueden ser IgM e IgG(74). Los pacientes con infección por leptospirosis producen anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con otros serovares especialmente durante la fase aguda de la enfermedad la cual puede ser más fuerte que la causada por el serovar infectante. Los títulos generados por reacción cruzada tienden a disminuir rápidamente mientras que los títulos serovar – específico pueden persistir por periodos más largos, lo cual suele ser un indicativo de la necesidad de tomar una segunda prueba (pareada) para la confirmación diagnóstica.

Entre las principales dificultades en la aplicación de la MAT se destaca que algunos anticuerpos aglutinantes solo reaccionan con determinado serovar y es posible que exista circulación de diferentes y nuevos serotipos en una zona endémica, lo que obliga a los

laboratorios de diagnóstico a mantener actualizados el panel de serovares vivos para ser utilizados como antígenos en la MAT. Cuando se desconocen los patrones de distribución de serovares en determinada región la serología puede dar resultados inexactos o falsos negativos más orientados al sub diagnóstico. La MAT no especifica si la infección es aguda o crónica por lo cual la OMS recomienda realizar una segunda muestra en busca de la sero conversión o aumento de cuatro veces los títulos basales de referencia. Cuando se dispone del resultado de una sola muestra, no existe consenso sobre el punto de corte para establecer como positivo el diagnóstico de leptospirosis (1:100, 1:200, 1:400 ó 1:800)(7), especialmente en zonas endémicas lo cual requiere la conjunción de la epidemiología, factores ambientales y manifestaciones clínicas de la enfermedad. Una reflexión necesaria en el proceso diagnóstico es que cuando no se cuenta dentro del panel con el serovar infectante y el resultado es un título bajo o ningún título no se debe excluir el diagnóstico de leptospirosis, por esta razón se recomienda el uso de una prueba tamizaje como el ELISA para identificar anticuerpos genéricos (leptospiras patógenas y saprofitas) de IgM en la fase temprana de la enfermedad. La OMS recomienda que los resultados de ELISA deban ser confirmados por pruebas pareadas de MAT. Los métodos de diagnóstico poseen diferente grado de sensibilidad y especificidad y es necesario conocer sus ventajas y desventajas para comprender mejor la dificultad que existe en la confirmación de los casos (2, 55, 74). (Tabla 5)

Tabla 5. Pruebas diagnósticas de uso frecuente para Leptospirosis

Prueba	Sensibilidad	Especificidad	Ventaja	Desventaja
Cultivo	5 - 50%	100%	Evidencia definitiva. (Humanos y animales)	Lento y requiere experticia
Microscopía de campo oscuro	10 ⁴ bacterias/ml	Baja	Diagnóstico rápido en fase aguda. (Humanos y animales)	No es fiable, requiere confirmación Requiere un panel de antígenos vivos, difícil (experiencia), laboriosos. Problemas con animales portadores seronegativos.
MAT	90%	>90%	Gold Estándar (Humanos y animales)	Serología, necesita confirmación por MAT
ELISA - IgM	>90%	88%-95%	Costo efectiva y relativamente rápida (1-2 horas)	Serología, necesita confirmación por MAT
Prueba de aglutinación en látex	82%	95%	Fácil, rápido (30 segundos), costo efectiva	Serología, necesita confirmación por MAT
Prueba de flujo lateral	81%	96%	Fácil, rápido (10 min), pinchazo en el dedo para muestra de sangre, costo efectiva	Serología, necesita confirmación por MAT
PCR en tiempo real	100%	93%	Diagnóstico rápido en fase aguda. (Humano y animales).	Pocas pruebas validadas, sofisticado, equipo costoso, requiere experiencia

Fuente: Haake DA, Levett PN. 241 - *Leptospira* Species (Leptospirosis). In: Blaser JEBDJ, editor. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition). Philadelphia: Content Repository Only!; 2015. p. 2714-20.e2.

Otros métodos incluidos en el arsenal diagnóstico de la enfermedad son el cultivo; el cual es relativamente lento en una variedad de medios que requieren temperaturas óptimas de 28 a 30 °C. La PCR permite la amplificación de segmentos específicos de ADN de leptospira y confirmar la enfermedad en fases tempranas antes de que se puedan detectar niveles de anticuerpos; sin embargo, la técnica no está ampliamente disponible en países tropicales y subtropicales. El diagnóstico post-mortem puede realizarse mediante análisis de inmunofluorescencia directa.

2.8 Tratamiento

La OMS recomienda iniciar tratamiento con antibióticos vía oral en casos confirmados menos severos con Doxiclina (2 mg / kg hasta 100 mg cada 12 horas durante 5-7 días), tetraciclina, ampicilina o amoxicilina. Los casos severos requieren manejo hospitalario y formulación de antibióticos como penicilina IV (30 mg / kg hasta 1,2 g IV cada 6 horas durante 5-7 días). Las cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona y cefotaxima) y quinolonas son efectivos contra la espiroqueta. Las complicaciones que acompañan las formas severas de la enfermedad deben ser manejadas por equipos multidisciplinarios con terapia específica de soporte. Medidas de higiene y saneamiento ambiental son primordiales en la prevención de la enfermedad. La Doxiciclina vía oral a dosis de 200mg/semana se recomienda como quimioprofilaxis en personas expuestas a entornos endémicos(75-77).

3. Justificación

La leptospirosis es una enfermedad considerada emergente y con potencial epidémico en países tropicales y subtropicales como el nuestro. Dentro de las situaciones complejas que acompañan esta enfermedad se destacan los problemas asociados al diagnóstico y las múltiples complicaciones que ocurren en las formas severas de la enfermedad(18). También llama la atención la baja especificidad en la presentación clínica de la enfermedad lo cual dificulta la sospecha y en parte condiciona la atención oportuna de los pacientes infectados, quienes pueden recibir atención por otras enfermedades con presentación sindrómica similar en la fase aguda de la infección por leptospirosis(12, 78).

A nivel global, es considerado un reto el abordaje de la enfermedad tanto desde la perspectiva de la salud pública como el manejo clínico de los casos que desarrollan formas severas, no existe consenso sobre la carga verdadera de la enfermedad y la mayoría de las publicaciones han centrado el análisis en la microbiología del agente bacteriano para tratar de entender mejor su virulencia. La disponibilidad de estudios clínicos con grandes cohortes de pacientes que permitan analizar las manifestaciones clínicas de la enfermedad no es lo suficientemente amplia para poder generalizar sobre su evolución y manejo(79).

Diferencias en los entornos ambientales donde se presentan los casos, las circunstancias en que ocurre la infección ya sea por exposición directa o indirecta, así como la gran similitud en las manifestaciones clínicas en fase temprana de otras enfermedades que hacen parte de los síndromes febriles ictericos confieren un reto y a la vez una recomendación dada por expertos internacionales de la OMS para que cada país adelante esfuerzos de investigación en aras de conocer mejor el comportamiento de la enfermedad en su territorio y generar evidencia que pueda resultar útil tanto al conocimiento de la fisiopatología como en la generación de recomendaciones encaminadas para su intervención(7-9, 43).

A pesar de que se han definido algunas condiciones o exposiciones que aumentan el riesgo de desarrollar infección por leptospirosis, aún existen vacíos en el conocimiento científico relacionado con el papel que cumplen desde una perspectiva de salud pública, factores de tipo ambiental, epidemiológico, ocupacional y clínico en la aparición de complicaciones letales en formas severas de la enfermedad(80). Las reflexiones y conclusiones generadas a partir de los datos analizados permitirían la planeación del cuidado de la salud basado en una mejor comprensión del papel e interacción que pueden jugar cada uno de ellos en la ocurrencia y evolución de las formas severas de la enfermedad en Colombia. También permitirá orientar intervenciones focalizadas, y oportunas (alertas tempranas) para prevención y control de las forma severas de la enfermedad notificadas desde y a través de los sistemas de vigilancia en nuestro contexto,

constituyen una alternativa de investigación dada la dificultad para conformar una cohorte de pacientes atendidos en una o varias instituciones de salud que nos permita estudiar los factores pronóstico de letalidad por formas severas de leptospirosis.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Identificar factores pronóstico de letalidad por leptospirosis humana severa (casos hospitalizados) en pacientes notificados al sistema nacional de vigilancia en salud pública de Colombia.

4.2 Objetivos específicos

- Describir las características socio demográficas de los pacientes notificados al sistema nacional de vigilancia y que presentan formas severa de leptospirosis
- Identificar los serovares implicados en las formas severas de la enfermedad y su patrón de distribución geográfica
- Estimar la asociación univariada (cruda y ajustada) de factores demográficos, socio-económicos, ambientales y clínicos con la letalidad en formas severa de leptospirosis
- Realizar un Análisis Factorial Exploratorio (AFE) para identificar un conjunto de variables mínimas relacionadas con el riesgo de letalidad por la enfermedad dentro del conjunto inicial de variables que hacen parte del sistema nacional de vigilancia.
- Calcular los OR de asociación mediante análisis de regresión logística con factores independientes presumiblemente relacionados con el desenlace de letalidad

5. Hipótesis de estudio

Con el propósito de evaluar asociación o independencia entre variables dependientes e independientes se establecieron las siguientes hipótesis de estudio:

- Ho (Hipótesis nula): la letalidad por leptospirosis severa es independiente de la presencia de disnea

En otros términos se podría expresar que los OR para letalidad por leptospirosis severa en presencia de disnea son iguales a 1.

- Ha (Hipótesis alterna): la letalidad por leptospirosis severa está asociada con la presencia de disnea

En otros términos se podría expresar que los OR para letalidad por leptospirosis severa en presencia de disnea son diferentes a 1.

6. Materiales y métodos

6.1 Tipo de estudio

Diseño caso-cohorte retrospectivo

6.2 Población de estudio

El universo de estudio lo constituyeron la totalidad de registros de notificación individual de casos (probables y confirmados) de leptospirosis humana (evento código INS 455 dentro del sistema nacional de vigilancia, el cual cuenta con ficha individual de datos básicos y complementarios) correspondientes al periodo 2011 - 2013.

6.3 Definición de caso

Paciente notificado al sistema nacional de vigilancia, cualquier edad, con **cuadro clínico compatible y manejo hospitalario y confirmación por laboratorio** en la Red Nacional de Laboratorios del INS **mediante MAT en muestras pareadas y que fallece** durante su estancia hospitalaria por cualquiera de las siguientes complicaciones registradas como causa básica en su certificado de defunción: insuficiencia renal, insuficiencia hepática, insuficiencia respiratoria o trastorno hemorrágico. Se considera caso confirmado por laboratorio la seroconversión en muestras pareadas mediante microaglutinación (MAT) o títulos de MAT iguales o mayores a 1:400 en la primera muestra en los casos fatales (Ver Anexo 1 para conocer la definición de enfermedad por leptospirosis dentro del protocolo de vigilancia de Colombia).

Definición corta del Caso: paciente confirmado (MAT) con infección por leptospirosis que fallece durante su hospitalización

6.4 Definición de control

Paciente notificado al sistema nacional de vigilancia, cualquier edad, con **cuadro clínico compatible y con manejo hospitalario y confirmación por laboratorio** de infección por leptospirosis en la Red Nacional de Laboratorios del INS mediante **MAT en muestras pareadas y que no fallece** durante su estancia hospitalaria. Los controles se seleccionaron mediante muestreo aleatorio simple del total de pacientes que fueron sobrevivientes durante su hospitalización en el periodo total del estudio (2011-2013).

Definición corta del Control: paciente confirmado (MAT) con infección por leptospirosis que no fallecen durante su hospitalización

6.5 Criterios de inclusión

- Disponibilidad de resultados de laboratorio de MAT en muestras pareadas
- Pacientes hospitalizados
- Diligenciamiento de más del 90% de las variables incluidas en la ficha de notificación individual

6.6 Criterios de exclusión

- Pacientes donde no se pudo excluir la presencia de otra infección que pudiera también haber causado la muerte del paciente, especialmente síndromes febriles ictericos como: Dengue, Malaria, Fiebre amarilla, Hepatitis o Rickettsia que son verificables en el sistema de vigilancia y la Red Nacional de Laboratorios.

6.7 Fuentes de información

La selección de la fuente de información se basó en el interés de abordar el problema desde la perspectiva de la salud pública, para poder dar certeza de la toma y procesamiento de las muestras pareadas de MAT en los pacientes con el espectro clínico de la enfermedad y posteriormente, recomendar acciones encaminadas a la generación de alertas tempranas una vez son identificados los pacientes desde o a través de la vigilancia de casos.

Se planteó la posibilidad de realizar el estudio en un escenario netamente clínico pero no se logró identificar una o varias instituciones que brindaran la posibilidad de encontrar resultados de pruebas pareadas de MAT y un número suficiente de casos para analizar factores pronóstico. Dicha dificultad se planteó mediante metodología de consenso de expertos nacionales (INS, ACIN, MSPS, Universidad de Antioquia) e internacionales (Fio Cruz, CDC) y se acogió la recomendación de mantener la perspectiva de salud pública y de vigilancia epidemiológica en el estudio.

Utilizamos las bases de datos oficiales de vigilancia epidemiológica del evento leptospirosis humana código INS 455 de la dirección de vigilancia y análisis del riesgo en salud pública y de la red nacional de laboratorios del INS. También consultamos bases de datos de vigilancia y laboratorio para otros eventos que hacen parte de las patologías que conforman el síndrome febril icterico y que son objeto de vigilancia en salud pública con el propósito de determinar la presencia de comorbilidad en los pacientes notificados por leptospirosis (Dengue código INS: 210, Dengue grave código INS: 220, mortalidad por dengue código INS: 580, Fiebre amarilla código INS: 310, Hepatitis B, Hepatitis C y co-infección/supra-infección Hepatitis B-Delta - código: INS 340 y Malaria código INS 465). También se consultaron bases de datos de la red nacional de laboratorios con solicitud de procesamiento de muestras para estudio de leptospirosis humana (MAT – ELISA) que no cuentan con ficha de notificación del evento. Todos los casos de mortalidad se validaron en

la plataforma RUAF-ND del MSPS verificando concordancia en el registro de datos de identificación así como la muerte por leptospirosis reportada como causa básica.

6.8 Tamaño de muestra

Se calculó un tamaño de muestra inicial con la función StatCalc del software Epi Info 7.0 con los siguientes parámetros:

Parámetros	Casos	Controles	Total
IC95% a dos colas	95%		
Poder	80%		
Razón de controles por caso	3		
Porcentaje de controles expuestos (disnea)	21	61	82
OR	5		
Porcentaje de casos con exposición	51%		

Sin embargo; la baja incidencia de la enfermedad y la necesidad de incorporar la toma de la MAT en la confirmación diagnóstica, el número de casos confirmados durante tres años de análisis de datos fue apenas de 16 pacientes, lejos de los requeridos en el cálculo del tamaño de muestra, por tal razón, se trabajó con un tamaño de muestra no probabilístico, es decir, con el universo de datos captados por el Sistema Nacional de Vigilancia de la Leptospirosis en Colombia para el periodo 2011 – 2013 que cumplían con definición de caso y control. En este estudio se trabajó con muestras incidentales (Se denomina muestra incidental a aquella que se emplea porque está a disposición del investigador en un momento determinado) lo que limita la posibilidad de generalizar los resultados de nuestro estudio. En este tipo de muestreo la “representatividad” la determina el investigador de modo subjetivo, siendo este el mayor inconveniente del método ya que no podemos cuantificar la representatividad de la muestra. A pesar de esto, consideramos que la muestra seleccionada provee información útil para responder la pregunta e hipótesis planteada. (81)

6.9 Muestreo

Muestreo no probabilístico con inclusión secuencial de casos ($C_a=16$). Para buscar mayor eficiencia en el diseño se asignó para cada caso tres controles no pareados. La selección de los controles disponibles se realizó con muestreo aleatorio simple hasta completar tres controles para cada caso ($C_o=48$).

6.10 Preparación de la base de datos

Las variables de interés fueron consultadas, recolectadas y migradas a un archivo de hojas de Excel desde las bases oficiales del sistema nacional de vigilancia y la red nacional de laboratorios del INS. Una copia del archivo de trabajo se realizó cada semana durante la ejecución del estudio y mediante un diario de campo se registraron la totalidad de ajustes

que se hacían en el proceso de depuración de información. La administración de la base de datos así como la confidencialidad de los mismos estuvo bajo el resguardo del investigador principal y contó con la autorización formal de los directores de vigilancia y análisis de riesgo en salud pública, así como del director de la red nacional de laboratorios del INS.

6.11 Creación de variables

Las variables de interés para el estudio se presentan en el Anexo 2 con su nombre, operación descriptiva, nombre del campo en la base de datos, naturaleza de la variable, nivel de medición, definición operativa y valores permitidos. Las categorías incluyen variables de tipo socio demográfico, epidemiológico, clínico, laboratorio clínico y condición final. El instrumento de recolección de las variables tomo como referencia la definición operativa de las variables establecidas en la ficha de notificación del evento Leptospirosis del INS de los años 2011 a 2013.

6.12 Estrategia de búsqueda de literatura

La metodología llevada a cabo para identificar literatura actual y relevante relacionada con la patología se basó en una revisión en bases de datos de ScienceDirect, Pubmed, Lilacs, Embase, Scielo, BVS Colombia, OvidSP y Cochrane Library con la siguiente estrategia de búsqueda:

```
("leptospirosis"[MeSH Terms] OR "leptospirosis"[All Fields]) AND ("risk factors"[MeSH Terms] OR ("risk"[All Fields] AND "factors"[All Fields]) OR "risk factors"[All Fields]) AND ("epidemiology"[Subheading] OR "epidemiology"[All Fields] OR "surveillance"[All Fields] OR "epidemiology"[MeSH Terms] OR "surveillance"[All Fields]) AND ("mortality"[Subheading] OR "mortality"[All Fields] OR "mortality"[MeSH Terms]) AND "humans"[MeSH Terms].
```

```
("predictive"[All Fields] AND ("mortality"[Subheading] OR "mortality"[All Fields] OR "mortality"[MeSH Terms]) AND ("leptospirosis"[MeSH Terms] OR "leptospirosis"[All Fields])
```

La estrategia permitió identificar un número importante de artículos revisados e integrados a las referencias de la investigación. Como fuentes de datos secundarias y literatura gris fueron consultadas paginas oficiales de los Ministerios de Salud de los países Latino Americanos, boletines epidemiológicos e informes consolidados de vigilancia de los institutos nacionales de salud de la región.

7. Análisis estadístico

7.1 Medidas de frecuencia y tendencia central

El análisis de las variables cualitativas (factores demográficos, epidemiológicos y clínicos) se realizó mediante distribuciones de frecuencias absolutas y relativas expresadas en porcentajes. Las variables cuantitativas (edad y estancia hospitalaria) se analizaron con medidas de tendencia central (promedio y mediana) y medidas de dispersión (rango y desviación estándar). Mediante el análisis bivariado se evaluó la asociación de variables cualitativas demográficas, epidemiológicas y clínicas con los casos de letalidad con la prueba asintótica de asociación Ji-Cuadrado con corrección por continuidad de Yates o el test de razón de verosimilitud.

En las variables cuantitativas que cumplieron el supuesto de normalidad, se utilizó la prueba T-Student o análisis de varianza (ANOVA, más de dos grupos) para muestras independientes; se evaluó previamente la normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilk; la homogeneidad de varianzas con el Test de Levene. En caso de no cumplirse los supuestos de normalidad se utilizó la prueba no-paramétrica asintótica de Mann Whitney o ANOVA no-paramétrico de Kruskall-Wallis. Los datos fueron analizados con el software Stata 13.0.

7.2 Calculo de los OR

Se calcularon los Odds Ratio (OR) como estimador de la asociación entre variables independientes (signos y síntomas, antecedentes epidemiológicos y hallazgos de laboratorio) y los casos de letalidad por leptospirosis. Se calcularon los OR ajustados de Mantel-Haenszel para cada variable independiente, tomando como variable de ajuste el área de residencia de los pacientes dada la mayor incidencia reportada en la literatura de casos procedentes en áreas urbanas. Las pruebas estadísticas se evaluaron a un nivel de significancia de $p < 0.05$ y se calcularon los IC del 95%.

7.3 Análisis de componentes principales

Se utilizó una técnica de análisis multivariado o Análisis de Componentes Principales (ACP) con el objetivo de transformar el conjunto de variables originales recolectadas en la notificación rutinaria de leptospirosis, en un nuevo conjunto de variables (sin perder información) relacionadas teóricamente con el riesgo de letalidad y obtener una combinación lineal de las originales incorrelacionadas entre sí, que expliquen la mayor parte de la varianza total, denominadas componentes principales (factores).

Se realizó el análisis descriptivo, generamos matrices de correlaciones, análisis de la medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) y la prueba de esfericidad de Bartlett. Se incluyeron en el ACP matrices con valores de KMO > 0,60 y Test de Bartlett con valor $p < 0,05$. Seleccionamos el método de extracción de Máxima Verosimilitud, realizamos gráficos de sedimentación y finalmente, se generó la matriz de componentes rotados con el método de rotación: Normalización Varimax con Kaiser (hasta 25 iteraciones).

7.4 Análisis de regresión logística

Se construyeron modelos de regresión logística para estimar los OR de letalidad mediante la función logit (modelo de regresión logística binaria) considerando “disnea” la variable independiente de mayor interés:

$$\text{Logit} [\text{pr} (Y=1)] = \log_e [\text{odds} (Y=1)] = \log_e \left[\frac{\text{pr}(Y=1)}{1-\text{pr}(Y=1)} \right]$$

$$\text{Logit} [\text{pr} (Y=1)] = \beta_0 + \beta_1(\text{dyspnea status})$$

Se calcula el “modelo full” integrando las variables cuyo OR ajustado sea significativo en el análisis univariado junto a otras que no resulten significativas pero se reporten en la literatura como factor predictor y se siguieran desde el ACP. No se incluirán variables de exposiciones eco-epidemiológicas porque están más relacionadas con la adquisición de la enfermedad y no con letalidad por lo que se prefiere el set de variables de signos, síntomas y resultados de laboratorio.

Se generan variables de interacción entre la variable de interés (disnea) y el resto del set de variables independientes incluidas en la etapa inicial del modelo con el propósito de considerar o ajustar por el efecto de otros potenciales predictores.

La interacción del “modelo full” con cada modelo reducido que contengan las variables de interacción propuesta; se evaluarán con el estadístico Likelihood-ratio test (Lrtest) (H_0 : interacción NO es significativa; H_a : interacción es significativa), dado que la interacción se define con la variable de exposición en el caso de un modelo de asociación. La confusión (describe la covariable que está relacionada con el desenlace y la variable independiente de interés) se analizará mediante el análisis multivariado en los modelos logísticos.

los Odds ratio que comparan “disnea” con “no disnea” estarán dados por la función:

$$OR_{XA \text{ vs. } XB} = e^{\sum_{j=1}^k (XA_j - XB_j)\beta_j}$$

8. Resultados generales

Un total de 13.255 casos de notificación individual por el evento leptospirosis fueron registrados en el sistema nacional de vigilancia durante los años 2011 a 2013, sin embargo 6.536 (49,3%) fueron excluidos durante por ajuste de datos de vigilancia (confirmación de otro diagnóstico o no toma de muestras de MAT). La cohorte de pacientes notificados que cumplía con los tres criterios descritos por el protocolo de vigilancia (clínico, nexo epidemiológico y resultados de laboratorio) para clasificación como casos probables/confirmados de leptospirosis en el periodo fueron 6.719 (50,6%). De estos pacientes, 1.737 (25,8%) fueron manejados de forma ambulatoria y los restantes 4.982 (74,1%) fueron hospitalizados; en otras palabras, en cada tres de cuatro pacientes se indicó el manejo hospitalario (figura 4).

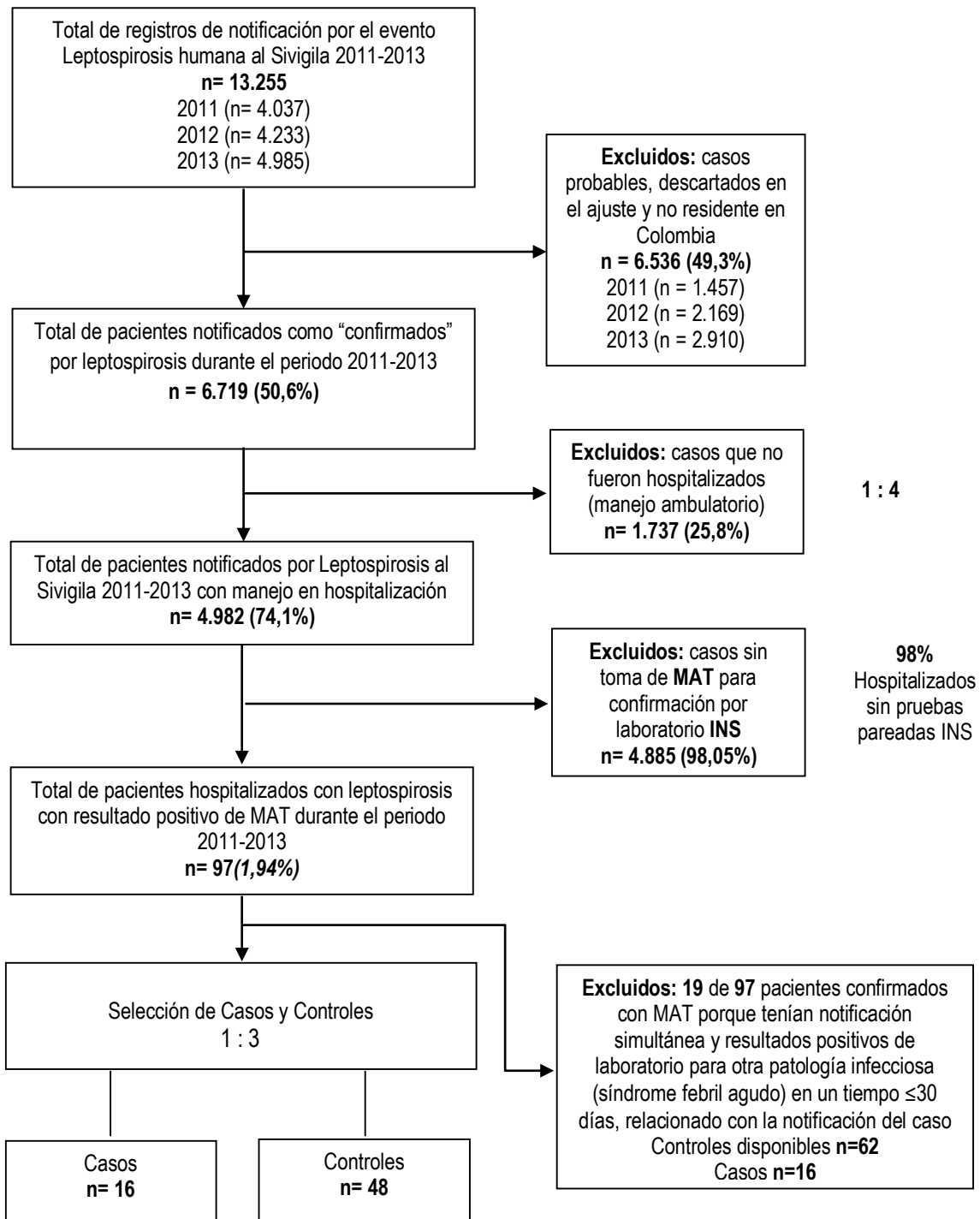
Tabla 6. Análisis de datos demográficos en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013

Variable	Casos	Controles	Odds Ratio	IC95%	Valor p	OR ajustado* Mantel-Haenszel	IC95%	Valor p
	(n=16)	(n=48)						
	Media (±D.E) n (%)	Media (±D.E) n (%)						
Edad								
Media en años (±D.E.)	45,3 (±18,7)	35,6 (±17,5)			0,06**			
Sexo								
Masculino	14 (87,5)	40 (83,3)	1,4	(0,23-15)	0,69	1,2	(0,21 - 7,1)	0,81
Femenino	2 (12,5)	8 (16,6)						
Área de residencia								
Urbano	10 (62,5)	36 (75,0)	2,05	(0,49-9,1)	0,25	-	-	-
Rural	3 (18,7)	12 (25,0)						
Afiliación en salud								
Si	12(75)	46(95,8)	0,13	(0,01-1,7)	0,01	0,65	(0,06-6,2)	0,68
No	4(15)	2(4,1)						
Pertenencia étnica								
Otros	16(100)	46(95,8)	-	-	-	-	-	-
Negro, Mulato, Afro Colombiano	0(0)	2(4,2)						

Fuente: Siviigila INS 2011 – 2013

*Ajustado por área de residencia

**t Student para 2 medias independientes

Figura 4. Flujo de la investigación y gestión de los datos

De los pacientes hospitalizados, tan solo en 97 (1,4%) fue posible documentar la toma de muestras pareadas de MAT y su análisis se realizó en el INS. Al final; cumplieron criterios de inclusión 78 pacientes para la selección de los casos y controles.

El análisis univariado mostró que los casos de leptospirosis severa tenían edad mayor que la de los controles (media = 45,3 \pm 18,7 años), los hombres (84,3%) fueron más afectados, residir en área urbana (71,8%), pertenecer al régimen contributivo (43,7%) y otros tipos de etnia (96,8%) estuvieron dentro de las características más sobresalientes (Tabla 6). La disnea (OR-MH= 4,6 IC95% 1,01-21,4) y la presencia de ictericia (OR-MH= 3,6 IC95% 1,01-13,1) fueron los signos y síntomas más asociados con casos letales (Tabla 7).

Tabla 7. Signos y síntomas en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013

Signos y síntomas	Casos n=16 (%)	Controles n=48 (%)	OR	IC95%	Valor p	OR ajustado* Mantel- Haenszel	IC95%	Valor p
Insuficiencia hepática	3 (18,7)	2(4,1)	5,3	(0,53-67,5)	0,05	4,8	(0,83 - 28,2)	0,03
Disnea	5(31,2)	5(10,4)	3,9	(0,73-19,9)	0,04	4,6	(1,01 - 21,4)	0,03
Ictericia	9(56,2)	15(31,2)	2,8	(0,75-10,6)	0,07	3,6	(1,01 - 13,1)	0,04
Hepatomegalia	4(25,0)	5(10,4)	2,9	(0,48-15,4)	0,14	3,4	(0,78 - 15,3)	0,08
Esplenomegalia	1(6,25)	1(2,08)	3,1	(0,03- 251,0)	0,4	2,8	(0,15 - 52,0)	0,47
Insuficiencia renal	3 (18,7)	4(8,3)	2,5	(0,32 - 16,9)	0,24	2,7	(0,52 - 14,4)	0,21
Artralgias	13(81,2)	33(68,7)	2,0	(0,43 - 12,2)	0,33	2,6	(0,52 - 13,1)	0,23
Insuficiencia respiratoria	4(25,0)	5(10,4)	2,9	(0,48 - 15,4)	0,14	2	(0,42 - 10,2)	0,35
Hematuria	2(12,5)	5(10,4)	1,2	(0,10 - 8,55)	0,81	1,6	(0,27 - 9,7)	0,59
Náuseas	6(37,5)	17(35,4)	1,1	(0,27 - 4,03)	0,88	1,6	(0,46 - 5,86)	0,43
Dolor pantorillas	3 (18,7)	8(16,6)	1,1	(0,17 - 5,78)	0,84	1,5	(0,33 - 7,09)	0,57
Hiperemia conjuntival	1(6,25)	3(6,25)	1,0	(0,01 - 13,5)	1	1,5	(0,13 - 17,9)	0,73
Dolor abdominal	10(62,5)	31(64,5)	0,9	(0,24 - 3,62)	0,88	1,4	(0,37 - 5,7)	0,58
Vómito	7(43,7)	19(39,5)	1,2	(0,31 - 4,29)	0,76	1,3	(0,39 - 4,8)	0,62
Mialgias	11(68,7)	33(68,7)	0,3	(0,25 - 4,34)	1	1,3	(0,30 - 5,7)	0,7
Rash	1(6,25)	4(8,3)	0,7	(0,01 - 8,25)	0,78	0,9	(0,1 - 8,8)	0,98
Dolor retro ocular	2(12,5)	9(18,7)	0,6	(0,05 - 3,57)	0,56	0,9	(0,16 - 5,2)	0,94
Diarrea	3 (18,7)	12(25,0)	0,7	(0,10 - 3,19)	0,6	0,5	(0,1 - 2,9)	0,5
Cefalea	8(50)	37(77,0)	0,3	(0,07 - 1,16)	0,04	0,3	(0,10 - 1,4)	0,15
Fiebre	14(93,3)	47(97,9)	0,1	(0,00 - 3,17)	0,08	0,3	(0,01 - 6,3)	0,47

Fuente: Sivigila INS 2011 - 2013

*Ajustado por área de residencia

La oportunidad como indicador de acceso a los servicios de salud mostró que la mediana entre la fecha de inicio de síntomas y la consulta al hospital fue más corta entre los controles que la de los casos; sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa. La mediana de tiempo transcurrido entre la consulta y la hospitalización fue igual o menor a 1 día en los casos y controles (Tabla 8).

Tabla 8. Indicadores de oportunidad en el tiempo de consulta y hospitalización en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013

Variable	Casos (n=16)	Controles (n=48)	Valor p*
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)	
Diferencia en el tiempo de evolución desde inicio de síntomas hasta la primera consulta (días)	5 (7 – 4)	4 (7 – 3)	0,13
Diferencia entre fecha de la primera consulta y hospitalización del paciente (días)	0	0	0,59

*U de Mann-Whitney

Con relación a los antecedentes epidemiológicos, el baño en río en los últimos 30 días fue el antecedente más asociado con letalidad (OR-MH= 5,8 IC95% 1,02-34,3) (Tabla 9).

Tabla 9. Antecedentes epidemiológicos de riesgo en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013

Factores epidemiológicos	Casos n=16 (%)	Controles n=48 (%)	OR	IC95%	Valor p	OR ajustado* Mantel-Haenszel	IC95%	Valor p
Fuente de agua – Río	3(18,7)	3(6,2)	3,4	(0,40-28,4)	0,13	5,2	(0,87-31,5)	0,04
Baño en últimos 30 días - Río	3(18,7)	3(6,2)	3,4	(0,40-28,4)	0,13	5,8	(1,02-34,3)	0,02
Animales domésticos - Gatos	5(31,2)	9(18,7)	1,9	(0,42-8,24)	0,29	3,2	(0,79-12,9)	0,09
Baño en últimos 30 días - Arroyos	1(6,2)	1(2,0)	3,1	(0,03- 251)	0,40	3	(0,23-39,8)	0,32
Animales domésticos - Perros	10(62,5)	21(43,7)	2,1	(0,58-8,32)	0,19	3	(0,7-11,4)	0,1
Ratas en domicilio/trabajo	8(50)	8(16,6)	1,1	(0,32-4,28)	0,77	1	(0,29-3,5)	0,96
Animales domésticos - Bovinos	1(6,2)	3(6,2)	1,0	(0,01- 13,5)	1	1	(0,09-11,6)	0,98
Fuente de agua - Pozo	2(12,5)	5(10,4)	1,2	(0,10-8,55)	0,81	0,8	(0,08-7,3)	0,84
Ratas alrededor domicilio/trabajo	4(25)	13(27,0)	0,8	(0,17-3,72)	0,87	0,8	(0,19-3,5)	0,81
Animales domésticos - Porcinos	1(6,2)	4(8,3)	0,7	(0,01-8,25)	0,78	0,8	(0,07-8,7)	0,87
Disposición domiciliaria residuos solidos	7(43,7)	24(50)	0,7	(0,20-2,79)	0,66	0,8	(0,25-2,9)	0,82
Fuente de agua - Tanque almacenamiento	2(12,5)	5(10,4)	1,2	(0,10-8,55)	0,81	0,5	(0,05-6,0)	0,67
Fuente de agua - Acueducto	6(37,5)	32(66,6)	0,3	(0,07-1,12)	0,03	0,3	(0,1 - 1,3)	0,12
Alcantarillas destapadas cerca domicilio/trabajo	2(12,5)	16(33,3)	0,2	(0,02-1,51)	0,1	0,3	(0,06-1,69)	0,17
Inundaciones últimos 30 días	1(6,2)	10(20,8)	0,3	(0,00-2,10)	0,18	0,2	(0,02-2,5)	0,24
Contacto con aguas estancadas	1(6,2)	12(25)	0,2	(0,00-1,61)	0,1	0,2	(0,02-2,0)	0,15
Contacto con animales enfermos	1(6,2)	1(2,0)	3,1	(0,03-251)	0,40	-	-	-
Animales domésticos - Equinos	1(6,2)	4(8,3)	0,7	(0,01-8,25)	0,78	-	-	-

Fuente: Sivigila INS 2011 – 2013

*Ajustado por área de residencia

En los resultados de laboratorio, las alteraciones del BUN (OR-MH= 4,6 IC95% 1,01-21,4) y la neutrofilia (OR-MH=3,4 IC95% 1,01-12,3) estuvieron más asociados a letalidad por leptospirosis (Tabla 10).

Tabla 10. Hallazgos de laboratorio en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013

Hallazgos de laboratorio	Casos n=16 (%)	Controles n=48 (%)	OR	IC95%	Valor p	OR ajustado* Mantel- Haenszel	IC95%	Valor p
Hemoconcentración	2(12,5)	1(2,1)	6,7	(0,31 - 404)	0,08	6,6	(0,51 - 86,9)	0,11
Linfocitosis	1(6,25)	1(2,1)	3,1	(0,03 - 251,0)	0,40	6,5	(0,33 - 126)	0,17
CPK elevado	2(12,5)	1(2,1)	6,7	(0,31 - 404)	0,08	6,3	(0,59 - 68,4)	0,07
Alteración BUN	6(37,5)	5(10,4)	5,1	(1,04 - 25,4)	0,01	4,6	(1,01 - 21,4)	0,03
Neutrofilia	7(43,75)	9(18,8)	3,3	(0,81 - 13,4)	0,04	3,4	(1,01 - 12,3)	0,04
Leucocitosis	8(50)	15(31,3)	2,2	(0,58 - 8,13)	0,17	3,2	(0,84 - 12,2)	0,08
Trombocitosis	2(12,5)	4(8,3)	1,5	(0,12 - 12,2)	0,62	2,3	(0,35 - 15,3)	0,37
Alteración creatinina	6(37,5)	10(20,8)	2,2	(0,53 - 9,02)	0,18	2,1	(0,56 - 7,9)	0,25
Alteración bilirrubinas	7(43,75)	17(35,4)	1,4	(0,37 - 5,17)	0,55	1,4	(0,43 - 4,6)	0,53
Leucopenia	1(6,25)	4(8,3)	0,7	(0,01 - 8,25)	0,78	0,9	(0,09 - 10,1)	0,98
Trombocitopenia	4(25)	14(29,2)	0,8	(0,16 - 3,32)	0,74	0,6	(0,15 - 2,75)	0,55
Alteración transaminasas	3(18,75)	16(33,3)	0,4	(0,07 - 2,0)	0,26	0,3	(0,06 - 1,69)	0,17

*Ajustado por área de residencia
Fuente: Sivigila INS 2011 - 2013

El serovar más identificado por MAT dentro de los casos y controles fue Australis, el cual fue aislado en 28/64 pacientes (43,8%), seguido por Autumnalis en 23/64 (35,9%), Canicola en 20/64 (31,3%), Cynopteri 19/64 (29,7%) y Panama en 19/64 (29,7%) (Tabla 11).

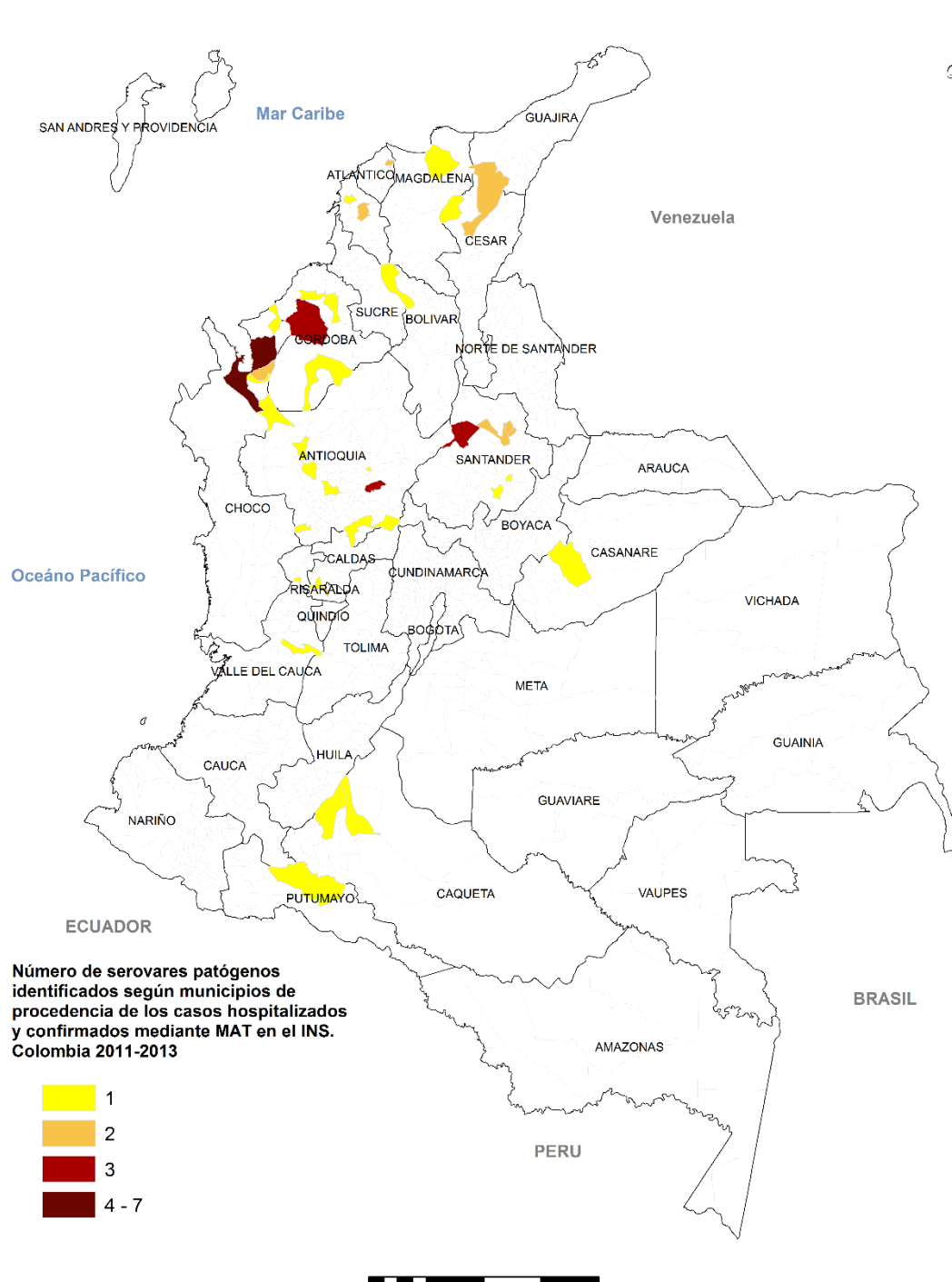
La zona del país donde se logró identificar el mayor número de serovares patógenos identificados mediante la MAT en muestras pareadas en pacientes hospitalizados por formas severas de la enfermedad fue la región del Urabá Antioqueño, seguida por los casos notificados en la zona geográfica del magdalena medio Colombiano. Ambas zonas comparten características ambientales y sociales que pueden favorecer la presencia de formas patógenas de la leptospira (Figura 5).

Tabla 11. Tipo y porcentaje de aislamiento de serovares en pacientes con leptospirosis humana severa, Colombia 2011 – 2013

Serovar	Número de pacientes con aislamiento	(%)
Australis	28	43,8
Autumnalis	23	35,9
Canicola	20	31,3
Cynopteri	19	29,7
Panama	19	29,7
Copenhageni	17	26,6
Castellonis	14	21,9
Icterohaemorrhagiae	14	21,9
Bratislava	13	20,3
Sejroe	12	18,8
Hebdomadis	11	17,2
Wolffi	11	17,2
Balum	10	15,6
Javanica	10	15,6
Poi	10	15,6
Bataviae	8	12,5
Shermani	8	12,5
Pyrogenes	7	10,9
Grippotyphosa	6	9,4
Pomona	6	9,4
Celledoni	5	7,8
Proechimys	5	7,8
Tarasovi	5	7,8
Rachmati	4	6,3
Hardjo	2	3,1
Saxkoe bing	2	3,1
Gorgas	1	1,6
Guaricura	1	1,6

Fuente: Sivigila INS 2011 - 2013

Figura 5. Distribución geográfica del número de serovares de *leptospira spp* identificados, según municipio de procedencia de los casos. Colombia 2011-2013



Análisis de Componentes Principales (ACP) como estimador de variables a considerar en la construcción de un índice de letalidad en pacientes hospitalizados confirmados por MAT

El ACP es una técnica estadística que se usa en la síntesis de información, o reducción del número de variables perdiendo la menor cantidad de información posible. Los nuevos componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables originales, y además serán independientes entre sí. Un aspecto clave en ACP es la interpretación de los factores, ya que ésta no viene dada a priori, sino que será deducida tras observar la relación de los factores con las variables iniciales(82). En nuestro estudio, cinco dimensiones caracterizan el conjunto de variables que hacen parte de la notificación rutinaria de leptospirosis humana: datos de identificación individual e institucional (UPGD notificadora), síntomas, signos, antecedentes epidemiológicos-ambientales y resultados de laboratorio. En total, las dimensiones agrupan 134 variables o datos categóricos donde síntomas, signos y resultados de laboratorio han sido descritos en la literatura como los más relacionados con la letalidad en formas severas de la enfermedad. Aplicando el ACP se buscaba identificar un conjunto de variables que mejor resuman y describan los factores asociados a complicaciones por la enfermedad, basados en la diferencia de su ocurrencia entre los casos letales y no letales del estudio. Las variables incluidas fueron calificadas como "1" cuando el atributo estaba presente y "0" ausente en la notificación del paciente. El análisis se realizó en los casos hospitalizados confirmados por MAT (n=64). Inicialmente fueron ocho las variables incluidas en el análisis dada su mayor relación teórica con las complicaciones por la enfermedad (Tabla 12)

Tabla 12. Análisis descriptivos de las variables incluidas en la escala o índice de riesgo en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT

Estadísticos descriptivos					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Artralgias	64	0	1	,72	,453
Disnea	64	0	1	,16	,366
Insuf_Respiratoria	64	0	1	,14	,350
Hepatomegalia	64	0	1	,14	,350
Insuf_Hepática	64	0	1	,08	,270
Insuf_Renal	64	0	1	,11	,315
Elevación del BUN	64	0	1	,17	,380
Elevación de creatinina	64	0	1	,25	,436
N válido (según lista)	64				

A continuación se muestran los resultados de la matriz de correlaciones entre las variables seleccionadas por presentar mayor relación teórica con la aparición de desenlaces fatales en pacientes con formas severas de la enfermedad y descritas en la literatura (Tabla 13)

Tabla 13. Matriz de correlaciones en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT

		Correlaciones							
		artralgias	disnea	irespirato	hepatomega	ihepática	irenal	abun	acreatinin
artralgias	Correlación de Pearson	1	,173	,053	,053	,053	,108	,193	-,120
	Sig. (bilateral)		,170	,677	,677	,680	,396	,127	,343
	N	64	64	64	64	64	64	64	64
disnea	Correlación de Pearson	,173	1	,445**	,197	,516**	,539**	,488**	,348**
	Sig. (bilateral)	,170		,000	,118	,000	,000	,000	,005
	N	64	64	64	64	64	64	64	64
irespirato	Correlación de Pearson	,053	,445**	1	,095	,385**	,578**	,411**	,389**
	Sig. (bilateral)	,677	,000		,455	,002	,000	,001	,001
	N	64	64	64	64	64	64	64	64
hepatomega	Correlación de Pearson	,053	,197	,095	1	,385**	,146	,292*	,078
	Sig. (bilateral)	,677	,118	,455		,002	,249	,019	,541
	N	64	64	64	64	64	64	64	64
ihepática	Correlación de Pearson	,053	,516**	,385**	,385**	1	,644**	,330**	,370**
	Sig. (bilateral)	,680	,000	,002	,002		,000	,008	,003
	N	64	64	64	64	64	64	64	64
irenal	Correlación de Pearson	,108	,539**	,578**	,146	,644**	1	,504**	,491**
	Sig. (bilateral)	,396	,000	,000	,249	,000		,000	,000
	N	64	64	64	64	64	64	64	64
abun	Correlación de Pearson	,193	,488**	,411**	,292*	,330**	,504**	1	,598**
	Sig. (bilateral)	,127	,000	,001	,019	,008	,000		,000
	N	64	64	64	64	64	64	64	64
acreatinin	Correlación de Pearson	-,120	,348**	,389**	,078	,370**	,491**	,598**	1
	Sig. (bilateral)	,343	,005	,001	,541	,003	,000	,000	
	N	64	64	64	64	64	64	64	64

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

Tres componentes explicarían la presencia de letalidad según la saturación acumulada de 69,9% en la matriz de rotación y el gráfico de sedimentación (Tabla 14 y 15)

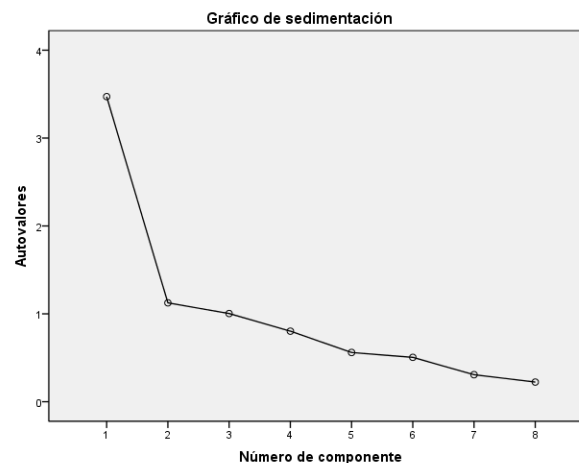
Tabla 14. Análisis Factorial en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT

KMO y prueba de Bartlett		
Medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin.		,727
Prueba de esfericidad de	Chi-cuadrado aproximado	166,046
Bartlett	gl	28
	Sig.	,000

Tabla 15. Varianza total explicada en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT

Componente	Varianza total explicada								
	Autovalores iniciales			Sumas de las saturaciones al cuadrado de la extracción			Suma de las saturaciones al cuadrado de la rotación		
	Total	% de la varianza	% acumulado	Total	% de la varianza	% acumulado	Total	% de la varianza	% acumulado
1	3,471	43,392	43,392	3,471	43,392	43,392	3,169	39,611	39,611
2	1,125	14,062	57,455	1,125	14,062	57,455	1,324	16,544	56,155
3	1,004	12,545	69,999	1,004	12,545	69,999	1,108	13,844	69,999
4	,803	10,039	80,039						
5	,560	7,003	87,042						
6	,505	6,312	93,354						
7	,308	3,845	97,199						
8	,224	2,801	100,000						

Método de extracción: Análisis de Componentes principales.

Figura 13. Gráfico de sedimentación de componentes en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT

Las variables que hacen parte del componente principal fueron la insuficiencia renal, alteraciones de creatinina, insuficiencia respiratoria, alteraciones del BUN, disnea e insuficiencia hepática (Tabla 16).

Tabla 16. Matriz de componentes rotados por el método Varimax, en pacientes con leptospirosis confirmados por MAT

	Componente		
	1	2	3
irenal	,829		
acreatinin	,759		-,312
irespirato	,749		
abun	,719		
disnea	,688		
ihepática	,591	,560	
hepatomega		,943	
artralgias			,961

Método de extracción: Análisis de componentes principales.

Método de rotación: Normalización Varimax con Kaiser.

a. La rotación ha convergido en 5 iteraciones.

Estimación de los Odds Ratio usando modelos de regresión logística en casos confirmados por MAT

En la construcción del modelo full inicial se siguió la estrategia “paso a paso” hacia adelante (Forward) con el set de variables que en el análisis bivariado resultaron significativas y que en el ACP resultaron parte del set de variables del componente principal. Además, se tuvo como referencia que fueran descritas como relacionadas con la letalidad.

Modelo inicial con factores pronóstico:

Logistic regression	Number of obs	=	64
	LR chi2(7)	=	9.23
	Prob > chi2	=	0.2364
Log likelihood = -31.373486	Pseudo R2	=	0.1283

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
disnea	1.678585	1.673854	0.52	0.603	.2377612 11.85075
ictericia	1.956053	1.393557	0.94	0.346	.4841237 7.903232
irenal	.1467293	.253466	-1.11	0.267	.0049673 4.334269
irespirato	2.26017	2.406475	0.77	0.444	.2804396 18.21557
iheptica	5.584456	7.960248	1.21	0.228	.3417064 91.26592
abun	4.537851	4.675448	1.47	0.142	.6023356 34.18707
acreatinin	.6570737	.6845179	-0.40	0.687	.0852825 5.062535

Se formularon modelos de análisis con las interacciones con la variable de interés (disnea)

Modelo con factores pronóstico e interacciones:

Logistic regression
 Log likelihood = -28.088003

Number of obs = 64
 LR chi2(12) = 15.80
 Prob > chi2 = 0.2004
 Pseudo R2 = 0.2195

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
disnea	4.00606	6.988762	0.80	0.426	.1311462 122.3712
ictericia	.6930833	.8109235	-0.31	0.754	.0699616 6.866113
irenal	.2515767	.4773417	-0.73	0.467	.0061038 10.36908
irespirato	5.138339	6.126278	1.37	0.170	.4965492 53.17203
iheptica	1.02e+08	3.43e+11	0.01	0.996	0 .
abun	15.10239	24.38241	1.68	0.093	.6379743 357.51
acreatinin	.8082518	.9796715	-0.18	0.861	.0751305 8.695148
interacict~a	3.439265	7.822178	0.54	0.587	.0398579 296.7681
interacire~o	1.11e-08	.0000373	-0.01	0.996	0 .
interacihe~a	1.27e-08	.0000429	-0.01	0.996	0 .
interacabun	.0662147	.17264	-1.04	0.298	.0003996 10.97164
interacacr~n	2.81e+07	9.49e+10	0.01	0.996	0 .

Evaluación del aporte de las interacciones al modelo:

Interacción	Log likelihood	Prob > chi2
Disnea * ictericia	-31.10491	0.4636
Disnea * insuficiencia renal	-29.18369	0.0364
Disnea * insuficiencia respiratoria	-29.76849	0.0732
Disnea * insuficiencia hepática	-30.67004	0.2356
Disnea * alteración del BUN	-30.61515	0.2181
Disnea * alteración de la creatinina	-30.75743	0.2670

Estimación de los OR con la variable de interés (disnea):

Logistic regression
 Log likelihood = -34.228157

Number of obs = 64
 LR chi2(1) = 3.52
 Prob > chi2 = 0.0605
 Pseudo R2 = 0.0489

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
disnea	3.909091	2.803025	1.90	0.057	.9587805 15.93795

Estimación de los OR de disnea y variables de control:

Logistic regression Number of obs = 64
LR chi2(3) = 6.77
Prob > chi2 = 0.0794
Log likelihood = -32.602132 Pseudo R2 = 0.0941

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
disnea	1.506577	1.435238	0.43	0.667	.2328607	9.747354
iheptica	2.43762	2.865186	0.76	0.448	.2434787	24.40456
abun	3.58358	2.880772	1.59	0.112	.7413998	17.32135

El OR de 1.5 es el riesgo de morir por leptospirosis severa en pacientes con formas severas de la enfermedad (hospitalizados) que presentan (disnea=1), dado que se ajusta por el efecto de tener insuficiencia hepática (iheptica=1) y alteraciones del BUN (abun=1) comparado con el riesgo en pacientes de formas severas que no hacen disnea. Disnea es el factor pronóstico más importante, pero no es significativo por el intervalo de confianza que incluye el valor de 1.

Estimación de los coeficientes del modelo:

. logit

Logistic regression Number of obs = 64
LR chi2(3) = 6.77
Prob > chi2 = 0.0794
Log likelihood = -32.602132 Pseudo R2 = 0.0941

y	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
disnea	.4098405	.9526478	0.43	0.667	-1.457315	2.276996
iheptica	.8910221	1.175403	0.76	0.448	-1.412726	3.19477
abun	1.276362	.8038809	1.59	0.112	-.2992153	2.85194
_cons	-1.538727	.3646721	-4.22	0.000	-2.253471	-.8239827

La ecuación final para obtener el OR ajustado de disnea es:

$$\text{OR (disnea vs no disnea | i_heptica, a_bun)} = e^{(\beta_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4)}$$

$$\text{Logit [pr (Y=1)]} = \beta_0 + \beta_1 (\text{disnea}) + \beta_2 (\text{insuficiencia hepática}) + \beta_3 (\text{alteración del BUN})$$

$$\text{Logit [pr (Y=1)]} = (-1.53) + 0.40 (\text{dyspnea status}) + 0.89 (\text{insuficiencia hepática status}) + 1.27 (\text{alteración del BUN})$$

9. Discusión

La letalidad global en los casos confirmados por MAT fue del 16,3% (16/98) valores que coinciden con los descritos en la literatura que reportan letalidades entre 2 y 35% (35, 83) y que son causados por diferentes cuadros clínicos. Estas diferencias se explican en parte por la falta de uniformidad en la definición de caso. La principal causa de mortalidad descrita en la literatura en las formas severas de la enfermedad son las alteraciones hemorrágicas a nivel pulmonar y que derivan en cuadros severos de insuficiencia respiratoria (28, 71, 84, 85). En el análisis bivariado de nuestro estudio, la presencia de disnea (OR-MH= 4,6 IC95% 1,01-21,4) e ictericia (OR-MH= 3,6 IC95% 1,01-13,1) fueron los principales factores pronóstico en casos confirmados por MAT y los dos hacen parte del cuadro clínico más asociado a letalidad por la enfermedad (15, 16, 35, 83, 86). Los resultados de laboratorio más asociados a la letalidad fueron la neutrofilia (OR-MH= 3,4 IC95% 1,01-12,3) y elevación del BUN (OR-MH= 4,6 IC95% 1,01-21,4). Ambos son marcadores inespecíficos de varias de las complicaciones de la enfermedad, incluso es posible encontrarlos en las formas menos severas o auto limitadas (61, 83, 87, 88).

Los análisis del set variables independientes mediante modelo de regresión logística multivariada, mostró que la disnea (OR= 1,5 IC95% 0,2 – 9,7), insuficiencia hepática (OR= 2,4 IC95% 0,2 – 24,4) y la elevación del BUN (OR= 3,5 IC95% 0,7- 17,3) fueron los factores pronóstico más importantes pero sin asociación estadística dentro de los modelos de mejor ajuste; no obstante, aunque identificamos factores similares, es necesario aclarar que nuestros hallazgos se originan en datos de vigilancia rutinaria y no de datos clínicos (22, 51, 72, 89-92). Otras manifestaciones clínicas comunes a las formas severas de la leptospirosis fueron ictericia (OR= 3,6) y epistaxis (OR=2,8). Estos síntomas y signos son comunes a otras enfermedades que hacen parte del síndrome febril agudo y una de las principales razones por las cuales no resulta fácil la sospecha y estudio de los casos de leptospirosis (7, 14, 19, 62). Un factor no considerado en nuestro estudio y que resulta altamente asociado en varios trabajos de investigación (OR= 8,9) con la letalidad por leptospirosis es la presencia de trastornos mentales el cual debe ser considerado en estudios con enfoque clínico y de salud pública como factor de riesgo para letalidad (93, 94).

Nuestros resultados mostraron que la mayoría de casos notificados al sistema nacional de vigilancia corresponden a formas severas de la enfermedad (74,1% con manejo hospitalario) (Figura 4) lo cual concuerda con lo reportado en otros trabajos que describen la necesidad de manejo hospitalario en las complicaciones asociadas a la leptospirosis (28, 71, 95). Las complicaciones reportadas (disnea, trastornos hemorrágicos, insuficiencia hepática) coinciden con las reportadas en estudios realizados en diferentes unidades de cuidados intensivos (UCI) en instituciones de alta complejidad (83, 87, 96, 97).

En nuestro caso, la heterogeneidad en el manejo de los síndromes febriles agudos ictericos y no ictericos, afectó el estudio de un número importante de pacientes potencialmente afectados por leptospirosis dando prioridad al estudio de otras enfermedades endémicas como dengue y la malaria (19, 98). Otro de los hallazgos que destacamos fue el número bajo de pacientes que a pesar de cumplir con criterios clínicos y epidemiológicos para sospechar la presencia de la enfermedad, se les solicitó un estudio de muestras pareadas de MAT para la confirmación de casos (1,94% de la población blanco durante el periodo analizado como se muestra en la Figura 4). Este factor es una dificultad para establecer la carga real de la enfermedad tal y como lo menciona la OMS en sus diferentes estudios (7-9, 43, 55, 74, 93).

De manera consistente con reportes previos, encontramos que según características socio demográficas, los pacientes más afectados por la leptospirosis fueron los hombres (84,3%), el grupo de edad prevalente fue el de población económicamente activa (media= 38 ± 18 años) y con residencia habitual en zonas rurales (52,4%) (35, 53, 94, 99, 100). La zona de residencia se identificó en la literatura como un factor importante de confusión en la estimación de los OR y se convirtió en una variable de ajuste para el análisis bivariado. El análisis ajustado de los datos mostro variaciones importantes entre los OR crudos y los OR ajustados estimados en cada categoría de riesgo (signos y síntomas, epidemiológicos y resultados de laboratorio). Un factor ampliamente descrito en la literatura asociado a la infección por leptospirosis fue el “baño en río en los últimos 30 días” (OR-MH = 5,8 IC95% 1,02-43,3) el cual ha sido documentado ampliamente en función de las actividades ocupacionales relacionadas con la producción agrícola y cuidado de animales y en algunos estudios de brote, con las actividades de recreación; pero en nuestro estudio, es más un factor de riesgo para adquirir la enfermedad que un factor pronóstico (38, 94, 101). Este factor también es descrito en investigaciones de situaciones de brote posterior a inundaciones en zonas tropicales con altos índices de pluviometría; sin embargo, la relación se describe como factor importante para adquirir la enfermedad y no necesariamente para que ocurra la letalidad. Otros factores epidemiológicos de riesgo descritos en protocolos de vigilancia de la OMS y estudios regionales como el contacto con ratas en el domicilio o lugar de trabajo, disposición de residuos sólidos en el domicilio y contacto con otros animales domésticos no resultaron asociados (7-9, 43, 63).

En los resultados del análisis bivariado de variables de laboratorio: elevación del BUN (OR= 5,1), neutrofilia (OR= 3,4) y leucocitosis (OR= 3,7) se destacan como valores asociados al desenlace pero son comunes a varios síndromes febriles agudos. Otras investigaciones destacan la trombocitopenia (74,3%), alteraciones hemorrágicas (35,8%), lesión renal aguda (87%) y edad avanzada como factores asociados y en otros casos, pronóstico para ocurrencia de desenlaces fatales. Es necesario aclarar que la mayoría de estos estudios contaron con periodos importantes de seguimiento clínico, diferentes diseños metodológicos, definiciones de caso grave y escalas de medición diferente a las variables que usamos en el estudio (variables de razón), dado que en la notificación (Anexo 2) de casos dentro de nuestro sistemas de vigilancia utiliza datos nominales, lo cual explica en parte las diferencias en la fuerza de asociación pero sin dejar de lado que pertenecen a las mismas categorías fisiológicas de riesgo. (15, 16, 25, 35, 51, 86, 93, 102, 103).

Los serovares con mayor frecuencia de aislamiento en los casos confirmados por MAT fueron *Australis*, *Autumnalis*, *Canicola*, *Cynopteri* y *Panama*; los cuales han sido descritos en otros estudios muy asociados a las manifestaciones o formas severas de la enfermedad. Más de un tipo de serovar fue identificado en las pruebas de laboratorio en un mismo

paciente, lo cual significa que la enfermedad no es resultado de la acción específica de un solo tipo de serovar y tampoco podemos afirmar cuál es el de mayor virulencia en los casos de la enfermedad. Muchos estudios han permitido establecer que no existe claridad sobre la seroprevalencia y los patrones de distribución geográfica en diferentes zonas afectadas por la leptospirosis. Lo que si fue posible establecer con los análisis de seroprevalencia fue identificar que la mayoría pertenece a la especie de *L. Interrogans* (Tabla 4) muy asociados a formas severas de la enfermedad.(17, 18, 45, 52, 88).

El ACP mostró en la matriz rotada, seis variables como factores principales del primer componente tras la rotación (insuficiencia renal, creatinina elevada, insuficiencia respiratoria, BUN elevado, insuficiencia hepática y disnea) las cuales son referidas en estudios clínicos como factores pronóstico, incluso con los OR-MH del análisis bivariado de nuestro estudio. Aunque este fue un análisis exploratorio, los resultados pueden ayudar a identificar dentro del número de variables que se usan en la notificación rutinaria (n=134) aquellas con menos dimensiones que proporcionan información indirectamente relacionada con la aparición de complicaciones potencialmente letales o considerarlas como un clúster de variables que pueden potencialmente configurar la generación y seguimiento de alertas tempranas a través de los sistemas de vigilancia(104-106).

El análisis de varios estudios publicados muestra como el método y la enfermedad objeto de análisis, están condicionados por la situación epidemiológica de la enfermedad en cada país lo cual se observa con el predominio de estudios de brotes, análisis de mortalidad y estudios seroprevalencia(40, 41, 45, 92, 107) y menor número de investigaciones relacionadas con trabajos de enfoque clínico, estudios de pruebas diagnósticas, susceptibilidad antibiótica, alternativas terapéuticas contra la leptospira, genética del agente infeccioso, complicaciones de la enfermedad y muchos menos los realizados con datos de vigilancia rutinaria en salud pública (2, 34, 56, 57, 89-91, 108).

En países de áreas tropicales y subtropicales donde la leptospirosis es considerada un problema creciente de interés en salud pública, los investigadores aún tratan de establecer un somero mapa del comportamiento de la enfermedad y su predilección por afectar a poblaciones vulnerables lo que ha generado el acompañamiento de la OMS a diferentes grupos colaborativos de investigación para estimar modelos de carga de enfermedad(46, 79). Esta tarea afronta muchas dificultades dado que la mayoría de los países no tienen cifras de vigilancia y tan solo cuentan con datos provenientes de estudios de base hospitalaria, lo cual no refleja completamente el comportamiento de la enfermedad en un país(7-9, 43). En este aspecto, Colombia y algunos países de la región como Brasil, Argentina y otros de Centro América han logrado en los últimos años acercarse a una mejor caracterización de la enfermedad(15, 17, 39). También es importante anotar que al igual que nos sucedió en nuestra investigación, resulta dispendioso recolectar información acerca de un número importante o representativo de casos para analizar, donde sobresale la dificultad para distinguir sus manifestaciones clínicas de otras enfermedades endémicas (15, 19), variación en los criterios de diagnóstico y tratamiento, lo cual coincide con los resultados de nuestro estudio donde tras evaluar cumplimiento a criterios de inclusión y exclusión, obtuvimos un número pequeño de casos confirmados con formas severas de la enfermedad(6, 74, 109, 110).

Finalmente, nuestro estudio es uno de los primeros en la región que integra variables clínicas, epidemiológicas, ambientales, demográficas y de laboratorio en un esfuerzo de comprender de mejor forma, los factores pronóstico de letalidad en las formas severas de

la enfermedad. Un esfuerzo similar pero limitado a datos recolectados en varios hospitales de Brasil(22) permitió generar modelos para pronóstico de letalidad por hemorragia pulmonar con los cuales tenemos puntos coincidentes como la presencia de disnea (OR= 1,5) y BUN (OR= 3,5) como factores relacionados con la posibilidad de muerte en las formas severas de la enfermedad y ameritan sean priorizados dentro del análisis y seguimiento tanto en las formas severas notificadas al sistema de vigilancia de leptospirosis con el propósito de generar alertas tempranas basados en la notificación. (28, 71, 84).

9.1 Conclusiones

Los estudios de base poblacional aún conservan gran relevancia cuando se trata de diagnosticar, orientar y desarrollar acciones de política pública; sin embargo y teniendo en cuenta la calidad de los sistemas de información que los soporta y a pesar de trabajar con datos “oficiales” es necesario reconocer las limitaciones de éstos para el análisis de información y la racionalidad que acompaña sus conclusiones. Aunque un importante número de investigadores en salud pública consideran la rigurosidad en el método una barrera difícil de superar frente a la necesidad de intervenir o tomar decisiones de forma ágil, también es cierto que el enfoque de medicina basada en la evidencia ha permeado en la última década muchos de los trabajos realizados en esta área con el propósito de orientar mejor estas decisiones. Nuestro trabajo resulto fiel reflejo de la necesidad de fortalecer las fuentes de información, así como los procesos de análisis e investigación en temas prioritarios en salud pública.

Las características sociodemográficas, ambientales, clínicas y de laboratorio mostraron que la enfermedad y las formas severas de la misma afectan más a hombres, adultos jóvenes que desarrollan actividades relacionadas con labores agrícolas. Como factores asociados al riesgo de morir en las formas severas de la enfermedad se destacó la disnea como el factor pronóstico más importante asociado a la letalidad, también el antecedente epidemiológico de contacto con agua contaminada por la espiroqueta y animales enfermos durante los últimos 30 días para adquirir la enfermedad. Las variables identificadas en el análisis de componentes principales y de regresión logística pueden ser consideradas en futuras investigaciones en el desarrollo de índices predictores de letalidad. Los serovares identificados en este estudio pertenecen al grupo *L. Interrogans* que es uno de los más asociados a manifestaciones severas de la enfermedad

Nuestro estudio no pudo incluir los datos completos de las historias clínicas de los pacientes que fueron analizados como controles y tan solo logramos analizar la información de los casos (fallecidos) dado que sus historias clínicas completas son enviadas al INS para el análisis de las mortalidades. Esta situación limito la posibilidad de incluir otras variables en la comparación de variables clínicas como valores numéricos de resultados de laboratorio, variables fisiológicas, tipo de tratamiento, dosis y frecuencia de administración, tiempo de hospitalización, tipo de institución donde se manejaron los casos y otras tantas que pudieran ser consideradas en el análisis de letalidad.

Los sistemas de vigilancia tienen fortalezas y debilidades evidentes y particularmente al igual que sucede en otros países, los resultados de investigaciones como esta y el análisis rutinario de la información que generan, debe brindar información útil para ser usada en los servicios de inteligencia epidemiológica para lograr la reingeniería de procesos de vigilancia. Un punto llamativo de esta investigación es la baja tasa de confirmación por

laboratorio de los casos, lo cual si bien es un atributo para ajustar en los sistemas de vigilancia, también demandan acciones específicas para promover mejoras en la toma de las pruebas de MAT en los casos probables de la enfermedad, incluir otras pruebas o replantear la definición operativa de casos dentro de los protocolos de vigilancia.

De todo trabajo de investigación suelen identificarse vacíos y oportunidades para nuevos trabajos y este no es la excepción. Poco se sabe de aspectos como la susceptibilidad y reinfección por la enfermedad, la eficacia de las vacunas experimentales en poblaciones donde son endémicos los casos, la posibilidad de disminuir la baja identificación de casos con la implementación de pruebas rápidas como el ELISA en los procesos de vigilancia y por último, conocer los patrones de distribución geográfica de los distintos serovares en Colombia. Otras implicaciones para la práctica clínica e investigación se mencionan más adelante en el texto

9.2 Consideraciones metodológicas (limitaciones y fortalezas)

El diseño de casos y controles es un tipo de estudio que en su fundamento teórico permite realizar un análisis de riesgo para comparar los casos confirmados de una condición, con sujetos de referencia que no la tienen pero que tienen una probabilidad similar a la de los sujetos de referencia para desarrollar el desenlace. El diseño seleccionado (caso-cohorte) es objeto de varios sesgos y limitaciones; sin embargo, la naturaleza del problema que se quiere analizar, el tipo de fuentes requeridas para responder a los interrogantes planteados lo perfilaron como el diseño más eficiente en el contexto de la toma de decisiones en salud pública, especialmente en el área de vigilancia, donde el factor tiempo es un atenuante de marca mayor para identificar y recolectar la información de los casos, especialmente cuando se trata de una enfermedad de las denominadas huérfanas y el desenlace planteado para identificar los casos es poco frecuente.

En los estudios de casos y controles se espera que exista un número suficiente de controles por cada caso; sin embargo, el número de casos fue limitado por lo que fue necesario tratar de aumentar la potencia estadística del estudio y seleccionar más de un control por cada caso (tres controles por cada caso). El número de controles disponibles en nuestro estudio no permitía la alternativa de buscar hasta cuatro controles por cada caso. Los sesgos en la selección de casos y controles son problemas inherentes al diseño y constituyeron un reto en nuestra investigación debido a su inclusión por alguna característica relacionada con la exposición. En este sentido el grupo de casos incluía todos los casos disponibles (casos incidentes) en una población y tiempo definido. Asumimos que los casos notificados al sistema nacional de vigilancia constituyen un registro de enfermedad de base poblacional como fuente de elección donde aparecen todos o casi todos los casos. Existe un sesgo de registro en nuestro estudio dado que la inclusión de los casos está relacionada con la probabilidad de que hayan sido notificados al siviigila; sin embargo, esta probabilidad no dependía del grado de complejidad de la institución que atendía los pacientes con sospecha de la enfermedad o de características del paciente, por esta razón consideramos que la muestra de casos resulta representativa y se obtendrá una estimación insesgada del efecto. Evaluamos otras fuentes nacionales que hicieran factible la identificación de casos y controles; sin embargo, ninguno reunía las características y la información de leptospirosis que están disponibles en el siviigila.

Otro sesgo de selección que puede presentarse en los estudios de casos y controles es el sesgo de Berkson el cual ocurre cuando la combinación de la exposición y la enfermedad en estudio aumenta la probabilidad de ingreso en un hospital, lo cual conduce a una frecuencia de exposición sistemáticamente más elevada en los casos que en los controles hospitalarios lo que se traduce en estimaciones sesgada de la OR. De forma opuesta, nuestro estudio no tiene una o varias exposiciones que puedan inducir mayor probabilidad de ingreso al hospital dado que tanto los pacientes con formas auto limitadas y complicadas de la enfermedad son notificados por igual al sivigila. Otro aspecto importante está centrado en que el objetivo del estudio fue identificar factores pronóstico de letalidad presente en las manifestaciones severas de la enfermedad; por lo cual, los casos y controles en esta patología debían ser hospitalizados y encontramos que cerca del 75% de los pacientes notificados se manejaron de esta forma.

El uso de casos prevalentes en lugar de incidentes puede dar lugar a un error sistemático que se conoce con el nombre de sesgo de Neyman o de supervivencia selectiva; sin embargo, en nuestra investigación trabajamos con casos incidentes en el sistema de vigilancia. El sesgo de detección aparece como consecuencia de la existencia de una probabilidad diferente de diagnosticar a los casos que a los controles.

En los estudios de casos y controles resulta crítico el análisis de la secuencia temporal causa-efecto lo que requiere indagar sobre exposiciones pasadas; sin embargo nuestro estudio se basa en la recolección de datos de corto periodo de evolución obtenidos a manera de encuestas implementando las fichas de notificación individual de casos. Trabajamos con registros administrativos de vigilancia en salud pública, resultados de laboratorio y registros de defunción que fueron diligenciados por profesionales de la salud vinculados a diferentes instituciones del país y en cuyo diligenciamiento pudimos observar la heterogeneidad y falencias en la calidad del dato. Si bien nuestro estudio no busca dimensionar un análisis de causalidad, hicimos el esfuerzo por decantar, rescatar y en algunos casos: reconstruir la historia de varios casos y controles con el propósito de mejorar la calidad de nuestras observaciones; sin obviarlas al momento de analizar, concluir y recomendar. Se evaluó y contrastó información de los pacientes con otros eventos de notificación, órdenes de estudios en la red nacional de vigilancia en salud pública y certificados de defunción.

En los estudios de casos y controles la información sobre las exposiciones se recoge retrospectivamente y esto genera la posibilidad de que aparezca el sesgo de memoria. En nuestro estudio asumimos que la condición de hospitalización genera un esfuerzo similar por recordar las exposiciones en los pacientes incluidos en el estudio, sin que exista un grado diferencial en la sensibilización de casos y controles. La presencia y magnitud de este sesgo varía según la exposición; en este aspecto, las exposiciones de tipo ambiental, epidemiológico y las demográficas no generan mayor diferencia ya que se indaga por situaciones cotidianas fáciles de recordar en teoría, pero el hecho de preguntar por varios factores de forma simultánea favorece la aparición de este sesgo; sin embargo consideramos que el sesgo se pudo presentar de forma similar en la información registrada tanto en casos como en controles. Una forma de considerar que en nuestro estudio no existe sesgo de entrevistador es que la información fue recolectada por un grupo de profesionales diferentes que atendieron los pacientes y quienes desarrollamos la investigación.

La mayor ventaja de los estudios de casos y controles es que se pueden estudiar un gran número de casos de una enfermedad, mientras que en otros diseños (Cohortes) sólo unos

pocos presentan el desenlace de interés. Esto resulta muy útil cuando se estudian enfermedades poco frecuentes como fue nuestro escenario con la leptospirosis. También permiten al investigador evaluar varios factores de riesgo de forma simultánea e interacciones entre ellos. Otra ventaja del diseño seleccionado es que en teoría son más eficientes al realizarse en menor tiempo y con menores costos. El diseño de casos y controles permite que se puedan analizar o estudiar exposiciones que son raras en la población general, siempre y cuando estén asociadas a la enfermedad en estudio como los factores ambientales y epidemiológicos que se incluyen en la ficha de notificación de leptospirosis. Los estudios de casos y controles no proporcionan una estimación directa de la incidencia ni de la prevalencia de una enfermedad, ya que la proporción de los participantes en el estudio que tienen la exposición está determinada por el investigador, no por la proporción que existe en la comunidad, por eso consideramos que la estimación de letalidad descrita tanto para los pacientes confirmados con MAT y por clínica es una estimación restringida al ámbito de los datos, es decir a población hospitalizada y no extrapolable a la población general. Lo que si nos permite nuestro estudio fue realizar estimaciones directas de la asociación entre varios factores pronóstico y la letalidad en las formas severas de la enfermedad. Como la enfermedad cursa con pequeños periodos de latencia y con la intención de evaluar mejor los factores pronóstico, este estudio permitió identificar varios elementos que pueden ser analizados en estudios prospectivos de cohorte para evaluar su relación directa mediante la construcción de un índice directo de letalidad.

También destacamos la oportunidad de trabajar en esta investigación con una muestra nacional originada en registros oficiales y que nos permitió analizar el comportamiento de un evento de interés global en salud pública, pero que al igual que en la mayoría de los países afectados, no dispone de muchos estudios primarios que incrementen el conocimiento de la enfermedad.

9.3 Implicaciones para la práctica clínica

- La presencia de disnea y alteraciones de la función renal pueden considerarse inicialmente de mal pronóstico en los pacientes hospitalizados por leptospirosis y obliga a considerar; especialmente en instituciones de baja complejidad, remisión de los mismos para manejo interdisciplinario.
- Es clara la baja sospecha de la enfermedad basados en los bajos índices de solicitud de pruebas específicas para su diagnóstico (MAT) lo cual requiere procesos de formación continua y capacitación en el manejo de los síndromes febriles agudos, especialmente en áreas de mayor influencia de la enfermedad (Región Caribe)
- A través de las variables identificadas en el análisis factorial y que hacen parte del de los datos que se analizan semanalmente, se recomendó al MSPS y referentes del INS construir a partir de ellas un sistema de alertas tempranas donde se informe a la institución que tiene hospitalizado el paciente la necesidad de prestar estricta vigilancia en su evolución

- Promover la cultura de notificación oportuna y con calidad en el dato, al igual que considerar la simplificación de las fichas de notificación

9.4 Implicaciones para la investigación

- Recomendaciones generales para investigación en escenarios clínicos
 - ✓ Validar la efectividad de pruebas rápidas en el diagnóstico de la enfermedad en zonas endémicas
 - ✓ Formular y validar modelos predictivos de letalidad en cohortes de pacientes hospitalizados
 - ✓ Realizar análisis de costos asociados al manejo de complicaciones severas en la enfermedad
 - ✓ Promover el desarrollo de una guía de práctica clínica para el diagnóstico tratamiento y seguimiento de pacientes con síndrome febril agudo con y sin ictericia
 - ✓ Analizar la efectividad de la doxiciclina en la profilaxis y manejo de la infección por leptospirosis y considerar alternativas de tratamiento
- Recomendaciones generales para investigación en escenarios de salud pública
 - ✓ Realizar estudios de seroprevalencia en leptospira
 - ✓ Validar la sensibilidad y especificidad de las variables identificadas en el análisis factorial como un escala o índice predictor de riesgo de letalidad basado en datos rutinarios de vigilancia
 - ✓ Formular estudios encaminados al desarrollo y efectividad de la vacuna
 - ✓ Evaluar la efectividad de intervenciones de prevención en la comunidad tales como control de roedores

10. Consideraciones éticas

De acuerdo a la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud que establece las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en humanos, Artículo 11, esta investigación se clasifica como “investigación sin riesgo”: “Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: revisión de historias clínicas, entrevistas, cuestionarios y otros en los que no se identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta”.

El presente estudio se basa en la gestión y análisis de información de fuentes oficiales secundarias sin ninguna intervención, ni modificación a tratamiento médico alguno establecido, por lo cual se considera investigación sin riesgo. Se garantiza la confidencialidad de los pacientes incluidos y se suprimirán aquellas variables relacionadas con la identidad de los sujetos de investigación (Ley Estatutaria 1581 de 2012 y Decreto Nacional 1377 de 2013). Las bases de datos generadas en esta investigación, serán custodiadas por el investigador principal según acuerdo de confidencialidad firmado entre este y el Instituto Nacional de Salud y serán usadas exclusivamente para los fines establecidos en el presente protocolo de investigación.

Se garantiza que los investigadores poseen la competencia y orientación técnica requerida para desarrollar esta investigación y disponen de las herramientas necesarias para el cuidado y uso de los datos de investigación. Esta investigación no tiene ningún impacto bio-ambiental ni afecta las condiciones de seguridad del paciente. Los investigadores declaran no tener ningún conflicto de interés.

El manejo de los registros se realizó bajo estrictas normas de confidencia previa autorización de los comités institucionales de ética. El desarrollo de la investigación siguió los principios establecidos para el desarrollo de proyectos de investigación en seres humanos conocidos como Buenas Prácticas Clínicas. La propuesta de investigación fue aprobada por el consejo asesor de la Maestría en Epidemiología Clínica también por la Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública del INS y por la coordinación del grupo SIVIGILA del INS

11. Divulgación

Los resultados preliminares de esta investigación han sido presentados en eventos científicos nacionales e internacionales mediante la modalidad de presentación oral. Los resultados de la investigación también permitirán redactar y someter uno o más artículos a revistas científicas nacionales e internacionales.

- Artículo publicado en la revista Biomédica
 - ✓ Título del artículo: Epidemiological surveillance of human leptospirosis in Colombia, 2007-2011]
 - ✓ Link de la publicación: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24652259>
 - ✓ PMID: 24652259 [PubMed - indexed for MEDLINE]

- Presentación en la conferencia científica del Instituto Nacional de Salud (INS) organizada por la Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica de la Dirección de Investigación del INS.
 - ✓ Título de la presentación: Factores asociados a la mortalidad por Leptospirosis Humana en Colombia 2011-2013
 - ✓ Modalidad: presentación oral
 - ✓ Fecha del evento: 3/10/2014

- Presentación en el Congreso Internacional de Espiroquetas organizado por el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri (IPK) La Habana (Cuba)
 - ✓ Título de la presentación: Factores asociados a la mortalidad por Leptospirosis Humana en Colombia 2011-2013
 - ✓ Modalidad: presentación oral
 - ✓ Fecha del evento: 22/05/2012

- Ganador de Grant para Latinoamérica de la convocatoria del Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
 - ✓ Título de la convocatoria: Special Pathogens Mini Grants
 - ✓ Monto asignado: USD 5.000
 - ✓ Fecha del inicio: 10/03/2014
 - ✓ Fecha de culminación: 29/08/2014

- Presentación oral de resultados en el CDC – EE.UU
 - ✓ Título de la presentación: Prognostic factors of mortality in patients hospitalized with leptospirosis in Colombia 2011- 2013
 - ✓ Modalidad: presentación oral
 - ✓ Fecha del evento: 23/09/2014

12. Anexos

Anexo 1. Matriz de variables

Nombre de la variable	Operación descriptiva	Nombre del campo	Naturaleza de la variable	Nivel de medición	Definición operativa	Valores permitidos
Código del evento	Independiente	cod_eve	Cualitativo	Nominal	Código del evento según CIE10 o Codificación INS	código numérico asignado
Fecha de notificación	Independiente	fec_not	Cualitativo	Nominal	Fecha de notificación del caso al SIVIGILA	dd/mm/aaaa
Primer nombre	Independiente	pri_nom	Cualitativo	Nominal	Primer nombre del paciente	Texto
Segundo nombre	Independiente	seg_nom	Cualitativo	Nominal	Segundo nombre del paciente	Texto
Primer apellido	Independiente	pri_ape	Cualitativo	Nominal	Primer apellido del paciente	Texto
Segundo apellido	Independiente	seg_ape	Cualitativo	Nominal	Segundo apellido del paciente	Texto
Tipo de identificación	Independiente	tip_ide	Cualitativo	Nominal	Tipo de documento de identificación	1 : RC 2 : TI 3 : CC 4 : CE 5 : PA 6 : MS 7 : AS
Número de identificación	Independiente	num_ide	Cualitativo	Nominal	Número del documento	Texto
Fecha de nacimiento	Independiente	fec_nac	Cualitativo	Nominal	Fecha de nacimiento del paciente	dd/mm/aaaa
Edad	Independiente	edad	Cuantitativo	Razón	Edad en años	Número
Sexo	Independiente	sexo	Cualitativo	Nominal	Sexo biológico del paciente	1 : Masculino 2 : Femenino 3 : Indeterminado
Código del departamento de ocurrencia del caso	Independiente	cod_dpto_o	Cualitativo	Nominal	Código del departamento según registro DIVIPOLA del DANE	código numérico asignado
Código del municipio de ocurrencia del caso	Independiente	cod_mun_o	Cualitativo	Nominal	Código del municipio según registro DIVIPOLA del DANE	código numérico asignado
Área de ocurrencia del caso	Independiente	área	Cualitativo	Nominal	Área geográfica donde ocurrió el caso	1 : Urbano 2 : Rural

Ocupación del paciente	Independiente	ocupación	Cualitativo	Nominal	Código de la ocupación según clasificación internacional uniforme de ocupaciones - CIUO88	código numérico asignado
Tipo de régimen en salud	Independiente	tip_ss	Cualitativo	Nominal	Afiliación al SGSSS	1 : Contributivo 2 : Subsidiado 3 : Excepción 4 : Especial 5 : NA
Pertenencia étnica	Independiente	per_etn	Cualitativo	Nominal	Pertenencia étnica según codificación estándar de referencia DANE	1 : Indígena 2 : ROM - Gitano 3 : Raizal 4 : Palenquero 5 : Negro, Mulato, Afro-Colombiano 6 : Otro
Fecha de consulta	Independiente	fec_con	Cualitativo	Nominal	Fecha de consulta a la IPS	dd/mm/aaaa
Fecha de inicio síntomas	Independiente	ini_sin	Cualitativo	Nominal	Fecha de inicio de síntomas de la enfermedad	dd/mm/aaaa
Clasificación inicial del caso	Independiente	tip_cas	Cualitativo	Nominal	Clasificación de caso notificado	1 : Confirmado por laboratorio 2 : Confirmado por clínica 3 : Confirmado por nexo epidemiológico
Hospitalizado	Independiente	pac_hos	Cualitativo	Nominal	Paciente con manejo hospitalario	1 : Si 2 : No
Fecha de hospitalización	Independiente	fec_hos	Cualitativo	Nominal	Fecha en que se hospitaliza	dd/mm/aaaa
Condición final	Dependiente	con_fin	Cualitativo	Nominal	Evolución del paciente posterior al manejo médico	1 : Vivo 2 : Muerto
Fecha de defunción	Independiente	fec_def	Cualitativo	Nominal	Fecha de muerte según certificado de defunción	dd/mm/aaaa
Seguimiento y clasificación final del caso (Ajuste)	Independiente	ajuste	Cualitativo	Nominal	clasificación final del caso ajustado	1 : Confirmado por laboratorio 2 : Confirmado por clínica 3 : Confirmado por nexo epidemiológico
Número del certificado de defunción	Independiente	cer_def	Cualitativo	Nominal	Número del certificado de defunción	código numérico asignado
Causa básica de defunción	Independiente	cbmte	Cualitativo	Nominal	Código CIE10	Texto alfa-numérico
Fecha de nacimiento	Independiente	fecha_nte	Cualitativo	Nominal	Fecha de nacimiento del paciente	dd/mm/aaaa
Hallazgos semiológicos fiebre	Independiente	fiebre	Cualitativo	Nominal	Presencia de fiebre	1: Si 2: No
Hallazgos semiológicos mialgias	Independiente	mialgias	Cualitativo	Nominal	Presencia de mialgias	1: Si 2: No
Hallazgos semiológicos cefalea	Independiente	cefalea	Cualitativo	Nominal	Presencia de cefalea	1: Si 2: No
Hallazgos semiológicos hepatomegalia	Independiente	hepatomegalia	Cualitativo	Nominal	Presencia de hepatomegalia	1: Si 2: No
Hallazgos semiológicos ictericia	Independiente	ictericia	Cualitativo	Nominal	Presencia de ictericia	1: Si 2: No

Hay perros en su casa	Independiente	perros	Cualitativo	Nominal	Presencia de perros	1: Si	2: No
Hay gatos en su casa	Independiente	gatos	Cualitativo	Nominal	Presencia de gatos	1: Si	2: No
Hay bovinos en su casa	Independiente	bovinos	Cualitativo	Nominal	Presencia de bovinos	1: Si	2: No
Hay equinos en su casa	Independiente	equinos	Cualitativo	Nominal	Presencia de equinos	1: Si	2: No
Hay porcinos en su casa	Independiente	porcinos	Cualitativo	Nominal	Presencia de porcinos	1: Si	2: No
Hay otros animales en su casa	Independiente	otros	Cualitativo	Nominal	Presencia de otros animales	1: Si	2: No
Ninguno	Independiente	ninguno	Cualitativo	Nominal	No convive con animales	2 : No	
Contacto con animales enfermos en los últimos 6 meses	Independiente	ani_enferm	Cualitativo	Nominal	Contacto con animales enfermos en los últimos 6 meses	1: Si	2: No
Ha visto ratas dentro o alrededor de su domicilio	Independiente	ratas	Cualitativo	Nominal	Presencia de roedores alrededor de su domicilio	1: Si	2: No
Ha visto ratas dentro o alrededor de su trabajo	Independiente	ratas_alre	Cualitativo	Nominal	Presencia de roedores alrededor de su trabajo	1: Si	2: No
Fuentes de agua Acueducto	Independiente	acueducto	Cualitativo	Nominal	Acueducto como fuente	1: Si	2: No
Fuentes de agua Pozo Comunitario	Independiente	pozo	Cualitativo	Nominal	Pozo como fuente	1: Si	2: No
Fuentes de agua Rio	Independiente	rio	Cualitativo	Nominal	Rio como fuente	1: Si	2: No
Fuentes de agua Tanque de almacenamiento	Independiente	tanque	Cualitativo	Nominal	Tanque como fuente	1: Si	2: No
Presencia de alcantarillas destapadas cerca de su domicilio o trabajo?	Independiente	alcan_des	Cualitativo	Nominal	Alcantarillas destapadas	1: Si	2: No
Inundaciones en la zona en los últimos 30 días?	Independiente	inundación	Cualitativo	Nominal	inundaciones recientes	1: Si	2: No
Contacto con aguas estancadas en los últimos 30 días?	Independiente	c_agu_esta	Cualitativo	Nominal	Aguas estancadas	1: Si	2: No
Antecedente de actividades deportivas represa	Independiente	represa	Cualitativo	Nominal	contacto en represas	1: Si	2: No
Antecedente de actividades deportivas rio	Independiente	rio	Cualitativo	Nominal	contacto en ríos	1: Si	2: No
Antecedente de actividades deportivas arroyo	Independiente	arroyo	Cualitativo	Nominal	contacto en arroyos	1: Si	2: No
Antecedente de actividades deportivas lago/laguna	Independiente	lago/laguna	Cualitativo	Nominal	contacto en lago/lagunas	1: Si	2: No
Disposición de residuos sólidos	Independiente	d_res_sol	Cualitativo	Nominal	tipo de manejo de residuos	1 : Recolección 2 : Disposición peri domiciliaria	
Tiempo de almacenamiento de la basura en casa	Independiente	t_alm_bas	Cualitativo	Ordinal	Tiempo de almacenamiento de basuras en domicilio	1 : 1 a 3 días 2 : 4 a 7 días 3 : Más de 7 días	

Personas con sintomatología similar en la misma vivienda durante los últimos 30 días?	Independiente	p_sin_simi	Cualitativo	Nominal	Contacto con personas con sintomatología de leptospirosis	1: Si 2: No	
Leucocitosis	Independiente	leucocitosis	Cualitativo	Nominal	Reporte de leucocitosis en HC	1: Si 2: No	
leucopenia	Independiente	leucopenia	Cualitativo	Nominal	Reporte de leucopenia en HC	1: Si 2: No	
neutrofilia	Independiente	neutrofilia	Cualitativo	Nominal	Reporte de neutrofilia en HC	1: Si 2: No	
neutropenia	Independiente	neutropenia	Cualitativo	Nominal	Reporte de neutropenia en HC	1: Si 2: No	
linfocitosis	Independiente	linfocitosis	Cualitativo	Nominal	Reporte de linfocitosis en HC	1: Si 2: No	
trombocitosis	Independiente	trombocitosis	Cualitativo	Nominal	Reporte de trombocitosis en HC	1: Si 2: No	
trombocitopenia	Independiente	trombocitopenia	Cualitativo	Nominal	Reporte de trombocitopenia en HC	1: Si 2: No	
hemoconcentración	Independiente	hemoconcentración	Cualitativo	Nominal	Reporte de hemoconcentración en HC	1: Si 2: No	
alteración de transaminasas	Independiente	alt_transaminasas	Cualitativo	Nominal	Reporte de alteración de transaminasas en HC	1: Si 2: No	
alteración de bilirrubinas	Independiente	alt_bilirrubinas	Cualitativo	Nominal	Reporte de alteración de bilirrubinas en HC	1: Si 2: No	
alteración de pruebas de función renal	Independiente	alt_fun_renal	Cualitativo	Nominal	Reporte de alteración de pruebas de función renal en HC	1: Si 2: No	
Diagnóstico diferencial Dengue	Independiente	dif_dengue	Cualitativo	Nominal	estudio para dengue	1:Si 2:No 3:No se realizó	
Diagnóstico diferencial Malaria	Independiente	dif_malaria	Cualitativo	Nominal	estudio para malaria	1:Si 2:No 3:No se realizó	
Diagnóstico diferencial Hepatitis B	Independiente	dif_hep_b	Cualitativo	Nominal	estudio para hepatitis B	1:Si 2:No 3:No se realizó	
Diagnóstico diferencial Fiebre Amarilla	Independiente	dif_fieb_amaril	Cualitativo	Nominal	estudio para fiebre amarilla	1:Si 2:No 3:No se realizó	
Se realizó confirmación diagnóstica?	Independiente	conf_dx	Cualitativo	Nominal	estado del diagnóstico al notificar	1:Si 2:No 3:No se realizó	
Toma de pruebas confirmatorias	Independiente	prueba_confirm	Cualitativo	Nominal	Tipo de prueba confirmatoria tomada al paciente	1 : ELISA 2 : MAT 3 : Cultivo orina/sangre 4 : Inmunohistoquímica	
Toma de muestras pareadas	Independiente	m_pareadas	Cualitativo	Nominal	Se tomaron muestras pareadas?	1: Si 2: No	
Fecha primera muestra	Independiente	fec_p_muestra	Cualitativo	Nominal	Fecha de toma 1 MAT	dd/mm/aaaa	
Fecha segunda muestra	Independiente	fec_s_muestra	Cualitativo	Nominal	Fecha de toma 2 MAT	dd/mm/aaaa	
Resultado MAT	Independiente	res_mat	Cualitativo	Nominal	Resultado de análisis de muestras pareadas	1: Positivo 2: Negativo	
Títulos primera muestra	Independiente	t_p_muestra	Cualitativo	Ordinal	Títulos reportados en la dilución	código numérico asignado	
Títulos segunda muestra	Independiente	t_s_muestra	Cualitativo	Ordinal	Títulos reportados en la dilución	código numérico asignado	
Identificación del serovar	Independiente	serovar	Cualitativo	nominal	Nombre del serovar(es) reportado(s)	Texto	
Días de estancia hospitalaria	Independiente	dias_est_h	Cuantitativo	Razón	Número de días de hospitalización	Número	

Anexo 2. Definición de infección por leptospirosis humana según el Sistema Nacional de Vigilancia de Colombia

- Paciente que presenta fiebre y cefalea asociada a uno o más de los siguientes signos o síntomas: mialgias, hemorragia conjuntival o conjuntivitis, postración, erupción cutánea, artralgias, vómito, náusea, dolor retrocular, escalofríos, fotofobia, secreción conjuntival, dolor en pantorrillas, diarrea y dolor abdominal. Manifestaciones que sugieran progresión de la enfermedad con compromiso de órganos o sistemas, como: ictericia, hepatomegalia, esplenomegalia, oliguria, anuria, hemorragias en piel, mucosas y tracto gastrointestinal, irritación meníngea, confusión, psicosis, delirio, arritmias, insuficiencia cardíaca, tos, hemoptisis, falla respiratoria¹.
- Paciente que presente signos o síntomas de proceso infeccioso inespecífico con antecedentes epidemiológicos sugestivos en los treinta días anteriores a la fecha de inicio de síntomas.

Se consideran antecedentes epidemiológicos sugestivos:

- Exposición a inundaciones, lodo o contacto con aguas estancadas (pozos, arroyos, lagos o ríos) posiblemente contaminadas, ya sea por actividad laboral o recreativa.
- Se consideran actividades con riesgo laboral la recolección de basuras, limpieza de arroyos, trabajo en agua o aguas residuales, ganadería y agricultura.
- Contacto con animales enfermos o roedores.
- Caso Confirmado por Laboratorio: paciente con signos o síntomas compatibles con el caso sospechoso que sea confirmado por alguno de los siguientes criterios de laboratorio: Seroconversión en muestras pareadas mediante microaglutinación (MAT) o títulos de MAT iguales o mayores a 1:400 en la primera muestra en los casos fatales.
- Las muestras de Microaglutinación (MAT) con un resultado positivo, debe acompañarse de una segunda muestra tomada 10 a 15 días después de la primera.
- Un resultado negativo de cualquier prueba serológica en una muestra recolectada antes del quinto día de inicio de síntomas, no descarta un caso sospechoso de leptospirosis, por lo tanto, para la prueba de ELISA como para la MAT deben realizarse muestras pareadas.
- Cuando se disponga de capacidad diagnóstica, los casos también pueden ser confirmados mediante cultivo (Aislamiento de *Leptospira* spp. en cultivo de sangre, orina o LCR, tomado antes del inicio del tratamiento antibiótico.) pruebas moleculares (Detección de ADN mediante PCR) y en todo caso de mortalidad hallazgos histopatológicos compatibles con leptospirosis, inmunofluorescencia o coloración de plata positiva en muestras de hígado, riñón y pulmón.
- Caso confirmado por nexo epidemiológico son aquellos casos sospechosos sin posibilidad de toma de muestras a partir de casos confirmados por laboratorio, realizando asociaciones en persona, tiempo y lugar, teniendo en cuenta la exposición a la misma fuente de infección identificada para los casos confirmados.
- Caso descartado es el paciente con signos o síntomas compatibles con el caso sospechoso que no sea confirmado por ninguno de los criterios de laboratorio mencionados anteriormente.

¹ Tomado del Protocolo de Vigilancia en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud de Colombia

13. Bibliografía

1. McBride AJAa, Athanazio DAa, Reis MGA, Ko Alab. Leptospirosis. [Miscellaneous]. *Current Opinion in Infectious Diseases* October. 2005;18(5):376-86.
2. Haake DA, Levett PN. 241 - *Leptospira* Species (Leptospirosis). In: Blaser JEBDJ, editor. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition)*. Philadelphia: Content Repository Only!; 2015. p. 2714-20.e2.
3. Hartskeerl RA, Collares-Pereira M, Ellis WA. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011;17(4):494-501.
4. Guerra MA. Leptospirosis: public health perspectives. *Biologicals : journal of the International Association of Biological Standardization*. 2013;41(5):295-7.
5. Kucerova Pa, Cermakova Zab. Leptospirosis: a neglected zoonosis of global distribution. [Article]. *Reviews in Medical Microbiology* July. 2013;24(3):63-9.
6. Agudelo-Flórez P, Restrepo M, Lotero MA. Evaluación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de leptospirosis humana. *Biomédica*. 2006;26:216-23.
7. Organization WH. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003.
8. Organization WH. Report of the second meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group. 2011.
9. Organization WH. The control of neglected zoonotic diseases: community based interventions for NZDs prevention and control: report of the third conference organized with ICONZ, DFID-RiU, SOS, EU, TDR and FAO with the participation of ILRI and OIE: 23-24 November 2010, WHO Headquarters, Geneva, Switzerland. 2011.
10. Jaramillo L, Arboleda M, García V, Agudelo-Flórez P. Coinfección brucelosis-leptospirosis, Urabá, Colombia: Reporte de caso. *Infectio*. 2014;18:72-6.
11. Lim VK. Leptospirosis: a re-emerging infection. (0126-8635 (Print)).
12. Katz AR, Effler PV. "Probable" Versus "Confirmed" Leptospirosis: An Epidemiologic and Clinical Comparison Utilizing a Surveillance Case Classification. *Annals of Epidemiology*. 2003;13(3):196-203.
13. Berlioz-Arthaud A, Merien F Fau - Baranton G, Baranton G. [Laboratory based human leptospirosis surveillance in New Caledonia (2001-2005)]. (0037-9085 (Print)).
14. Palaniappan RUM, Ramanujam S, Chang Y-F. Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis. [Miscellaneous]. *Current Opinion in Infectious Diseases* June. 2007;20(3):284-92.
15. Daher EF, Lima RSA, Silva Júnior GB, Silva EC, Karbage NNN, Kataoka RS, et al. Clinical presentation of leptospirosis: a retrospective study of 201 patients in a metropolitan city of Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2010;14(1):3-10.

16. Daher EF, Silva GB, Jr., Lima RS, Mota RM, Rocha HA, de Abreu KL, et al. Different patterns in a cohort of patients with severe leptospirosis (Weil syndrome): effects of an educational program in an endemic area. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2011;85(3):479-84.
17. Bello S, Rodríguez M, Paredes A, Mendivelso F, Walteros D, Rodríguez F, et al. Comportamiento de la vigilancia epidemiológica de la leptospirosis humana en Colombia, 2007-2011. *Biomédica*. 2013;33:153-60.
18. Abela-Ridder B, Sikkema R, Hartskeerl RA. Estimating the burden of human leptospirosis. *International journal of antimicrobial agents*. 2010;36 Suppl 1:S5-7.
19. Bruce MG, Sanders EJ, Leake JAD, Zaidel O, Bragg SL, Aye T, et al. Leptospirosis among patients presenting with dengue-like illness in Puerto Rico. *Acta Tropica*. 2005;96(1):36-46.
20. Schelotto F, Hernandez E Fau - Gonzalez S, Gonzalez S Fau - Del Monte A, Del Monte A Fau - Ifran S, Ifran S Fau - Flores K, Flores K Fau - Pardo L, et al. A ten-year follow-up of human leptospirosis in Uruguay: an unresolved health problem. (1678-9946 (Electronic)).
21. Pappachan MJ, Mathew S Fau - Aravindan KP, Aravindan Kp Fau - Khader A, Khader A Fau - Bharghavan PV, Bharghavan Pv Fau - Kareem MMA, Kareem Mm Fau - Tuteja U, et al. Risk factors for mortality in patients with leptospirosis during an epidemic in northern Kerala. (0970-258X (Print)).
22. Spichler AS, Vilaca PJ, Athanazio DA, Albuquerque JO, Buzzar M, Castro B, et al. Predictors of lethality in severe leptospirosis in urban Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2008;79(6):911-4.
23. Dassanayake DL, Wimalaratna H Fau - Nandadewa D, Nandadewa D Fau - Nugaliyadda A, Nugaliyadda A Fau - Ratnatunga CN, Ratnatunga Cn Fau - Agampodi SB, Agampodi SB. Predictors of the development of myocarditis or acute renal failure in patients with leptospirosis: an observational study. (1471-2334 (Electronic)).
24. Dassanayake DL, Wimalaratna H Fau - Agampodi SB, Agampodi Sb Fau - Liyanapathirana VC, Liyanapathirana Vc Fau - Piyarathna TACL, Piyarathna Ta Fau - Goonapienuwala BL, Goonapienuwala BL. Evaluation of surveillance case definition in the diagnosis of leptospirosis, using the Microscopic Agglutination Test: a validation study. (1471-2334 (Electronic)).
25. Goswami RP, Goswami RP, Basu A, Tripathi SK, Chakrabarti S, Chattopadhyay I. Predictors of mortality in leptospirosis: an observational study from two hospitals in Kolkata, eastern India. (1878-3503 (Electronic)).
26. Inoue K, Kodama T, Daida H. Pentraxin 3: A Novel Biomarker for Inflammatory Cardiovascular Disease. *International Journal of Vascular Medicine*. 2012;2012.
27. Wagenaar JFP, Goris MGA, Gasem MH, Isbandrio B, Moalli F, Mantovani A, et al. Long pentraxin PTX3 is associated with mortality and disease severity in severe Leptospirosis. *Journal of Infection*. 2009;58(6):425-32.
28. Wagenaar JF, Goris MG, Partiningrum DL, Isbandrio B, Hartskeerl RA, Brandjes DP, et al. Coagulation disorders in patients with severe leptospirosis are associated with severe bleeding and mortality. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 2010;15(2):152-9.
29. Limper M, Goeijenbier M, Wagenaar JF, Gasem MH, Isbandrio B, Kunde J, et al. Copeptin as a predictor of disease severity and survival in leptospirosis. *Journal of Infection*. 2010;61(1):92-4.
30. Reichlin T, Hochholzer W Fau - Stelzig C, Stelzig C Fau - Laule K, Laule K Fau - Freidank H, Freidank H Fau - Morgenthaler NG, Morgenthaler Ng Fau - Bergmann A, et al.

Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. (1558-3597 (Electronic)).

31. Ferreira FL, Bota Dp Fau - Bross A, Bross A Fau - Melot C, Melot C Fau - Vincent JL, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. (0098-7484 (Print)).

32. Velissaris D, Karanikolas M Fau - Flaris N, Flaris N Fau - Fligou F, Fligou F Fau - Marangos M, Marangos M Fau - Filos KS, Filos KS. Commonly used severity scores are not good predictors of mortality in sepsis from severe leptospirosis: a series of ten patients. (2090-1313 (Electronic)).

33. Prabhu M, Valsalan R, Ks N, Ramachandran B. Prognostic markers and out comes in severe leptospirosis in a tertiary care hospital from south India. *International Journal of Infectious Diseases*. 2010;14, Supplement 1:e389.

34. Marotto PC, Ko AI, Murta-Nascimento C, Seguro AC, Prado RR, Barbosa MC, et al. Early identification of leptospirosis-associated pulmonary hemorrhage syndrome by use of a validated prediction model. *The Journal of infection*. 2010;60(3):218-23.

35. Abgueguen P, Delbos V, Blanvillain J, Chennebault JM, Cottin J, Fanello S, et al. Clinical aspects and prognostic factors of leptospirosis in adults. Retrospective study in France. *Journal of Infection*. 2008;57(3):171-8.

36. Kulkarni HS, Kothari VM, Karnad DR. Higher mean pulmonary arterial pressures are a predictor of mortality in critically ill patients with leptospirosis. *Australian Critical Care*. 2009;22(1):59.

37. Rajapakse S, Rodrigo C Fau - Haniffa R, Haniffa R. Developing a clinically relevant classification to predict mortality in severe leptospirosis. (0974-519X (Electronic)).

38. Escobar G. DF, García T WF, Sandoval M LA, Tibaquirá C LE, Grisales R H. Epidemiología de la Leptospirosis en Tolima, Colombia, 2009 - 2011. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 2013;31:48-57.

39. Pulido-Villamarín A, Carreño-Beltrán G, Mercado-Reyes M, Ramírez-Bulla P. Situación epidemiológica de la leptospirosis humana en Centroamérica, Suramérica y el Caribe. *Universitas Scientiarum*. 2014;19:247-64.

40. Agampodi SB, Karunarathna D, Jayathilala N, Rathnayaka H, Agampodi TC, Karunanayaka L. Outbreak of leptospirosis after white-water rafting: sign of a shift from rural to recreational leptospirosis in Sri Lanka? *Epidemiology and infection*. 2014;142(4):843-6.

41. Amilasan AS, Ujje M, Suzuki M, Salva E, Belo MC, Koizumi N, et al. Outbreak of leptospirosis after flood, the Philippines, 2009. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(1):91-4.

42. Cediél N, Villamil LC, Romero J, Rentería L, De Meneghi D. Setting priorities for surveillance, prevention, and control of zoonoses in Bogotá, Colombia. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2013;33:316-24.

43. Organization WH. Research priorities for zoonoses and marginalized infections. *World Health Organization technical report series*. 2012(971):ix.

44. Ricaldi JNac, Swancutt MAb, Matthias MAc. Current trends in translational research in leptospirosis. [Miscellaneous Article]. *Current Opinion in Infectious Diseases* October. 2013;26(5):399-403.

45. Agampodi SB, Peacock SJ, Thevanesam V, Nugegoda DB, Smythe L, Thaipadungpanit J, et al. Leptospirosis outbreak in Sri Lanka in 2008: lessons for assessing the global burden of disease. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2011;85(3):471-8.

46. Ko AI, Galvao Reis M Fau - Ribeiro Dourado CM, Ribeiro Dourado Cm Fau - Johnson WD, Jr., Johnson Wd Jr Fau - Riley LW, Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *Salvador Leptospirosis Study Group. Lancet*. 1999;354(9181):820-5.

47. Molyneux D, Hallaj Z, Keusch GT, McManus DP, Ngowi H, Cleaveland S, et al. Zoonoses and marginalised infectious diseases of poverty: where do we stand. *Parasit Vectors*. 2011;4:106.
48. Lau CL, Smythe LD, Craig SB, Weinstein P. Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2010;104(10):631-8.
49. Hartskeerl RA, Smythe LD. The role of leptospirosis reference laboratories. (0070-217X (Print)).
50. Chen HI, Kao SJ, Hsu Y-H. Pathophysiological mechanism of lung injury in patients with leptospirosis. [Miscellaneous Article]. *Pathology* June. 2007;39(3):339-44.
51. Gouveia EL, Metcalfe J Fau - de Carvalho ALF, de Carvalho AI Fau - Aires TSF, Aires Ts Fau - Villasboas-Bisneto JC, Villasboas-Bisneto Jc Fau - Queiroz A, Queiroz A Fau - Santos AC, et al. Leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(3):505-8.
52. Adler B, Faine S. The Genus *Leptospira*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, editors. *The Prokaryotes*: Springer New York; 2006. p. 294-317.
53. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious diseases*. 2003;3(12):757-71.
54. Ren SX, Fu G, Jiang XG, Zeng R, Miao YG, Xu H, et al. Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. *Nature*. 2003;422(6934):888-93.
55. Levett PN. Usefulness of serologic analysis as a predictor of the infecting serovar in patients with severe leptospirosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2003;36(4):447-52.
56. Lehmann JS, Matthias MA, Vinetz JM, Fouts DE. Leptospiral pathogenomics. *Pathogens (Basel, Switzerland)*. 2014;3(2):280-308.
57. Maneewatch S, Sakolvaree Y, Saengjaruk P, Srimanote P, Tapchaisri P, Tongtawe P, et al. Monoclonal antibodies to LipL32 protect against heterologous *Leptospira* spp. challenge. *Hybridoma (2005)*. 2008;27(6):453-65.
58. Nalam K, Ahmed A, Devi SM, Francalacci P, Baig M, Sechi LA, et al. Genetic affinities within a large global collection of pathogenic *Leptospira*: implications for strain identification and molecular epidemiology. *PLoS one*. 2010;5(8):e12637.
59. Vijayachari P, Sehgal SC. Recent advances in the laboratory diagnosis of leptospirosis and characterisation of leptospire. *Indian journal of medical microbiology*. 2006;24(4):320-2.
60. Andrés Geovanny ZL. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LEPTOSPIROSIS EN HATOS BOVINOS DE PEREIRA, 2002-2005. *Investigaciones Andina*. 2009;11:109-17.
61. Awosanya EJ, Nguku P, Oyemakinde A, Omobowale O. Factors associated with probable cluster of leptospirosis among kennel workers in Abuja, Nigeria. *The Pan African medical journal*. 2013;16:144.
62. Leshem Eab, Meltzer Eab, Schwartz Eab. Travel-associated zoonotic bacterial diseases. [Miscellaneous Article]. *Current Opinion in Infectious Diseases* October. 2011;24(5):457-63.
63. Ochoa JE, Sánchez A, Ruiz I. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2000;7:325-31.
64. Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RD, Santana FS, Mohr S, Melendez AX, et al. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS neglected tropical diseases*. 2008;2(4):e228.

65. Toliver HLMD, Krane NKMD. Leptospirosis in New Orleans. [Review]. American Journal of the Medical Sciences February. 2014;347(2):159-63.
66. Monahan AM, Miller IS, Nally JE. Leptospirosis: risks during recreational activities. Journal of applied microbiology. 2009;107(3):707-16.
67. Narita M, Fujitani S, Haake DA, Paterson DL. Leptospirosis after recreational exposure to water in the Yaeyama islands, Japan. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2005;73(4):652-6.
68. Holt J, Davis S, Leirs H. A model of Leptospirosis infection in an African rodent to determine risk to humans: seasonal fluctuations and the impact of rodent control. Acta Trop. 2006;99(2-3):218-25.
69. Navinan MR, Rajapakse S. Cardiac involvement in leptospirosis. (1878-3503 (Electronic)).
70. Yusti D, Arboleda M, Agudelo-Flórez P. Factores de riesgo sociales y ambientales relacionados con casos de leptospirosis de manejo ambulatorio y hospitalario, Turbo, Colombia. Biomédica. 2013;33:117-29.
71. Vieira SR, Brauner JS. Leptospirosis as a cause of acute respiratory failure: clinical features and outcome in 35 critical care patients. The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases. 2002;6(3):135-9.
72. Unnikrishnan DMD, Pisharody RMDDM, Vijayalakshmy NM. Prognostic Factors in Leptospirosis: A Study From Kerala, India. [Article]. Infectious Diseases in Clinical Practice May. 2005;13(3):104-7.
73. Daher EF, Silva Gb Jr Fau - Karbage NNN, Karbage Nn Fau - Carvalho PC, Jr., Carvalho Pc Jr Fau - Kataoka RS, Kataoka Rs Fau - Silva EC, Silva Ec Fau - Magalhaes MM, et al. Predictors of oliguric acute kidney injury in leptospirosis. A retrospective study on 196 consecutive patients. (1660-2110 (Electronic)).
74. Mulla S, Chakraborty T, Patel M, Pandya HP, Dadhaniya V, Vaghela G. Diagnosis of leptospirosis and comparison of ELISA and MAT techniques. Indian journal of pathology & microbiology. 2006;49(3):468-70.
75. Brett-Major DM, Lipnick RJ. Antibiotic prophylaxis for leptospirosis. The Cochrane database of systematic reviews. 2009(3):CD007342.
76. Chowdhury FAMD, Khillan RMD, Htun WWMD, Carey JMD, Amdo TMD. Successful Treatment With Continuous Veno-Venous Hemofiltration (CVVH) of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) Caused by Jarisch-Herxheimer Reaction in a Patient With Severe Leptospirosis. [Report]. Infectious Diseases in Clinical Practice March. 2014;22(2):118-9.
77. Chusri S, McNeil EB, Hortiwakul T, Charernmak B, Sriairatchai S, Santimaleeworagun W, et al. Single dosage of doxycycline for prophylaxis against leptospiral infection and leptospirosis during urban flooding in southern Thailand: A non-randomized controlled trial. Journal of Infection and Chemotherapy. 2014;20(11):709-15.
78. Tulsiani SM, Lau CI Fau - Graham GC, Graham Gc Fau - Van Den Hurk AF, Van Den Hurk Af Fau - Jansen CC, Jansen Cc Fau - Smythe LD, Smythe Ld Fau - McKay DB, et al. Emerging tropical diseases in Australia. Part 1. Leptospirosis. (1364-8594 (Electronic)).
79. Durski KN, Jancloes M, Chowdhary T, Bertherat E. A global, multi-disciplinary, multi-sectorial initiative to combat leptospirosis: Global Leptospirosis Environmental Action Network (GLEAN). International journal of environmental research and public health. 2014;11(6):6000-8.
80. Cachay ER, Vinetz JM. A global research agenda for leptospirosis. (0022-3859 (Print)).

81. Argibay JC. Muestra en investigación cuantitativa. Subjetividad y procesos cognitivos. 2009;13:13-29.
82. Gleason PM, Boushey CJ, Harris JE, Zoellner J. Publishing Nutrition Research: A Review of Multivariate Techniques-Part 3: Data Reduction Methods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2015.
83. Assimakopoulos SFMDP, Fligou FMDP, Marangos MMDP, Zotou AMD, Psilopanagioti AMDP, Filos KSMDP. Anicteric Leptospirosis-Associated Severe Pulmonary Hemorrhagic Syndrome: A Case Series Study. [Report]. *American Journal of the Medical Sciences* October. 2012;344(4):326-9.
84. Urganci NMD, Kalyoncu DMD, Cayonu NMD, Erdem EMD, Yildirmak YMD, Yilmaz BMD. Acute Liver Failure, Autoimmune Hepatitis, and Leptospirosis: A Case Report. [Miscellaneous Article]. *Pediatric Emergency Care* October. 2011;27(10):963-5.
85. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. (1935-2735 (Electronic)).
86. Daher EF, Silva GB, Silveira CO, Falcao FS, Alves MP, Mota JA, et al. Factors associated with thrombocytopenia in severe leptospirosis (Weil's disease). *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*. 2014;69(2):106-10.
87. Assimakopoulos SFMDP, Michalopoulou SMDP, Papakonstantinou CMDP, Lekkou AMDP, Syrokosta IMDP, Gogos CMDP. A Case of Severe Sinus Bradycardia Complicating Anicteric Leptospirosis. [Report]. *American Journal of the Medical Sciences* June. 2007;333(6):381-3.
88. Astudillo Hernández M, González Rodríguez A, Batista Santiesteban N, Mirabal Sosa M, Menéndez Hernández J. Estudio seroepidemiológico de la leptospirosis humana en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2009;61:0-.
89. Helmerhorst HJ, van Tol EN, Tuinman PR, de Vries PJ, Hartskeerl RA, Grobusch MP, et al. Severe pulmonary manifestation of leptospirosis. *The Netherlands journal of medicine*. 2012;70(5):215-21.
90. Herrmann-Storck C, Saint-Louis M, Foucand T, Lamaury I, Deloumeaux J, Baranton G, et al. Severe leptospirosis in hospitalized patients, Guadeloupe. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(2):331-4.
91. Hoffmeister B, Peyerl-Hoffmann G, Pischke S, Zollner-Schwetz I, Krause R, Muller MC, et al. Differences in clinical manifestations of imported versus autochthonous leptospirosis in Austria and Germany. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010;83(2):326-35.
92. Sethi S, Sharma N, Kakkar N, Taneja J, Chatterjee SS, Banga SS, et al. Increasing trends of leptospirosis in northern India: a clinico-epidemiological study. *PLoS neglected tropical diseases*. 2010;4(1):e579.
93. Esen S, Sunbul M, Leblebicioglu H, Eroglu C, Turan D. Impact of clinical and laboratory findings on prognosis in leptospirosis. *Swiss medical weekly*. 2004;134(23-24):347-52.
94. Gancheva GI. Leptospirosis in elderly patients. *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*. 2013;17(5):592-5.
95. Panaphut T, Domrongkitchaiporn S, Thinkamrop B. Prognostic factors of death in leptospirosis: a prospective cohort study in Khon Kaen, Thailand. *International Journal of Infectious Diseases*. 2002;6(1):52-9.
96. Azevedo AF, Miranda-Filho Dde B Fau - Henriques-Filho GT, Henriques-Filho Gt Fau - Leite A, Leite A Fau - Ximenes RAA, Ximenes RA. Randomized controlled trial of pulse

methyl prednisolone x placebo in treatment of pulmonary involvement associated with severe leptospirosis. [ISRCTN74625030]. (1471-2334 (Electronic)).

97. Budiono E, Sumardi Fau - Riyanto BS, Riyanto Bs Fau - Hisyam B, Hisyam B Fau - Hartopo AB, Hartopo AB. Pulmonary involvement predicts mortality in severe leptospirosis patients. (0125-9326 (Print)).

98. Schneider MC, Jancloes M, Buss DF, Aldighieri S, Bertherat E, Najera P, et al. Leptospirosis: a silent epidemic disease. *International journal of environmental research and public health*. 2013;10(12):7229-34.

99. Covic A, Goldsmith DJ, Gusbeth-Tatomir P, Seica A, Covic M. A retrospective 5-year study in Moldova of acute renal failure due to leptospirosis: 58 cases and a review of the literature. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2003;18(6):1128-34.

100. de Oliveira TV, Marinho DP, Costa Neto C, Kligerman DC. [Climate variables, living conditions and the health of the population: leptospirosis in the city of Rio de Janeiro from 1996 to 2009]. *Ciencia & saude coletiva*. 2012;17(6):1569-76.

101. Ferro BE, Rodríguez AL, Mauricio P, Travi BL. Seroprevalencia de infección por *Leptospira* en habitantes de barrios periféricos de Cali. *Biomédica*. 2006;26:250-7.

102. Daher Ede F, Junior Silva GB, Vieira AP, Souza JB, Falcao Fdos S, Costa CR, et al. Acute kidney injury in a tropical country: a cohort study of 253 patients in an infectious diseases intensive care unit. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2014;47(1):86-9.

103. Gerasymchuk L, Swami A, Carpenter CF, Samarapungavan D, Batke M, Kanhere R, et al. Case of fulminant leptospirosis in a renal transplant patient. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2009;11(5):454-7.

104. Verde R, Iripino A, Balzanella A. Dimension Reduction Techniques for Distributional Symbolic Data. *IEEE transactions on cybernetics*. 2015.

105. Wang H, Chen M, Shi X, Li N. Principal Component Analysis for Normal-Distribution-Valued Symbolic Data. *IEEE transactions on cybernetics*. 2014.

106. Tassinari WS, Pellegrini Dc Fau - Sa CBP, Sa Cb Fau - Reis RB, Reis Rb Fau - Ko AI, Ko Ai Fau - Carvalho MS, Carvalho MS. Detection and modelling of case clusters for urban leptospirosis. (1365-3156 (Electronic)).

107. Zhang C, Wang H, Yan J. Leptospirosis prevalence in Chinese populations in the last two decades. *Microbes and Infection*. 2012;14(4):317-23.

108. Griffith ME, Hospenthal DR, Murray CK. Antimicrobial therapy of leptospirosis. [Miscellaneous]. *Current Opinion in Infectious Diseases* December. 2006;19(6):533-7.

109. Chirathaworn C, Inwattana R, Poovorawan Y, Suwancharoen D. Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014;4, Supplement 1(0):S162-S4.

110. Chirathaworn C, Kongpan S. Immune responses to *Leptospira* infection: roles as biomarkers for disease severity. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2014;18(1):77-81.