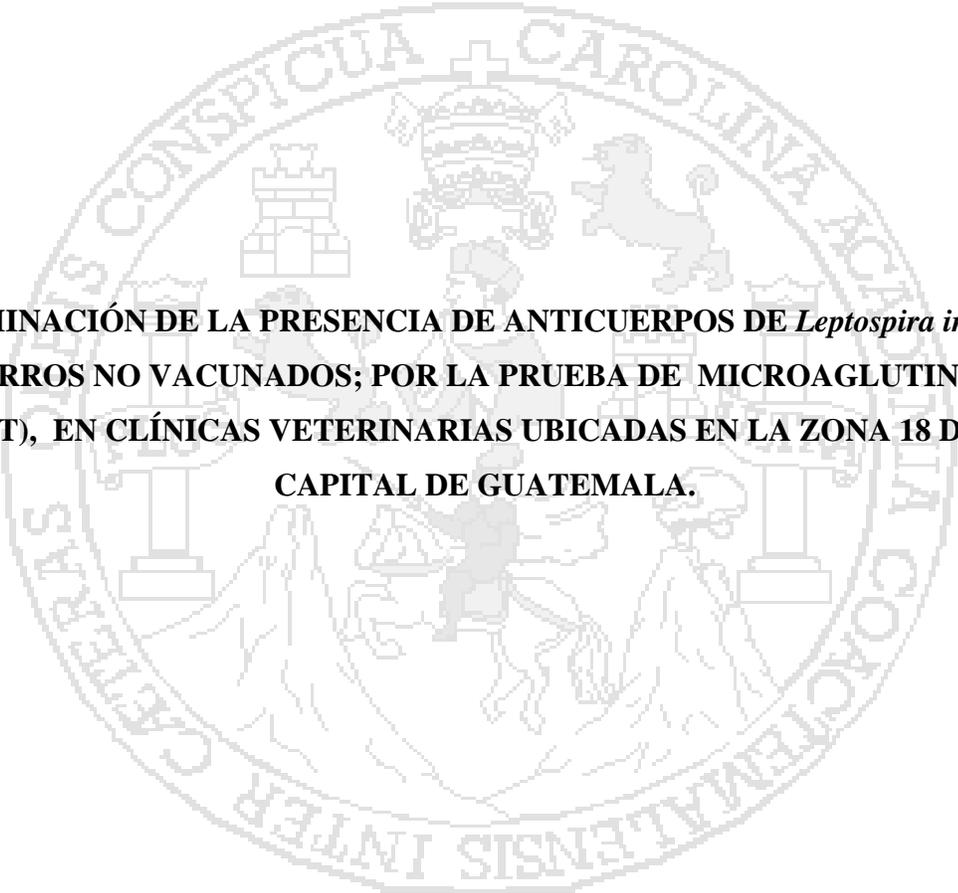


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE *Leptospira interrogans*,
EN PERROS NO VACUNADOS; POR LA PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN
(MAT), EN CLÍNICAS VETERINARIAS UBICADAS EN LA ZONA 18 DE LA
CAPITAL DE GUATEMALA.**

OSMUNDO DANIEL POLO DÍAZ

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DEL 2007

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE *Leptospira interrogans*,
EN PERROS NO VACUNADOS; POR LA PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN
(MAT), EN CLÍNICAS VETERINARIAS UBICADAS EN LA ZONA 18 DE LA
CAPITAL DE GUATEMALA.**

TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por

OSMUNDO DANIEL POLO DÍAZ

Al Conferírsele el grado académico de
Médico Veterinario

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DEL 2007

Junta Directiva
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad de San Carlos de Guatemala

Decano:	Lic. Zoot. Marco Vinicio De La Rosa Montepeque
Secretario:	Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
Vocal I:	Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras
Vocal II:	Mag. Sc. Fredy Rolando González Guerrero
Vocal III:	Med. Vet. Edgar Bailey
Vocal IV:	Br. José Abraham Ramírez Chang
Vocal V:	Br. José Antonio Motta Fuentes

Asesores:

Med. Vet. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
Med. Vet. Heliodoro Antonio García Lemus
Med. Vet. Carmen Grizelda Arizandieta Altán

Honorable Tribunal Examinador

En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE *Leptospira interrogans*,
EN PERROS NO VACUNADOS; POR LA PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN
(MAT), EN CLÍNICAS VETERINARIAS UBICADAS EN LA ZONA 18 DE LA
CAPITAL DE GUATEMALA**

Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
como requisito previo a optar el título profesional de

Médico Veterinario

TESIS QUE DEDICO

A Dios todo poderoso

A la Virgen de Candelaria

A mi bello país Guatemala

Al Municipio de Chiantla padacito de tierra que me vió nacer

A mi familia

A la honorable Universidad de San Carlos de Guatemala

A mí querida Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A mis asesores:

Med. Vet. Blanca Josefina Zelaya de Romillo

Med. Vet. Heliodoro Antonio García Lemus

Med. Vet. Carmen Grizelda Arizandieta Altán

Al Departamento de Microbiología

Al Departamento de Parasitología

Al Hospital Veterinario Ávila por su colaboración para la realización del presente estudio.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS	Por darme la vida, estar siempre a mi lado, darme fortaleza, sabiduría y haberme dado una gran familia llena de amor.
A MIS ABUELOS	Juana Martínez y Daniel Polo (QEPD). Por brindarme su apoyo.
A MI MADRE	Lily Díaz de Polo por brindarme su apoyo y enseñanzas.
A MI PADRE	Favio Polo Martínez por enseñarme el valor de la humildad, sencillez y brindarme su apoyo incondicional.
A MIS HERMANOS	Rolando, Carlos (Chiquis) por darme su apoyo cuando más lo he necesitado. Geovany y Lilian (Flores en su tumba)
A MI SOBRINO	Rolandito que Dios lo bendiga.
A MIS TÍOS Y PRIMOS	Por demostrarme su cariño y apoyarme.
AL GRUPO DE ACÓLITOS	Por brindarme su apoyo moral y espiritual, en especial a Arturo Armendáriz y Marta de Armendáriz.
AL CORO JUVENIL AMISTAD	Por brindarme su amistad en especial a Luis, Meme, Agustín, Keny, Wilvi, Juan (Flores en su tumba).
A MIS CATEDRÁTICOS	Por compartir su sabiduría y aprender a través de sus experiencias.
A MIS ASESORES	Por brindarme su tiempo y ayudarme a la realización del presente trabajo.

A MIS AMIGOS

Dr. Rafael Arriola, Yovany Valdez, Tukito, Lorena Pérez, Quike Alvarado en especial a: Maco Montúfar, Argelia Ruiz, Ligia Hernández, Dra. Lucy García, Dr. Fredy González, Jorge Mansilla, Vivian López, David Cano, Ing. Oliver Cano, Axel Cano (QEPD). Dr. Alfredo Escobedo, Ingra. Lourdes Escobedo, personas que me han brindado su amistad y su apoyo cuando más lo he necesitado. Y en general a mis compañeros de promoción.

A LAS FAMILIAS

Montúfar Cárdenas, Obín Meléndez, por brindarme su cariño y su amistad incondicional. Así mismo a Elvia Castillo.

Un agradecimiento sincero a aquellos catedráticos que un principio de la carrera me brindaron su amistad y apoyo, en especial a: Licda. Adela de Blanco, Ing. Agr. Zoot. Jorge Wellmann, Dr. Mario Llerena, Dr. Leonardo Estrada.

Al personal docente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en especial al Dr. Heliodoro García, Dr. Eduardo Rodríguez Zea, Dr. Ludwing Figueroa, Lic. Marco Vinicio de la Rosa, Dr. Jaime Méndez, Dra. Blanca de Romillo, Dra. Chang, Dr. Rolando Gudiel, Dra. Grizelda Arizandieta, Dr. Dennis Guerra, Dr. Fredy González, Dr. Juan Prem. Dr. Yeri Véliz. Dr. José Roma Batres (QEPD) gracias por sus valiosas enseñanzas, colaboración y amistad. Al personal administrativo en especial a Lic. Carlos Oseida, Vilma, Jerry, Víctor.

Al Dr. Edie Ávila y personal del Hospital Veterinario “Ávila” por brindarme su tiempo, interés en el estudio y amistad. Así mismo al Dr. Estuardo Ordóñez por su amistad y enseñanzas.

A mis padrinos:

Dr. Manuel Eduardo Rodríguez Zea

Dr. Alfredo Esaú Escobedo López

Ingra. Lourdes del Rosario Escobedo López

Dr. Edie Carol Ávila Kristansic

ÍNDICE

I	INTRODUCCIÓN.....	1
II	HIPÓTESIS	3
III	OBJETIVOS	4
3.1	Objetivo General	4
3.2	Objetivos Específicos.....	4
IV	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1	Definición de Leptospirosis.	5
4.2	Sinonimias	5
4.3	Historia.....	6
4.4	Taxonomía	6
4.5	Etiología	7
	A. Serogrupos y algunos serovares más representativos de <i>Leptospira interrogans sensu lato</i>	7
	B. Especies de Leptospiras	8
4.6	Epizootiología	9
4.7	Especies susceptibles	11
4.8	Distribución geográfica	12
4.9	Prevalencia	13
4.10	Vías de transmisión.	13
	a) Agua	13
	b) Orina.....	14
	c) Leche.....	14
	d) Tejido animal	14

e) Saliva	14
f) Vertical.....	14
4.11 Factores asociados a la infección dependientes del agente etiológico.....	15
4.12 Dependiente del hospedero	15
4.13 Patogenia.....	15
4.14 Sintomatología.....	19
a) Síntomas principales.....	19
b) Síntomas secundarios.....	19
4.14.1 Formas y curso de la leptospirosis	20
a) Curso latente o subclínico.....	20
b) Síndrome nefrítico-azotémico.....	20
c) Síndrome icterico.....	21
d) Síndrome gastrointestinal.....	21
e) Síndrome nervioso.....	21
4.15 Lesiones anatopatológicas	22
4.16 Diagnóstico.....	23
4.16.1 Diagnóstico epidemiológico.....	24
4.16.2 Diagnóstico clínico.....	25
4.16.3 Diagnóstico bacteriológico de laboratorio.....	25
4.17 Técnicas indirectas.....	25
a) Prueba de microaglutinación microscópica MAT	26
b) Prueba de aglutinación microscópica con antígeno muerto (MSAT)....	27
c) Fijación de complemento (FC).....	28
d) Elisa.....	28
e) Aglutinación macroscópica.....	28
f) Aglutinación en microcápsula	29
g) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	29
4.18 Técnicas directas.....	29
a) Observación en microscopio de campo oscuro.....	29
b) Técnicas de tinción inmunohistoquímica o tinción de Plata Warthin-Sta rry.....	29
c) Inmunofluorescencia.....	29

d) Inmunoperoxidasa.....	30
e) Marcado de partículas de oro	30
f) Técnicas de detección y estudio de ácidos nucleicos.....	30
g) Aislamiento.....	30
4.19 Algunos resultados de laboratorio clínico.....	31
4.20 Medios de cultivo	31
4.21 Diagnóstico diferencial	32
4.22 Profilaxis.....	32
4.23 Inmunoprofilaxis.....	33
4.24 Tratamiento.....	34
4.25 Pronóstico.....	35
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
5.1 Recurso humano	36
5.2 Materiales de laboratorio.....	36
5.3 Materiales de campo	37
5.4 Recurso de tipo biológico.....	37
5.5 Centros de referencia bibliográfica.....	37
5.6 Método microaglutinación en campo oscuro	38
5.6.1 Esquema para la prueba de microaglutinación en campo oscuro.....	38
5.7 Diseño experimental.....	39
5.7.1 Muestreo.....	39
5.8 Análisis estadístico.	39
5.8.1 Variables.....	39
5.8.2 Análisis de datos.....	40
• Estadística descriptiva.....	39
VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
VII CONCLUSIONES.....	43
VIII RECOMENDACIONES.....	44
IX RESUMEN.....	45
X BIBLIOGRAFÍA.....	47
XI ANEXOS.....	51

I. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa aguda y febril, causada por una bacteria del genero *Leptospira*, afectando a los animales salvajes y domésticos sirviendo como una fuente de infección para el hombre.

La epidemiología de esta enfermedad es muy compleja debido a que varía según la zona, llegando a alcanzar valores elevados de aparecimiento de brotes en épocas de inundaciones, principalmente en países tropicales y subtropicales, debido a sus condiciones climáticas como: precipitación pluvial, temperatura ambiente, humedad relativa, pH y composición del suelo.

Es de importancia económica y sanitaria, ya que causa pérdidas económicas de carácter reproductivo y productivo; además de ser una zoonosis.

Las fuentes de contaminación con el patógeno pueden ser múltiples incluyendo contacto con tejidos y orina de animales contaminados. Actualmente se ha incrementado la incidencia de la enfermedad en zonas urbanas debido a hospederos de mantenimiento principalmente ratas y ratones, que son portadores permanentes de la bacteria, favoreciendo la diseminación de la enfermedad a los animales domésticos.

En el perro la enfermedad se presenta de varias formas: subclínica, síndrome nefrítico-azotémico, síndrome icterico, síndrome gastrointestinal, y síndrome nervioso. Se debe de tomar en cuenta que la sintomatología varía de un caso a otro, sobre todo en relación con la gravedad de la enfermedad y la duración de los trastornos.

El diagnóstico puede ser complicado o difícil de acuerdo a las características intrínsecas y epidemiológicas de las *Leptospiras interrogans*. La serología en conjunto con los signos clínicos

ayudan a un diagnóstico más preciso; en donde el método de referencia es la microaglutinación (MAT), el cual se emplea para detectar anticuerpos en animales sospechosos o enfermos.

II. HIPÓTESIS

Existen anticuerpos de *Leptospira interrogans* en perros no vacunados en clínicas veterinarias del área de la zona 18 de la capital de Guatemala.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

Contribuir al estudio de la leptospirosis en perros no vacunados contra *Leptospira interrogans*, en clínicas veterinarias del área de la zona 18 de la capital de Guatemala; por la prueba de microaglutinación (MAT).

3.2 ESPECÍFICOS

- ▶ Determinar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* por la prueba de microaglutinación (MAT).
- ▶ Determinar las serovariedades más frecuentes de *Leptospira interrogans* en el área de estudio.
- ▶ Determinar la asociación entre; edad, sexo, raza y tipo de alimentación, ante la presencia de *Leptospira interrogans*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 DEFINICIÓN DE LEPTOSPIROSIS

Es una enfermedad infectocontagiosa aguda y febril, que afecta sobre todo a los animales silvestres y domésticos que sirven como fuente de infección para el hombre, esta enfermedad presenta una epidemiología compleja y de distribución cosmopolita, recientemente la aparición de epidemias urbanas emerge como un problema de salud pública en países en desarrollo en la que varias especies de animales, principalmente los roedores, actúan como hospederos de mantenimiento de muchos serovares en todo el mundo, siendo el hombre y los animales de explotación económica y social, hospederos accidentales (12, 28).

4.2 SINONIMIAS

La leptospirosis también se conoce por otros nombres, de acuerdo a su etiología o ubicación geográfica: enfermedad de Weil (*L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae); Fiebre de los arrozales (*L. interrogans* serovar Bataviae); enfermedad de las heneficadoras; enfermedad de los porqueros (*L. interrogans* serovar Pomona); enfermedad de los manipuladores de pescados, ictericia enzootica; enfermedad de Stuttgart (*L. interrogans* serovar Canícola en Europa); ictericia hemorrágica; ictericia infecciosa; agua roja; fiebre de los siete días (*L. interrogans* serovar Hebdomadis en Japón); fiebre otoñal japonesa (*L. interrogans* serovar Autumnalis); fiebre de los ratones; tifus canino; fiebre de cieno, fiebre de los pantanos (*L. interrogans* serovar Grippotyphosa en los trópicos) fiebre del agua; fiebre de los cosechadores; fiebre de los campos, enfermedad del husmeo (7, 30).

4.3 HISTORIA

Hofer (1852) describió una enfermedad de los perros antes desconocida que llamó Tyfus Seu Febris Nervosa Canum; Keff cambió el nombre de esta enfermedad por la enfermedad de los perros de Stuttgart sin embargo, su etiología fue aclarada por Lukes, el cual demostró que el agente era una espiroqueta.

La primera descripción de las Leptospiras como agentes productores de enfermedad en los animales la realizaron Klarenbeck y Schuffner, quienes demostraron que la *Leptospira interrogans* serovar Canícola era el agente etiológico de la enfermedad Stuttgart en los perros (7, 30).

4.4 TAXONOMÍA

Division: Procariontes

Clase: Schizomicete

Orden: Spirochaetales

Familia: Leptospiraceae

Género:

Leptospira

Leptonema

Turneria

Las leptospiras son espiroquetas gram negativas, aerobias obligadas ó microaerofílicas, flexibles, muy finas, helicoidalmente enrolladas, y de gran movilidad, ambos extremos semicirculares de forma de gancho, aunque a veces uno de los dos extremos está doblado y el otro se mantiene recto o ambos rectos. Están compuestas por un cilindro protoplásmico enredado en un filamento axial central recto. Conforman la envoltura externa lipopolisacárido y mucopéptido antigénico. El nombre leptospira procede del griego leptos (fino) y spira (espiral) (2,14,24).

4.5 ETIOLOGÍA

Las leptospiras pertenecen a la familia Leptospiraceae que a su vez está formada por dos géneros, *Leptospira* y *Leptonema*. El género *Leptospira* fue dividida en dos especies, *L. interrogans*, que incluye todas las *Leptospiras* patógenas y la *L. biflexa*, especie en la que engloban todas las saprófitas (30, 31).

A) Serogrupos y algunos serovares más representativos de *L. interrogans sensu lato*.

Serogrupos	Serovar(es)
Australis,	Australis, Bratislava, Lora
Autumnales	Autumnalis, Forbragg, Bim, Weerasinghe
Ballum	Ballum, Aroborea
Bataviae	Bataviae
Canicola	Canicola
Celledoni	Celledoni
Cynopteri	Cynopteri
Djasiman	Djasiman
Grippotyphosa	Grippotyphosa, Canalzonae, Ratnapura
Hebdomadis	Hebdomadis, Jules, Kremastos
Hurstbridge	Hurstbridge
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Lai,
Zimbabwe	
Javanica	Javanica, Poi
Louisiana	Louisiana, Lanka
Manhao	Manhao
Mini	Mini, Georgia, Swajizak
Panama	Panama, Mangus
Pomona	Pomona
Pyrogenes	Pyrogenes
Ranarum	Ranarum
Sarmin	Sarmin

Sejroe	Sejroe, Saxkoebing, Hardjo
Semaranga	Patoc
Shermani	Shermani
Tarassovi	Tarassovi

Los serogrupos no poseen taxonomía propia ni se encuentran definidos, pero tienen importancia epidemiológica. En la actualidad el comité internacional de taxonomía de *Leptospira* (ILS) aprobó la nomenclatura para serovares de *Leptospira* en donde el género y especie deben ser utilizados, seguido del serovar iniciando con letra mayúscula; ejemplo *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae (2,30).

Actualmente la nueva clasificación del género *Leptospira* se inclina sobre las relaciones genéticas del organismo por ejemplo, análisis de endonucleasa de restricción de ADN cromosomal. Hay actualmente siete genoespecies, 28 serogrupos, numerosos serovares y genotipos (24).

En el año 2001 se describió por biología molecular siete especies patógenas del género *Leptospira*: *L. interrogans* en sentido estricto, *L. borgpetersinii*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilli*, *L. kirschneri* y *L. alexanderi*; para el año 2,005 fueron adicionadas tres especies más siendo: *L. meyeri*, *L. fainei*, *L. inadai*. (2,24).

B) ESPECIES DE LEPTOSPIRAS

Patógenas

L. interrogans

L. borgpetersenii

L. noguchii

L. santarosai

L. alexanderi

L. kirschneri

L. meyeri

Saprophytas

L. biflexa

L. wolbachii

L. parva

L. fainei

L. Weilii

L. inadai

4.6 EPIZOTIOLOGÍA

La leptospirosis es considerada la zoonosis de gran distribución mundial. El estudio de la epidemiología es complejo debido al gran número de factores que influyen en su presentación, lo cual dificulta la extrapolación entre las diferentes regiones geográficas y obliga el conocimiento individualizado de cada continente, país, región o zona; distintas cepas patógenas de *Leptospira* pueden afectar potencialmente a los mamíferos, donde algunos actuarán como hospederos de mantenimiento o accidental, en función del serovar considerado (2,8,10,24).

El perro sirve como vector importante de contaminación debido a la conducta de la especie de marcar sus territorios con orina, lo cual permite que la leptospira se disemine fácilmente y en ocasiones, lleva la contaminación directamente al alimento y agua para consumir; o incluso en algunos casos, estos animales comparten un mismo espacio, lo que facilita aún más, la contaminación directa del patógeno (9,11,30).

Las prevalencias y tasas de incidencias publicadas para esta enfermedad en el mundo varían notablemente según la zona y pueden llegar a alcanzar valores elevados en tiempos de inundaciones. Los países tropicales y subtropicales son los más afectados por las condiciones climáticas como: precipitación pluvial, temperatura ambiente, humedad relativa, pH, estructura y la composición del suelo (7,30, 31).

Su distribución es mundial, producida por cepas patógenas del género *Leptospira*, incluida en las especies *L. interrogans*, las cuales poseen las mismas características morfológicas y fisiológicamente uniforme, pero que serológica y epidemiológicamente son muy diversas caracterizadas por un estadio septicémico y otro lesional (1,11,13,24,31).

Particularmente, son muy sensibles a la desecación, luz solar directa, pH ácido y alcalino, ya que un pH menor de seis o mayor de ocho tiene carácter inhibitorio sobre el microorganismo (6, 11, 13,16,22, 23,30).

Son muy sensibles a la solución hipertónica de sal común 2.8%, bilis, putrefacción y a la mayoría de los antibióticos in vitro o in vivo como: penicilina, estreptomycin, aureomicina y los grupos macrólidos (30,31).

Si la orina de por sí tiene una reacción ácida, las *Leptospiras* presentes en ella, pronto sucumben; esta probabilidad es la principal razón por la cual la orina humana no disemina la infección, así también la orina de ratas, mientras no sea diluida no tiene mucho riesgo (1, 2,30,31).

Las leptospiras viven en orina débilmente básica como en la del cerdo, la vaca y el equino durante diferente período, sin embargo, en orina ácida como la de los carnívoros mueren rápidamente. Para la supervivencia en el medio ambiente necesita una humedad alta del suelo, una temperatura de 25 °C. con agua de un pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de materia orgánica. En un suelo con todas estas condiciones, pueden vivir hasta 183 días, mientras que en suelos secos sólo 30 minutos (30,31).

En agua estéril pueden vivir hasta tres meses o más, en aguas alcalinas semanas, en lagunas varias semanas, en orina alcalina más de 16 días y en nitrógeno líquido 32 meses (30,31).

Se ha demostrado que las leptospiras pueden sobrevivir: nueve días en músculo, 13 días en los riñones, 12 días en el hígado y ocho días en el bazo luego de la muerte del animal (30).

Se han incluido las garrapatas en este campo ya que, se pudo hallar que las *Leptospiras* eran capaces de sobrevivir 518 días en el interior de *Ornithodoros turicata* y por lo menos 26 días en el intestino de moscas no hematófagas. Se desconoce la importancia de este hecho (14, 30).

Se debe tener presente que las *Leptospiras* no se multiplican fuera de la especie animal huésped, pero sobreviven bien en un ambiente con óptimas condiciones (14,30).

4.7 ESPECIES SUSCEPTIBLES

De mayor importancia económica son: bovinos, equinos, cerdos, ovejas y cabras; también afecta en mayor o menor grado a otros animales domésticos y salvajes como: perros, gatos, venados, mofetas, mapaches, zarigüeyas, musarañas, canguros, mangostas, murciélagos, peces, reptiles, ranas, conejos, zorros, erizos, chacales, ratas y ratones (11,24,30,35).

La población de mantenimiento será aquella especie animal que actúa como un reservorio continuo de un serovar, en un ecosistema determinado (30,31).

La complejidad de la epidemiología de la leptospirosis es basada en una o varias especies de mamíferos domésticos o salvajes, que actúan de hospederos de mantenimiento de cada serovar o serogrupo de *Leptospira* patógena. Donde una especie animal puede ser reservorio de varios serovares y diferentes especies animales serlo de un mismo serovar (1,11,13,30).

Los hospederos de mantenimiento se caracterizan por los siguientes elementos:

- Gran receptividad a la infección por el serovar frente al que mantiene como hospedaderos (la dosis infectiva es menor),
- Relativa baja patogenicidad del microorganismo en el hospedero,
- Presencia de infección renal con leptospiuria prolongada,
- Infección crónica,
- Transmisión eficaz de la infección a los animales de la misma especie por contacto directo, y
- En algunos hospederos, se mantiene la *Leptospira* en el tracto genital.

La transmisión de la infección entre hospederos de mantenimiento se realiza independientemente de las condiciones climáticas y ambientales. Sin embargo, en el caso de la transmisión entre hospederos de mantenimiento y accidental o entre accidentales se hace

necesaria la supervivencia del agente en el medio ambiente para poder efectuar la infección (2, 30).

Algunas especies silvestres actúan como hospederos de mantenimiento en algunos países europeos:

- Rata gris (*Rattus norvegicus*) de *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae,
- Rata negra (*Rattus rattus*) de *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae,
- Topillo (*Microtus arvalis*) de *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa,
- Erizo (*Erinaceus europaeus*) de *Leptospira interrogans* serovar Bratislava y *Leptospira interrogans* serovar Australis, y
- El ciervo y el mapache como reservorios silvestres de *Leptospira interrogans* serovar Pomona.

En general los hospederos de mantenimiento principales son:

- En ratas el serogrupo *icterohaemorrhagiae* y *ballum*,
- En cerdos el serogrupo *pomona*, *tarassovi* y *bratislava*, y
- En perros el serogrupo *canícola*.

El perro puede ser accidental de *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae hay numerosos serotipos diferentes, siendo los que más comúnmente afectan al perro: *Leptospira interrogans* serovar Canicola, *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa, *Leptospira interrogans* serovar Pomona y *Leptospira interrogans* serovar Bratislava (6, 14, 20).

4.8 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La leptospirosis es una enfermedad cosmopolita. Teóricamente, cualquier mamífero puede infectarse por cualquier serovar; pero en realidad, solo algunos serovares pueden ser considerados como endémicos o enzoóticos en una región. Serovares de *Leptospira interrogans* como: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Grippotyphosa se consideran de distribución mundial (9,14,20,30).

4.9 PREVALENCIA

La prevalencia de la enfermedad varía notablemente entre los distintos continentes y países, e incluso, entre las diferentes regiones de un mismo país, así como, entre las especies y edades de éstas.

Es considerada como una enfermedad ocupacional, debido a que se presenta en: granjeros, médicos veterinarios, trabajadores de mataderos, médicos de inspección de carne, trabajadores de control de roedores (2,13,14,24,30).

4.10 VÍAS DE TRANSMISIÓN

Lo constituyen la orina de animales infectados, asintomáticos y portadores; el agua, leche, forrajes, pastos, tejidos de animales, descargas posparto, saliva, semen e instrumentos quirúrgicos, así como vectores, siendo los roedores (ratas y ratones) los más importantes por su condición de reservorio natural (1,13,23,30).

a) Agua: para que ocurra la infección, las leptospiras necesitan una supervivencia en este medio, la cual tiene una vinculación tremenda con la humedad relativa alta y la temperatura a su punto óptimo en el lugar de aparición. La temperatura del agua tiene un efecto beneficioso, ya sea baja o alta, lo cual permite que las leptospiras puedan sobrevivir y mantener su viabilidad en el agua durante 22 días, siendo ésta la fuente más común de contaminación en el perro. En el barro la viabilidad es de cinco a seis días (14, 24,30).

Como las infecciones por este agente ocurren principalmente en zonas con abundante cantidad de agua, áreas pantanosas o de campo anegado; los brotes son frecuentes en épocas de lluvia y en climas templados, no todas las aguas son favorables para la supervivencia de las leptospiras, ya que éstas, también se ven afectadas por el pH y la salinidad (9,30).

b) Orina: muchas infecciones en última instancia se deben a la contaminación con la orina de los animales enfermos, portadores o reservorios; siendo el pH el factor determinante de la

supervivencia de las leptospiras en la orina. Ellas no pueden sobrevivir en pH ácido, algunos autores plantean que no son fuentes de excelencia para la infección al no ser que sean diluidas por agua. Tienen importancia las gotas de orina que se dispersan a varios metros del animal que orina pudiendo penetrar las leptospiras procedentes de animales con leptospiuria, tanto por inhalación como por vía conjuntival (14,20,30,31).

c) Leche: muchos de los animales infectados, eliminan leptospiras a través de la leche (30,31).

d) Tejido animal: el tiempo de supervivencia de las leptospiras en los tejidos es dependiente del pH postmortem y el efecto antagónico que supone la contaminación con otras bacterias (14,30).

e) Saliva: desde que fue comprobada la infección en el humano tras mordeduras de animales como la rata o el perro, la saliva ha sido considerada como posible fuente de infección. También se sospecha de los lamidos de los perros a los niños con la lengua contaminada. Además la costumbre de los perros de lamer los genitales y otras áreas corporales en animales de su misma especie, puede permitir también la transmisión de la infección. Es por ello que la incidencia se presenta más en machos, posiblemente por sus hábitos de olfateo y lamido de orina (20).

La forma importante y más frecuente para la infección humana y animal es el contacto de la piel o las mucosas con aguas o barro contaminados con orina (1,30).

Los pastos contaminados juegan un papel importante para la transmisión intra e interespecie (30,31).

f) Vertical

Transplacentaria: el agente puede atravesar la placenta durante el período de leptospiremia (30).

4.11 FACTORES ASOCIADOS A LA INFECCIÓN DEPENDIENTES DEL AGENTE ETIOLÓGICO

a) Resistencia a condiciones medioambientales: la supervivencia del agente depende de la existencia de una humedad relativa alta, temperatura óptima entre 24-25 °C., pH neutro o ligeramente alcalino y presencia de materia orgánica en condiciones indispensables para la existencia de la infección en una región geográfica. Las áreas con lagunas, riachuelos (bebederos en general) donde se congregan gran número de animales, son las que más frecuentemente están implicadas en los focos de leptospirosis, existen diferencias entre serogrupos o serovares como *L.interrogans* serogrupo pomona, que tiene la capacidad de sobrevivir mejor en zonas áridas que *L. interrogans* serovar Hardjo.

Estos factores ambientales propician la existencia de una cierta estacionalidad, siendo más frecuente en otoño en países templados y en invierno en los países tropicales y subtropicales.

b) Capacidad infectante: los estudios han demostrado que la capacidad infectante y la patogenicidad varían en función del serogrupo o serovar en cuestión (1,13,30,31).

4.12 DEPENDIENTE DEL HOSPEDERO

Estado inmunitario: en sentido general, un animal expuesto previamente, es refractario a la reinfección de este mismo serovar aunque los niveles de anticuerpos en sangre hayan bajado. También tiene relación con el nivel de inmunoglobulinas IgA e IgG, ya que el aumento de éstas en la orina hace disminuir la cantidad de leptospira que se elimina en ella (14,30).

4.13 PATOGENIA

Las leptospiras son virulentas por variedad de factores que les hace ser muy invasivas, principalmente por: la producción de enzimas, proteínas de superficie (OSP) que le permiten adjuntarse a la fibronectina y colágeno del huésped, los factores mecánicos como la motilidad por excavación, y su tropismo orgánico; causas que se han sugerido como mecanismos por los que

éstas alcanzan sitios normalmente protegidos del organismo, como el líquido cefalorraquídeo (LCR) y el ojo (7,30).

Estos mecanismos permiten la invasión a través de las membranas mucosas o piel húmeda y ablandada. Se mencionan otros factores adicionales que incluyen la actividad endotóxica entre ellos la catalasa, hialuronidasa, el lipooligosacarido (LOS) de *Leptospira* y su acción sobre: monocitos, liberación de linfocinas, desencadenando la reacción de coagulación intravascular diseminada (CID), incluyendo hemorragia y sangrados anormales, trombocitopenia y agregación plaquetaria. El acúmulo de lipooligosacarido presenta la actividad del lípido A de lipooligosacarido y sus efectos tóxicos. El lipooligosacarido y sus efectos protectores contra los efectos bactericidas del suero normal provoca varias hemolisinas y su acción causando hemoglobinuria, anemia hemolítica, y daños tisulares; esfingomielinasa C, fosfolipasa A y otras citotoxinas. Entre factores tóxicos se puede mencionar hemolisina, fibrolisinas, lipasas (7,14,24).

La *Leptospira interrogans* serovar Icterohemorrhagiae usualmente causa fiebre, hemorragia, anemia, e ictericia; mientras que una severa insuficiencia renal aguda o hepatitis crónica activa, fibrosis hepática, es común por *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa, resultando en una enfermedad mucho más severa que aquella causada por *Leptospira interrogans* serovar Pomona. Las infecciones por *Leptospira interrogans* serovar Pomona son a menudo subclínicas, pero es común un estado portador crónico. Los perros parecen no ser susceptibles a la hemólisis por la *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa y de la *Leptospira interrogans* serovar Pomona. La infección del perro con el huésped adaptado *Leptospira interrogans* serovar Canícola comúnmente resulta en una nefritis intersticial crónica (4, 24,18).

Los perros jóvenes no vacunados, o cuyas madres no fueron vacunadas, se encuentran en un mayor riesgo de enfermedad severa y muerte, que podría ocurrir debido a una septicemia fulminante hiperaguda ó anemia hemolítica. Los perros de mayor edad previamente vacunados, que luego se infectan naturalmente con una cepa homóloga al serovar de la vacuna generalmente tienen signos clínicos mínimos (18,24).

Durante el período de invasión tisular podría ocurrir necrosis hepática aguda, capilar y daño de células endoteliales, dándose como consecuencia hemorragias petequiales que podrían

ocurrir en el parénquima renal junto con daño vascular, nefritis intersticial focal, anoxia anémica, y nefrosis hemoglobinúrica. A esta altura puede ocurrir la muerte debido a la falla renal causada por una nefritis intersticial (4,24).

Hacia el final del estadio de bacteremia, de siete a nueve días post-infección, la fiebre normalmente baja y las leptospiras desaparecen del torrente sanguíneo a medida que emergen los anticuerpos. La recuperación ocurre a medida que se incrementan los anticuerpos en sangre en un transcurso de siete a ocho días de la infección y la bacteremia finaliza; la velocidad de recuperación depende del grado de daño visceral. Las leptospiras que se han localizado en los túbulos renales, ojo, o tracto reproductivo están protegidas de los efectos bactericidas de los anticuerpos; por lo tanto una leptospiruria persistente puede desarrollarse, con episodios periódicos de fiebre. La localización postsepticémica de las leptospiras en los riñones está asociada con inflamación intersticial focal difusa de ese órgano y con degeneración tubular transitoria aguda (9,18,24).

La emisión de orina infectada puede durar por períodos prolongados, pero los niveles de anticuerpos eventualmente declinan, ya que las leptospiras protegidas en los túbulos renales no estimulan la producción de anticuerpos (24).

Eventualmente, los perros recuperados pero excretando leptospiras pueden ser seronegativos al analizarse, sin embargo los organismos continúan multiplicándose y persisten (24).

El agente se difunde a partir del punto sin dejar lesión, invadiendo el torrente sanguíneo, multiplicándose en éste y en el parénquima hepático durante un período de incubación de dos a treinta días según sea el caso, circulando en la sangre provocando leptospiremia por al menos siete días produciendo pirexia, anorexia, daño funcional de algunos órganos como hígado, bazo o cerebro y eliminación de leptospiras en la leche (9,30).

La aparición de anticuerpos específicos detectables es aproximadamente a los diez días de la infección junto a la acción leptospiricida de las betamacroglobulinas del suero y la acción del complemento y la lisozima, hacen que desaparezcan las leptospiras en el torrente sanguíneo

pero, se localizan en diferentes órganos, tales como: la cámara anterior del ojo, las meninges, el riñón donde los anticuerpos tienen poco acceso y en el útero grávido (14, 24,30).

Los signos de la enfermedad aguda generalmente coinciden con la fase de leptospiremia donde estos pueden atribuirse a la existencia de determinados factores de patogenicidad bacteriana, como la hemolisina y las lipasas. Estos factores son más frecuentes en determinados serovares como: *Leptospira interrogans* serovar Pomona o *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa, más tarde se le suma la acción de los anticuerpos situados en la superficie eritrocitaria que sensibilizan al eritrocito, causando su rotura dándose la anemia (14, 24,30).

Durante la fase de leptospiremia ocurre una reacción inflamatoria en la glándula mamaria dando como resultado el apareamiento de mastitis. La hemólisis producida por la hemolisina y por el daño hepatocelular se le atribuye a las causas isquémicas y tóxicas provocando la ictericia; que en el perro es inducida por la destrucción hepatocelular. Tras esta fase, las leptospiras se sitúan en el riñón, lugar de difícil acceso para los anticuerpos, la ubicación en los túbulos renales se ve facilitada por la producción de ureasa por parte de las leptospiras. Posteriormente se multiplican en la luz de los túbulos contorneados renales, donde la nefritis está provocada por el daño capilar y la producción de determinadas endotoxinas y hemolisinas, que terminan por producir anoxia y nefrosis, provocando hemoglobinuria por la posible isquemia debida a la agregación intravascular de hemoglobina que obstruye los capilares y por la presencia de mononucleares infiltrados por una reacción autoinmune (7, 18,24).

La fase de leptospiuria puede tener carácter continuo o intermitente y de duración variable según la especie afectada. En donde el perro puede tener una leptospiuria hasta de seis meses o más y los roedores toda la vida (14, 24,30).

La localización de agentes patógenos en el hígado y humor acuoso complica el cuadro y el desenvolvimiento clínico, también el aborto es causa de la fiebre y la reacción sistémica general, por el paso de hemolisina y otras toxinas a través de la placenta, destruyendo los eritrocitos fetales y los cambios degenerativos microscópicos en la placenta interfieren en el intercambio fisiológico entre la madre y el feto, pudiendo originar la muerte fetal (14, 24,30,34).

La penetración de las leptospiras por la mucosa gastroentérica es poco probable debido a su gran sensibilidad a los ácidos y la bilis (7).

4.14 SINTOMATOLOGÍA

Varía mucho de un caso a otro, sobre todo en relación con la gravedad y la duración de los trastornos, estos pueden dividirse en dos clases:

a) Síntomas principales: se dan trastornos del estado general, variaciones de la temperatura corporal, congestión de los vasos episclerales, alteraciones gástricas y nefritis que duran poco tiempo.

b) Síntomas secundarios: uremia, ictericia, trastornos gastrointestinales, disturbios nerviosos aparecen sólo en ciertos casos; a veces raramente se unen a ellos complicaciones como conjuntivitis purulenta, rinitis, bronconeumonía. El estado general está siempre perturbado. Estos trastornos pueden ser leves junto con vómitos o la diarrea, cuando hay ictericia y uremia el estado del animal se complica. Es corriente observar el dorso arqueado, que puede deberse a inflamación muscular, y el vientre recogido por hepatalgia, neuralgia y al principio de la infección las mialgias simulan una paresia del tercio posterior. Durante el estadio leptospirémico se produce un acceso febril breve de 36 a 48 horas, seguido de temperatura normal y de hipotermia en los casos graves como uremia e ictericia (7,14).

La conjuntivitis resultante no alcanza apenas desarrollo; la esclerótica está a menudo congestionada en la uremia o en la debilidad cardiaca y teñida de amarillo limón o anaranjado en la ictericia, pudiendo presentar hemorragias. Los trastornos circulatorios suelen ser discretos; los soplos cardíacos perceptibles en el curso de la enfermedad, son la consecuencia de endocarditis y endarteritis necrosantes circunscritas o de la anemia. El aparato respiratorio no suele presentar tampoco trastornos importantes; la disnea y los ruidos respiratorios patológicos indican complicaciones bronconeumonias de hemorragias pulmonares o de neumonía hipostática (7,14).

El aparato digestivo sufre trastornos regularmente como la faringitis y la amigdalitis, a veces con hemorragias petequiales, que son síntomas precoces frecuentes. Ya durante la leptospiremia hay anorexia, vómitos y muchas veces también diarrea; estos pueden ser pasajeros o persisten en casos de uremia e ictericia, siendo entonces las deposiciones más o menos sanguinolentas. El aumento de la motilidad intestinal origina invaginaciones en los cachorros (4,7,9,14,30).

Los trastornos hepáticos aparecen tempranamente, casos graves se manifiestan por ictericia, la colestasia intrahepática se da por inflamación del hígado que puede ser tan completa que el color de las heces cambia de pardo a gris (7).

La mucosa bucal presentan algunas veces el borde de la encía ligeramente hemorrágica, petequias y úlceras en la porción que tapiza los labios, sobre todo en la zona de contacto con los colmillos. No es infrecuente que la punta de la lengua aparezca seca y de un color entre pardo rojizo y castaño (7).

Los síntomas renales aparecen precozmente y persisten mucho tiempo; la oliguria inicial se convierte pronto en poliuria. Los vómitos y la diarrea conducen a debilitar el organismo por pérdida de peso, de electrolitos y agua; dándose la disminución de la turgencia de la piel y el pelo se pone brillante, erizado y escamoso. Se da la hiponatremia e hipocloremia y al principio la hipocaliemia seguida de hipercaliemia (4,7,14,30).

Los trastornos nerviosos son raros y más aún las afecciones oculares (7,14).

4.14.1 FORMAS Y CURSO DE LA LEPTOSPIROSIS.

a) Curso latente o subclínico: es el más frecuente donde los trastornos clínicos pueden faltar por completo.

b) Síndrome nefritico-azotémico: marcado por los síntomas renales y a menudo por la uremia, comienza con fiebre repentina de corta duración que pronto baja a una temperatura normal,

apatía, inapetencia, inyección de los vasos episclerales, amigdalitis, vómitos y diarrea. Suele ser agudo o subagudo. Pueden producirse úlceras en la boca y hemorragias petequiales. La curación deja como residuo una alteración renal morfológica permanente. Se discute si el estadio agudo va seguido o no de una leptospirosis crónica con esclerosis renal progresiva y muerte por uremia al cabo de meses o años (7).

c) Síndrome ictérico: afecta únicamente a casos aislados. Es más frecuente en los animales jóvenes que en los adultos; en el curso sobreagudo y más a menudo agudo y subagudo. La ictericia aparece precozmente, a veces ya durante el estadio febril inicial (7).

d) Síndrome gastrointestinal: el complejo sintomático varía considerablemente de un caso a otro, los síntomas más comunes son apatía, más o menos manifiesta tonsilitis, inyección de los vasos episclerales, vómitos, diarrea, se puede dar intususcepciones intestinales que quizá se relacionen con inflamación gastrointestinal. La temperatura puede ser ya normal o estar elevada. Los síntomas renales y hepáticos son discretos, la cifra de urea es con frecuencia moderadamente alta o normal (7,9,14).

e) Síndrome nervioso: se han documentado trismos, accesos epileptiformes, ataxias, fenómenos de excitación psíquica, mielitis; en perros jóvenes con síntomas leves de nefritis. Se debe de considerar estos síntomas con la enfermedad de moquillo canino (7).

Los síntomas son variables, desde la ausencia total de signos clínicos hasta un síndrome icterohemorrágico, con la instalación repentina de hemorragia con fiebre de tres a cuatro días, seguida por rigidez y mialgia en miembros posteriores, hemorragia en la cavidad bucal, con tendencia a necrosis y faringitis; en una etapa posterior puede haber gastroenteritis hemorrágica y nefritis aguda (7,9,14).

En la forma subaguda o crónica se desarrolla vómito, inapetencia, postración y anemia debido al fallo renal progresivo (7).

Cuando la infección se produce en un huésped adaptado a un serovar de *Leptospira*, el animal sólo sufre manifestaciones reproductivas y se convierte en un huésped de mantenimiento o reservorio eliminando las leptospiras a través de la orina (2).

4.15 LESIONES ANATOPATOLÓGICAS

Las lesiones que aparecen en la leptospirosis no son patognomónicas, por lo que no puede basarse en ellas para el diagnóstico de la enfermedad, las lesiones poco observables dependen del serovar y órganos implicados. El cadáver del animal revela ictericia manifiesta, necrosis de la piel, de la cavidad nasal y bucal como también ulceraciones (14,30).

En la necropsia se observa, acúmulo de líquido serogelatinoso rojizo en el tejido subcutáneo, hígado hipertrófico y friable, con contornos interlobulares pronunciados y palidez hepática, o color amarillento, vesícula biliar llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro (14,30).

El bazo de tamaño normal o encogido de consistencia ligera, de color amarillento con lesiones muy variables desde blanco amarillentas en la superficie o focos hemorrágicos (14,30).

El músculo cardíaco degenerado y en algunos puntos hay hemorragias. Los riñones están edematosos de color rojizo o pardo oscuro con nefritis intersticial, lesiones necróticas e ictéricas por toda la superficie. La capsula renal puede estar adherida a la superficie y son comunes las hemorragias subcapsulares (14, 18,30).

Las vías respiratorias pueden estar edematosas con congestión pulmonar y puede haber infiltrados neumónicos difusos; es común encontrar hemorragias equimóticas en la superficie pleural (14).

La vejiga, llena de orina turbia o rosada, los ganglios tumefactos y las mucosas intestinales pueden estar inflamadas. En algunos casos se observa necrosis y hemorragia en el intestino con intususcepciones del mismo. Puede encontrarse sangre libre o heces acólicas en el colon y recto (14,30).

También se puede encontrar ictericia, mastitis, fluído libre en cavidades corporales, lesiones petequiales dispersas, edema perirenal, nódulos linfáticos aumentados de tamaño, bilis de consistencia pastosa y color negrusco (7,30).

Histológicamente se observa infiltrado inflamatorio intersticial difuso más intenso en las uniones corticomedulares, el filtrado está compuesto por células plasmáticas con menor cantidad de linfocitos y macrófagos. A menudo se encuentran neutrófilos y células epiteliales necróticas dispersos en la luz tubular. Los riñones en pacientes con afección crónica tienen infiltración linfocítica de leve a difusa con macrófagos diseminados al azar. Con tinción argéntica permite detectar deshechos globulares y espiroquetas intactas en los túbulos renales (14,32).

En las alteraciones histológicas pulmonares se pueden encontrar necrosis fibrinoide de vasos sanguíneos, hemorragias perivasculares, intraalveolares y subpleurales. Los vasos pulmonares trombosados están rodeados por infiltrados de células mononucleares. Es posible necrosis del parénquima hepático. Los hepatocitos son redondeados con núcleos picnóticos y contienen un citoplasma granuloso eosinofílico. En animales ictericos suele observarse éstasis biliar intrahepática y lesión hepatocelular grave. Los casos subclínicos suelen presentar alteraciones adiposas leves en los hepatocitos y los perros moderadamente enfermos tienen cordones hepáticos fragmentados, con infiltrados linfocíticos en áreas de necrosis; los pacientes con afección grave presentan necrosis diseminada del parénquima hepático y desintegración de núcleos. Los perros con infección crónica padecen hepatitis crónica activa y fibrosis hepática; Los microorganismos pueden demostrarse en sitios intercelulares dentro de cordones hepáticos (14,32).

4.16 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de los casos de Leptospirosis humana y animal puede ser complicado o difícil, debido, principalmente, a las características intrínsecas de las leptospiras y la epidemiología de las mismas.

En la actualidad, se cuenta con un gran número de técnicas de laboratorios distintas, pero previo a su realización, es conveniente recabar información sobre una serie de datos que puedan orientar en el diagnóstico. Para ello, se debe combinar: el diagnóstico epidemiológico, el clínico y el de laboratorio (2,30,31).

El diagnóstico real debería basarse en el aislamiento, cultivo e identificación de leptospiras, pero las peculiares características de las espiroquetas, tales como, crecimiento difícil y lento, hacen dificultoso la metodología para lo cual se prefiere otros más sencillos como los serológicos (30).

En el caso de los estudios epidemiológicos, en los que se cuenta con un gran número de muestras y el objetivo es la obtención de un resultado de prevalencia, las técnicas indicadas son las serológicas, a pesar de que su interpretación es muchas veces subjetivas (1,14,30).

4.16.1 DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO

En cuadros sintomatológicos compatibles con un caso de leptospirosis, se debe enfatizar en la anamnesis, los aspectos siguientes:

- Época del año en la que ha aparecido el brote, con especial atención a el clima, precipitación pluvial, temperatura ambiental, humedad relativa,
- Estado sanitario de vacunas contra leptospira,
- Presencia de otras especies domésticas ejemplo. ovejas, cerdos etc,
- Control de animales silvestres portadores,
- Edad y sexo de los animales afectados,
- Sintomatologías predominantes y características de los signos clínicos, y
- Antecedentes de leptospiras en el área.

4.16.2 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Tiene un carácter presuntivo y se realiza fundamentalmente a través de los signos y síntomas que presenten los animales. Además las lesiones anatomopatológicas características de la enfermedad que aportan una gran contribución (30).

4.16.3 DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LABORATORIO

Las técnicas bacteriológicas son las más complejas, pero nos brindan resultados importantes, como: la observación, el aislamiento y la identificación del microorganismo. El diagnóstico debe basarse en el conocimiento de la patogenia del microorganismo, así como de sus propiedades. Estos métodos se pueden dividir en: técnicas indirectas, que detectan anticuerpos frente a las leptospiras, y técnicas directas, encaminadas a la detección de leptospiras, sus antígenos o ácidos nucleicos en los tejidos y fluidos corporales (30).

De los animales vivos se enviará: sangre en fase aguda de la enfermedad y orina en la crónica. En los animales muertos, las muestras que se deben enviar son: cerebro, médula espinal, líquido cefalorraquídeo, ojo cuando hay síntomas nerviosos, y la mayoría de los órganos parenquimatosos en los casos que cursan con ictericia: hígado, riñón, bazo, vejiga y su contenido, y humor acuoso (1,13,30).

4.17 TÉCNICAS INDIRECTAS

Los métodos serológicos nos brindan un diagnóstico en corto tiempo y son capaces de detectar anticuerpos antileptospirales, que pueden ser de la clase IgM e IgG, los que constituyen las técnicas de elección. Además, son las pruebas de laboratorio más utilizadas en el diagnóstico de la leptospirosis, al igual que para la realización de estudios epidemiológicos.

El mayor problema que presenta es los niveles de anticuerpos, aunque se mantengan durante años alcanzan niveles tan bajos en animales infectados crónicamente que no siempre se

detectan, además en los casos de infección por serovares adaptados, un porcentaje de los animales pueden no presentar respuestas con anticuerpos (4,14,24,30).

Para el diagnóstico serológico se han utilizado las siguientes técnicas:

a) Prueba de aglutinación microscópica (MAT)

Es el método serológico de referencia a la hora de evaluar otras pruebas para el diagnóstico de Leptospirosis. Se emplea para detectar anticuerpos en sueros de sospechosos o enfermos, donde el suero del paciente sospechoso o enfermo reacciona con antígenos vivos de leptospiras de diez días de crecimiento en medio líquido de EMJH con enriquecimiento, y es el más utilizado cotidianamente (9,30).

En la actualidad, para obtener una adecuada sensibilidad, se recomienda utilizar cepas representativas de todos los serogrupos presentes en un lugar determinado y de la especie objeto de estudio (21,30).

Además para esta prueba se estandarizaron las siguientes condiciones para la ejecución de la reacción:

- Tiempo de incubación,
- Temperatura,
- Punto de corte, y
- Concentración del antígeno.

Esta prueba tiene una sensibilidad y especificidad de hasta 92 % y 95 %, con un valor predictivo positivo de 95 % y negativo 100 % (30).

Es necesario determinar el punto de corte, título por debajo del cual es considerado que la aglutinación es debido a reacciones inespecíficas. El título de anticuerpos del suero será la dilución más alta en la cual aún encontramos 50 % de aglutinación. Para los perros, se considera positivo un resultado superior a 1:50 (14,4,30).

Al igual que otras pruebas serológicas, para diagnosticar una infección individual mediante MAT, se requiere estudiar dos muestras pareadas de siete a catorce días de intervalo de la primera y si se observa que ha habido seroconversión, se considera de valor diagnóstico un cambio en el título de al menos cuatro veces el título inicial (9,30).

Desventajas:

- No distingue anticuerpos vacunales de los de infección,
- Resulta difícil su estandarización ya que su valoración es subjetiva,
- Requiere el mantenimiento de cultivos de leptospiras, y
- No siempre detecta a los animales infectados, en especial cuando el serovar implicado es *L. interrogans* Serovar hardjo, que presenta como características ser poco antigénico.

Los perros con títulos positivos, por lo general tienen sueros que reaccionan en forma cruzada a diversos serovares; se considera que el de título más alto es el que ocasiona la infección y los más bajos representan reactividad cruzada de anticuerpo entre los serovares (14,21).

Se debe de tomar en cuenta que la magnitud del aumento del título no siempre es paralela a la gravedad de la infección clínica. Aunque la terapéutica antimicrobiana muy temprana en el curso de la enfermedad, puede disminuir la magnitud del aumento del título (14).

b) Prueba de aglutinación microscópica con antígeno muerto (MSAT)

Utiliza leptospiras formoladas y centrifugadas, resuspendidas a una cierta densidad estándar, con un juego de antígenos de varios serogrupos. La aglutinación que se produce es semicuantitativa y puede leerse a simple vista. Esta reacción es menos específica que MAT, menor nivel de títulos obtenidos, mayor reacción cruzada de la misma forma que MAT, no diferencia reacción entre anticuerpos de la infección reciente y tardía (30,31).

c) Fijación del complemento (FC)

Es una prueba género-específica que emplea antígenos de *L. biflexa*. Considerada tan fiable como el MAT para la detección de animales con leptospirosis, pero detecta infección reciente, es útil en el análisis de grandes cantidades de sueros ya que puede semiautomatizarse. Es una herramienta epidemiológica para diagnóstico rápido, menos laboriosa que el MAT. Las desventajas son las sustancias anticomplementarias del suero, la corta vida e inestabilidad del antígeno, no permite la diferenciación de serovares y no detecta niveles bajos de anticuerpos (30,31).

d) Elisa

Las deficiencias que permite el MAT han obligado a los científicos a emplear esta técnica que ayuda a la detección de anticuerpos en el suero. Es capaz de detectar la IgM durante la primera semana de la enfermedad y la detección tardía de IgG, que permite diferenciar infecciones recientes de pasadas. La detección de anticuerpos específicos IgM con una sola muestra es confirmatoria de una infección reciente por leptospirosis. Además, se considera más sensible que MAT, es fácil de estandarizar los antígenos, pueden almacenarse durante meses, no tiene ningún riesgo para los técnicos y pocas reacciones cruzadas, tampoco diferencia los anticuerpos vacunales de las infecciones. A pesar de que es una prueba muy eficaz, aun no está considerada como prueba oficial (14,30).

e) Aglutinación macroscópica

Se desarrolló para evitar los problemas derivados del mantenimiento de cepas vivas de leptospirosis en el laboratorio. Pocos autores la recomiendan debido a su falta de sensibilidad y porque no es capaz de determinar el serovar (30,31).

f) Aglutinación en microcápsula

Se utiliza antígeno leptospiral transportado en microcápsulas de un polímero sintético. Los autores la consideran como una prueba muy específica y sensible puede detectar infecciones causada por otros serovares (30,31).

g) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Es una técnica más moderna que permite una identificación precisa y rápida del serovar específico presente en una infección (3).

4.18 TÉCNICAS DIRECTAS**a) Observación en microscopio de campo oscuro**

Este método se realiza para la observación de leptospiras en los fluidos orgánicos. Es difícil debido al gran número de artefactos que, por su parecido con las leptospiras, pueden crear confusión (30,31).

b) Técnicas de tinción inmunohistoquímica o tinción de plata de Warthin-Starry

Tienen baja sensibilidad, por lo que es poco adecuado para el diagnóstico de portadores crónicos, lo que depende del número de microorganismos en la muestra (30,31).

c) Inmunofluorescencia

Es más adecuada para la detección de leptospiras que las anteriores. Casi siempre se utiliza en el diagnóstico para los casos de abortos, requiere la producción de antiseros policlonales de buena calidad y necesita la utilización de microscopio de fluorescencia. Las muestras utilizadas son titulares o de sedimento urinario (24,30).

d) Inmunoperoxidasa

Es más rápida y fácil que la anterior ya que no precisa de un microscopio de fluorescencia (30).

e) Marcado de partículas de oro

Depende del número de microorganismos y es poco sensible (30).

f) Técnicas de detección y estudio de ácidos nucleicos

Son pruebas relativamente modernas que aún precisan más estudios sobre su efectividad y utilidad (30).

g) Aislamiento

Para muchos es la técnica más sensible para el diagnóstico de leptospiras, además es la que confirma la presencia de la bacteria, tanto en casos agudos como crónicos a pesar de que requiere mucho tiempo y de laboratorios especializados. La inoculación en animales de experimentación puede considerarse una forma especial del aislamiento y está considerada como la técnica más sensible por algunos científicos (14,30).

Otros métodos pero no de amplio uso en el mundo

- Prueba hemolítica (HL),
- Contrainmunolectroforesis (CIE),
- Inmunoabsorción magnética,
- Hibridización de ADN, y
- Absorción de antígeno inmunomagnética.

4.19 ALGUNOS RESULTADOS DE LABORATORIO CLÍNICO

El daño hepático se demuestra por incremento de las actividades séricas de: aminotransferasa de alanina (ALT), aminotransferasa de aspartato (AST), deshidrogenasa de lactato (DL), fosfatasa alcalina (ALP) y de bilirrubina (4,9,14).

El análisis de orina puede caracterizarse por glucosuria, proteinuria tubular, bilirrubinuria y mayor cantidad de cilindros granulosos, leucocitos y eritrocitos en el sedimento (4).

La velocidad de sedimentación está generalmente acelerada, aunque no siempre en la leptospirosis aguda. La leucocitosis permanece dentro de límites moderados y con el periodo de la enfermedad se observa neutrofilia con desviación a la izquierda (7,14).

4.20 MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo pueden presentarse de tres formas: líquido, semisólido y sólido. Los medios sólidos (Cox) son en general de uso menos frecuente.

La mayoría de medios en forma líquida (Korrthoff, Stuart, Ellinghausen y McCullough, Johnson y Harris EMJH) habitualmente son para el mantenimiento de cepas utilizadas en las pruebas serológicas.

El medio semisólido Fletcher resulta adecuado para el mantenimiento de cepas de referencia. También es utilizado para el aislamiento de *Leptopiras* a partir de muestras sospechosas. Basándose en sus componentes, los medios se pueden clasificar en tres grandes grupos: con suero de conejo, con Tween y seroalbumina bovina Ellinghausen, McCulleugh, Johnson y Harris (EMJH) y sin proteínas Shemberg (30).

Los medios clásicos fueron modificados por Johnson y Harris (1976) (EMJH), son perfectamente válidos para el cultivo de los serovares menos exigentes como *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae y *Leptospira interrogans* serovar Pomona (30).

4.21 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Para llegar al diagnóstico diferencial, es necesaria una buena anamnesis que abarque los antecedentes particulares de animales patológicos de 15 a 20 días anteriores a la presentación de la enfermedad. Para el diagnóstico se debe de tomar en cuenta las siguientes enfermedades:

- Hepatitis canina,
- Trastornos gastrointestinales,
- Falla parenquimatosa aguda,
- Dirofilariosis,
- Anemia autoinmune hemolítica,
- Prostatitis,
- Enfermedad dental,
- Neoplasia hepática,
- Lupus,
- Fiebre maculosa de las montañas rocosas,
- Ehrlichiosis,
- Toxoplasmosis,
- Cálculos renales, y
- Neoplasia renal.

4.22 PROFILAXIS

Para que las medidas a tomar sean efectivas para el control de la enfermedad, es imprescindible la identificación lo antes posible de los animales afectados, así como el serogrupo o serovar actuante, puesto que la presencia de un serovar u otro depende principalmente de la existencia de su hospedero de mantenimiento específico y según sea el hospedador, las medidas de control serán diferentes.

Desde el punto de vista epidemiológico, la leptospirosis es una enfermedad difícil de controlar ya que el microorganismo se puede albergar en el riñón y ser eliminado en la orina de muchos animales, perpetuándose entre ellos el estado de portador. Sin embargo, se deben realizar

esfuerzos para conocer la prevalencia de serotipos específicos en una determinada población y describir los focos de contagio a fin de evitar aparición de nuevos casos (28, 30,31).

4.23 INMUNOPROFILAXIS

Dentro de la inmunoprofilaxis se puede considerar tanto la vacunación como la inmunización pasiva con suero hiperinmune. La vacunación es una práctica muy extendida en muchos países, siendo una buena herramienta de control. Sin embargo, presenta una serie de inconveniencias, se usan vacunas que son bacterinas y que no proporcionan inmunidad cruzada entre serovares distintos y sólo permiten una protección limitada frente a cepas distintas de un mismo serovar. Los serovares y las cepas varían entre países, por lo que la protección ofrecida por las vacunas elaboradas con cepas de otro país o región, en otras áreas puede ser poco eficaz. Además no impiden el estado de portador que se acompaña de un posible riesgo zoonótico. Se debe de tener presente que las vacunas sólo reducen la presentación de la enfermedad clínica (3,6,9,14).

Medidas que ayudan a prevenir la enfermedad:

- Educación y difusión a las poblaciones humanas en especial las de alto riesgo sobre la forma de contagio y como evitar la enfermedad,
- Buen drenaje o relleno de terrenos bajos o fácilmente inundables de residuos líquidos y agua pluviales,
- Disposición, colecta y eliminación de los residuos (recipientes apropiados, colecta permanente y coordinada con la población, relleno sanitario correcto y en condiciones).
- Control ecológico de la población animal salvaje,
- Utilizar guantes de látex cuando se manipula orina o artículos contaminados,
- Utilizar mascarillas faciales y anteojos grandes cuando se lavan áreas contaminadas en perreras, y
- Las áreas infectadas se lavan con detergente y sustancias químicas con carácter de leptospiricidas como fenol al 5 %, alcohol al 70 %, formol al 2%, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, sosa cáustica al 2%, 5 minutos, solución al 0,05 % de ácido sulfúrico (14,30,31).

4.24 TRATAMIENTO

Va a depender de la gravedad de la infección y de la presencia de disfunción renal o hepática. Ocurre deshidratación y choque en pacientes con afección grave, la pérdida de líquido resulta de vómitos y diarrea, deben utilizarse líquidos por vía intravenosa (I.V.) poliiónicos equilibrados. La alimentación oral se suspende en los que tienen vómitos. En casos de trombocitopenia por vasculítis, debe de administrarse transfusiones de plasma o sangre entera fresca, con moderación en dosis bajas concurrentes de heparina.

La oliguria y la anuria se tratan al principio mediante rehidratación. Administrar vía I.V. diuréticos osmóticos como glucosa al 10% (2 ml./lb.) cuando el deterioro de la función renal persiste después de la rehidratación.

Antibióticos de elección:

Fármaco	Dosis	Vías de administración	Intervalo	Duración
Penicilina G	25,000 a 40,000 U.I/kg	IM, SC, IV	Cada 12 hrs.	dos semanas
Ampicilina	22 mg/kg	PO, SC, IV	Cada 6 a 8 hrs.	dos semanas
Doxiciclina	5 mg/kg	PO, IV.	Cada 12 hrs.	dos semanas.
Dihidroestreptomicina	20 a 25mg/kg	IM.	Cada 24 hrs.	durante 4 a 6 días
Tetraciclina	15 a 25mg/kg	IM.	Cada 12 hrs.	durante 4 a 6 días
Estreptomicina	10 mg/Kg	SC, IM	Cada 6 hrs.	1 semana
	20 mg/Kg	PO	Cada 8 hrs.	1 semana

Después del tratamiento con penicilinas se administran medicamentos como tetraciclinas, aminoglicosidos, eritromicinas o fluoroquinolonas, para eliminar el estado de portador. Se debe

de tomar en cuenta el uso de aminoglicosidos en pacientes con problemas de disfunción renal (7,9,11,14,34,).

4.25 PRONÓSTICO

El nivel de urea en sangre y la variación de la bilirrubina del suero, ayudan a establecer el pronóstico. Los niveles de urea superiores a 150 mg/dl. deben considerarse críticos. El descenso de la bilirrubina en el curso del síndrome icterico es un signo de buen pronóstico (7).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 RECURSO HUMANO.

- Asesores.
- Tesista.
- Personal de clínica veterinaria.
- Técnicos de laboratorio de microbiología de veterinaria.

5.2 MATERIALES DE LABORATORIO

- Tubos de ensayo estériles sin anticoagulante 15X11 con capacidad de 10 ml.
- Puntas 5-250 microlitros.
- Microtubos de 1.5 ml.
- Micropipetas de 5-200 microlitros.
- Microplacas de poliestreno de 96 fosos.
- Portaobjetos 3”X1”.
- Cubreobjetos 21X22 mm.
- Guantes de látex.
- Gradilla de metal con capacidad para 72 tubos (12X6).
- Bandeja de acero inoxidable 30X10 cm.
- Solución SAF(solución amortiguadora de fosfato pH 7.0-7.2).
- Cámara de flujo laminar Premlab modelo Serproma clase 100
- Centrifuga no refrigerada 3500 rpm Centrifuge modelo Eurolab Tdl 80-2.
- Microscopio de campo oscuro Leitz modelo Laborlux D.
- Incubadora 30 °C y 37 °C.

5.3 MATERIALES DE CAMPO

- Algodón.
- Alcohol etílico 50%.
- Agua oxigenada 3%.
- Máquina de cortar pelo.
- Jeringas desechables de 5 cc.
- Tubos vacutainer sin anticoagulante 15X11 con capacidad de 10 ml.
- Hielera 30X21X20 cm.
- Hielo.
- Refrigeradora.
- Estetoscopio.
- Termómetro digital en °C.
- Cronómetro.
- Bascula electrónica con capacidad de 150 kg.
- Hoja de registro.

5.4 RECURSO DE TIPO BIOLÓGICO

- 30 muestras sanguíneas de perros no vacunados con bacterinas de *Leptospira interrogans* para la extracción de suero, para la prueba de microaglutinación en campo oscuro.
- Antígenos de *Leptospira interrogans* de las 12 serovariedades más incidentes en Guatemala.

5.5 CENTROS DE REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

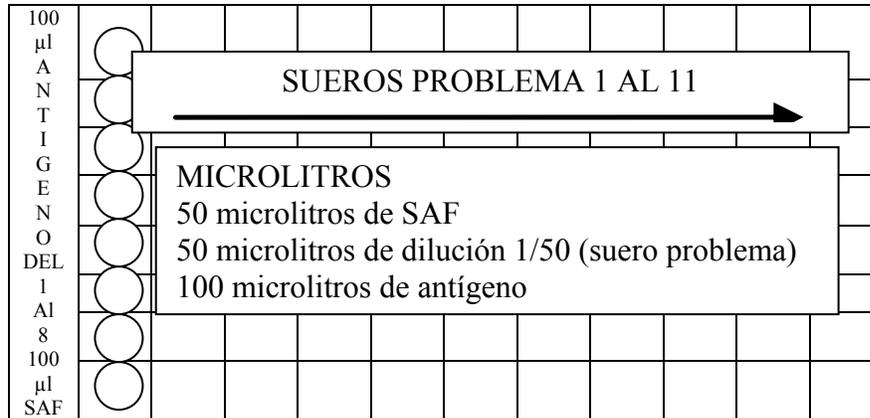
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAC).
- Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAC).
- Internet.

5.6 MÉTODO MICROAGLUTINACIÓN EN CAMPO OSCURO

- a. Se prepara la solución SAF (solución amortiguadora de fosfato pH 7.0-7.2).
- b. Se descongelan los sueros problema.
- c. Los sueros problema se trabajan en tubos a dilución 1:50 y luego se trabajan en la placa a dilución 1:100 tomando 50 microlitros de la dilución 1:50
- d. Se le agrega a cada suero 100 microlitros de la serovariedad de *Leptospira interrogans* respectiva.
- e. Se incuba la placa por dos horas en incubadora a 37 °C.
- f. Para realizar la lectura se prepara una lámina portaobjeto dividida imaginariamente en 8 partes para cada suero y su respectivo antígeno.
- g. Se coloca una gota de 15 microlitros en el portaobjetos para cada suero.
- h. Se efectúa la lectura de las láminas portaobjetos en el microscopio de campo oscuro con el objetivo 40X, en donde la aglutinación de *Leptospiras* es indicativo de que la muestra es positiva, comparándola con el control, si se observan *Leptospiras interrogans* libres la prueba es negativa.

5.6.1 ESQUEMA PARA LA PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN EN CAMPO OSCURO (MAT)

- En la primera columna se trabaja el control con 100 µl de SAF + 100 µl del antígeno.
- En los demás compartimientos se agrega 50 µl de SAF + 50 µl de la dilución 1:50 + 100 µl de antígeno.



ESQUEMA DE LA LÁMINA PARA LA LECTURA MICROSCÓPICA

Antígeno + anticuerpo	S1	S2	S3	S4
en cada sección	S5	S6	S7	S8

5.7 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.7.1 MUESTREO

Se realizó un muestreo por conveniencia en dos clínicas ubicadas en la zona 18 en un período de cuatro meses. Se utilizó el criterio de inclusión en donde se obtuvieron muestras de perros de tres meses de edad en adelante de cualquier raza, o sexo, con o sin sintomatología, que no tuvieran historia de vacunación contra *Leptospira interrogans* que asistieran a las dos clínicas ubicadas en la zona 18.

5.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

5.8.1 VARIABLES

- Presencia de anticuerpos.
- Serovariedades
- Presencia de síntomas.

5.8.2 ANÁLISIS DE DATOS : Se utilizó

- **ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA**

- Distribución %
- Tablas y gráficas.
- Prueba estadística de Chi² para determinar asociación entre:
 - Edad.
 - Sexo.
 - Raza.
 - Tipo de alimentación.

FÓRMULAS:

$$a = \frac{(a+b)(a+c)}{n} \qquad \text{Chi}^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

O = datos observados.

E = datos esperados.

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 30 muestras obtenidas de dos clínicas ubicadas en el área de la zona 18 de la capital de Guatemala, siete fueron seropositivas a la prueba de microaglutinación en campo oscuro (MAT), obteniendo 23.33%. Lo cual indica que en esta área hay una alta proporción de animales seropositivos a ciertos serovares de *Leptospira interrogans*, los cuales pueden ser diseminadores de las bacterias aún padeciendo o no la enfermedad, aunque se debe de tomar en cuenta que los reservorios de dichas bacterias; son principalmente los huéspedes de mantenimiento, quienes juegan un papel importante en la transmisión de la enfermedad (Ver Anexo gráfico No.1).

Se determinó que el 28.57 % de las muestras obtenidas positivas pertenecían a hembras y el 71.42% a machos; lo cual indica que se da una mayor presentación de la enfermedad en machos que en hembras según literatura consultada aunque se debe de tomar en cuenta que de las muestras obtenidas la relación macho-hembra es de 2:1 (Ver Anexo gráfico No. 3) (Ver Anexo tabla No.1)

De los siete perros seropositivos, seis tuvieron contacto con roedores siendo estos huéspedes de mantenimiento de algunos serovares (Anexo gráfico No.4).

De acuerdo al análisis estadístico se pudo establecer que no existe asociación entre la reacción serológica con edad, raza, sexo y tipo de alimentación.

Del total de las muestras obtenidas 20 animales presentaron alguna sintomatología clínica a leptospirosis, de las cuales cinco fueron positivas a microaglutinación en campo oscuro y 10 que no presentaron síntomas, dos fueron positivas. Esto indica que en esta área hay anticuerpos de

Leptospira interrogans en algunos perros tanto con síntomas como aquellos que nos los presentan.

Mediante la prueba de Microaglutinación en campo oscuro (MAT) los serovares encontrados que aglutinaron a anticuerpos fueron 6 siendo los siguientes: *Leptospira interrogans* serovar Canícola, *Leptospira interrogans* serovar Icterohamorrhagiae, *Leptospira interrogans* serovar Grippytyphosa, *Leptospira interrogans* serovar Celledoni, *Leptospira interrogans* serovar Australis, *Leptospira interrogans* serovar Pyrogenes (Ver Anexo Ficha de resultados obtenidos).

VII CONCLUSIONES

1. Los serovares que aglutinaron a anticuerpos presentes en perros no vacunados en clínicas ubicadas en zona 18 de la Capital de Guatemala fueron: *Leptospira interrogans* serovar Canícola, *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa, *Leptospira interrogans* serovar Celledoni, *Leptospira interrogans* serovar Australis, *Leptospira interrogans* serovar Pyrogenes.
2. De acuerdo al análisis estadístico no existe ninguna asociación entre la edad, sexo, raza y tipo de alimentación con la enfermedad causada por leptospira.
3. El 28.57 % de las muestras obtenidas positivas pertenecen a hembras y el 71.42% a machos debido a que se muestrearon más machos que hembras.
4. De las siete muestras seropositivas de perros, seis de estos animales tuvieron contacto con roedores.

VIII RECOMENDACIONES

1. Tomar las medidas de seguridad necesarias al momento de obtener una muestra sanguínea por personal técnico veterinario, para evitar una contaminación zoonótica de algún perro con o sin sintomatología de leptospira.
2. Realizar más investigaciones acerca de leptospirosis ya que se encontraron serovares diferentes a los disponibles en vacunas para perros.
3. Educar y difundir información acerca de la enfermedad a la población ubicada en el área de estudio, para que tomen las medidas necesarias de prevención.

IX RESUMEN

Fueron analizados 30 sueros de perros no vacunados contra *Leptospira interrogans* de diferentes edades, sexo, raza, en dos clínicas veterinarias ubicadas en la zona 18 de la capital de Guatemala encontrándose los siguientes resultados mediante la técnica de Microaglutinación en campo oscuro empleando 12 serovares de *Leptospira interrogans* siendo: *Leptospira interrogans* serogrupo autumnalis serovar Autumnalis, *Leptospira interrogans* Serogrupo australis serovar Australis, *Leptospira interrogans* Serogrupo ballum serovar Ballum, *Leptospira interrogans* serogrupo canícola serovar Canícola, *Leptospira interrogans* serogrupo celledoni serovar Celledoni, *Leptospira interrogans* serogrupo grippotyphosa serovar grippotyphosa, *Leptospira interrogans* serogrupo sejroe serovar Sejroe, *Leptospira interrogans* serogrupo icterohaemorrhagiae serovar Icterohaemorrhagiae, *Leptospira interrogans* serogrupo panama serovar Panama, *Leptospira interrogans* serogrupo pomona serovar Pomona, *Leptospira interrogans* serogrupo pirogenes serovar Pyrogenes, *Leptospira interrogans* serogrupo sejroe serovar Hardjo (Ver Anexo listado cepas de referencia de *Leptospira interrogans*). Se consideraron positivos aquellos sueros que presentaron aglutinación, de los cuales siete fueron seropositivos, a la prueba de microaglutinación en campo oscuro, obteniendo 23.33 % de las muestras positivas, lo cual indica que en el área de estudio existe una alta proporción de animales con anticuerpos a *Leptospira interrogans*. De las muestras obtenidas fueron más afectados los machos que las hembras pero se debe de tomar en cuenta la relación de muestreo de macho-hembras que fué de 2:1

El análisis estadístico demuestra que no existe asociación con edad, sexo, raza y tipo de alimentación en la presentación de la enfermedad de leptospira .

Los serovares identificados seropositivos fueron seis siendo: *Leptospira interrogans* serovar Canícola, *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa, *Leptospira interrogans* serovar Celledoni, *Leptospira interrogans* serovar

Australis, *Leptospira interrogans* serovar Pyrogenes. Siendo la *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa seropositiva a dos de las siete muestras.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Aidorevich, L; Tovar, C. 2003. Muestras a tomar en caso de sospecha de leptospirosis e interpretación de resultados en animales (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n3texto/laidorevich.htm>
2. Alfaro, C; Aranguren Y; Clavijo, A. 2004. Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis como fundamentos para el diseño de estrategias de control (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/Alfaro_c/arti/Alfaro_c.htm
3. Bernal, J. 2005. Leptospirosis (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en http://ar.merial.com/veterinary_professionals/vets_cage/leptotec1.htm
4. Birchard, S; Sherding, R. 1996. Manual clínico de pequeñas especies. México, McGraw-Hill Interamericana. v. 1 p. 151-154, 180.
5. Braselli, A. s.f. Leptospirosis (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.infecto.edu.uy/revisiontemas/tema25/leptospirosis.htm>
6. Brown, C.; Wohl, J.; Bolin, C.; Levitan, D.; Bimbaun, N.; Carmichael, L. 1998. Leptospirosis una enfermedad que resurge en los perros. (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.fortdoge.com.mx/pequenas/articulos/leptospirosis.htm>
7. Christoph, H. 1981. Clínica de las enfermedades del perro; Trad. J Romero Muñoz. España, Acribia. v. 2. p. 529, 771-780.
8. Duñas, H. Leptospirosis (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.petsalud.cl/articulos/Leptospirosis.htm>
9. Ettinger, SJ; Feldman, EC. 2002. Tratado de medicina veterinaria. Trad. RA Taibo. Colombia, Intermédica. v. 1, 2, 2274 p.

10. Fernández, N. 2005. Leptospirosis (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.portaldog.com.ar/textos/Leptospirosis.htm>
11. Galván, S. 2005. Enfermedades infecciosas en el perro (III): La leptospirosis (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.agilitygirona.com/espagnol/temames/infecciosas3.htm>
12. García, A. s.f. Enfermedades infecciosas, leptospirosis canina: Visión general (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.dover.com.co/pdf/leptospirosis-canina.pdf#search=%22leptospirosis%20signos%20clinicos%20%20canina%22>
13. Gimenez, R; Chavez, C. 2001. Leptospirosis humana y animal, consideraciones epidemiológicas, clínicas y de laboratorio (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.iaa.com.ar/leptospirosis%20humana>
14. Greene, G. 1998. Enfermedades infecciosas en perros y gatos; 2 ed. México, Interamericana. 1014 p.
15. Herrera, A.; Alva, V.; Lung, J. 2006. Leptospirosis en el Perú. IV. Observaciones serológicas en la hacienda Pucalá (Dpto.de Lambayeque). (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-6341960000100010&script=sci.arttext>
16. Herrera, B.; Rubino, C. Leptospirosis canina, nuevas formas de una vieja enfermedad (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en http://www.santaelena.comuy/HNoticia_169.htm
17. Hütter, E. 1999. Leptospirosis (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.miperroovejeroaleman.com/leptospirosis.htm>
18. Jubb, KVF.; Kennedy, PC.; Palmer, N. 1991. Patología de los animales domésticos; 3 ed. Uruguay, Agropecuaria hemisferio sur. v. 3 p. 159, 161-165.
19. Leptospirosis. 2006. (en línea) Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://publications.royalcanin.com/renvoie.asp?type=1&cid=124162&id=102469&com=6&animal=0&lang=5&session=867793>
20. Leptospirosis canina. (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://groups.msn.com/AmericanPitBullZulia/leptospirosiscanina.msnw>

21. "Leptospirosis Habana-2006." Protocols, III international workshop may 8-16. 2006. Habana Cuna. 38 p (Consultado Departamento de Microbiología Facultad de Medicina Veterinaria).
22. Marcano, R. 2005. Cuidado con la leptospirosis (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.medicinapreventiva.comve/articulos/leptospirosis.htm>
23. Martín, V; Di Santo, L; Bagnis, G; Quiñones, J; Gallo, G; Alonso, V; Vaira, J; Bessone, A. 2006. Situación serológica de leptospirosis canina y humana en una población rural (Córdoba, Argentina): resultados preliminares. (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.congresocbta.ununam.mx/MV06.htm>
24. McDonough, P. 2001. Leptospirosis en caninos - estado actual (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en http://www.ivis.org/advances/Infect_Di_Carmichael/mcdoNough_es/chapter_frm.asp?La=2
25. Montes, A.; Dimas, J.; Preciado, F. 2002. La rata y el perro, importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de cd. Gusmán, Jalisco (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.ipk.sld.cu/lepto12004/lepto1/4mtr0502.pdf#search=%22leptospirosis%20caninos%22>
26. Odriozola, E. 2001. Leptospirosis. (en línea). en Consultado 09 oct. 2006. Disponible en http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/gnaderia/bovinos/sanidad/enf_repro/leptospirosis.htm
27. Rodríguez, A.; Ferro, B.; Varona, M.; Santafé, M. 2004. Evidencia de exposición de leptospira en perros callejeros de Cali. (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v24n3a08pdf#search=%22leptospirosis%20caninos%22>
28. Rosa, R.; Murillo, N. 2002. Guía de control y manejo de leptospirosis (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en <http://dover.com.co/pdf/leptospirosis-canina.pdf#search=%22leptospirosis%20patogenia%20canina%22>
29. Rivera, A.; Moctezuma, A.; Roa, M.; Ordoñez, M. 1999. Seroprevalencia del lepospirosis en perros callejeros del norte de la ciudad de México. (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/revvetmex/a1999/rvm30114.pdf#search=%22leptospirosis%20caninos%22>
30. Sandow, K.; Ramírez, W. 2005. Leptospirosis (en línea). Consultado 08 oct. 2006. Disponible en http://www.veterinaria.org/revistas/red_vet/n060605/060501.pdf

31. Sandow, K.; Ramírez, S. 2005. Leptospirosis (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos17/leptospirosis/leptospirosis.shtml>
32. Sapia, C. 2006. Leptospirosis canina (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://ezoos.com.ar/modules.php?name=News&file=print&sid=7>
33. Smith, H.; Jones, T 1962. Patología Veterinaria. 2 ed. México, Hipano americana. p. 451-454.
34. Taibo, R.; Subirós, I. 2002. Infección urinaria: pielonefritis canina. (en línea). Consultado 09 oct. 2006. Disponible en http://www.seleccionesveterinarias.com/articulos/art11_4iu.htm
35. Vargas, H. 2006. “La espiroqueta mortal”. Leptospirosis canina (en línea). Consultado 05 oct. 2006. Disponible en <http://www.pulsoslp.com.mx/Impulso/VerArticulo.asp?Id=714&S=Mascotas&NP=5&rsu=>
36. Vides López IT. 2005. Determinación de la presencia de *Leptospira sp* en la especie cotuza (*Dasuprocta punctata*) en un zoológico privado de la ciudad de Guatemala. Tesis Lic. Med. Vet. Guatemala, GT, USAC/FMVZ. 48 p.

XI ANEXOS

**FICHA DE TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS EN PERROS PARA
DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS**

Fecha: ----- No. _____

Nombre del propietario: _____

Dirección: ----- Tel.-----

Nombre del perro: ----- Edad: -----

Raza: ----- Sexo: -----

HISTORIA CLÍNICA

--

¿Qué tipo de alimento le brinda a su perro? -----

¿Cuenta con un plan de vacunación su perro? Si ----- No -----

TIPO DE VACUNA

FECHA DE VACUNACIÓN

¿El perro tiene contacto con otros animales? Si ----- No -----

¿Qué clase de animales? -----

¿Existen roedores en su casa? -----

OBSERVACIONES: -----

**FICHA DE RESULTADOS OBTENIDOS DE LA PRUEBA SEROLÓGICA
MICROAGLUTINACIÓN (MAT)**

Fecha de procesamiento de las muestras: Mayo 2007

No. Muestra	Sexo H/M	Edad	Resultado +/-	Serovar
1	Macho	1 año	Negativo	-
2	Hembra	6 años	Negativo	-
3	Macho	13 años	Positivo	Canícola
4	Macho	2.5 años	Negativo	-
5	Macho	4 meses	Negativo	-
6	Macho	1.5 años	Negativo	-
7	Macho	1.2 años	Positivo	Icterohaemorrhagiae
8	Hembra	4 meses	Negativo	-
9	Hembra	5 años	Negativo	-
10	Macho	11 meses	Negativo	-
11	Macho	3 años	Negativo	-
12	Hembra	5 meses	Negativo	-
13	Macho	3.11 años	Negativo	-
14	Macho	3 años	Negativo	-
15	Hembra	2.3 años	Positivo	Grippotyphosa
16	Macho	8 años	Negativo	-
17	Macho	3 años	Negativo	-
18	Hembra	9 meses	Negativo	-
19	Hembra	6 meses	Negativo	-
20	Macho	8 meses	Negativo	-
21	Hembra	7 años	Negativo	-
22	Hembra	5 meses	Positivo	Grippotyphosa
23	Macho	4 meses	Positivo	Celledoni
24	Macho	8 meses	Negativo	-
25	Macho	4 meses	Negativo	-
26	Macho	4.5 meses	Negativo	-
27	Macho	5 años	Negativo	-
28	Macho	8 años	Positivo	Australis
29	Macho	1.6 años	Negativo	-
30	Macho	4.5 meses	Positivo	Pyrogenes

Vo.Bo. Dra. Blanca Zelaya de Romillo

GRÁFICO No. 1

Distribución de perros no vacunados por reacción serológica a la prueba de microaglutinación en campo oscuro

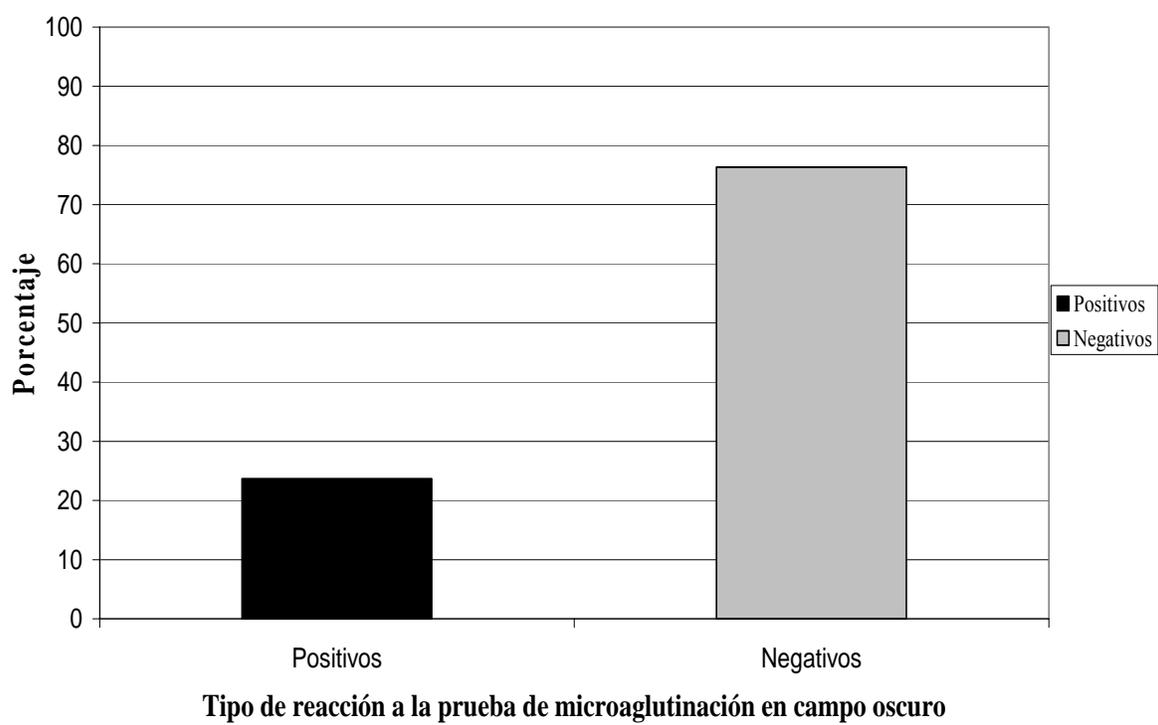


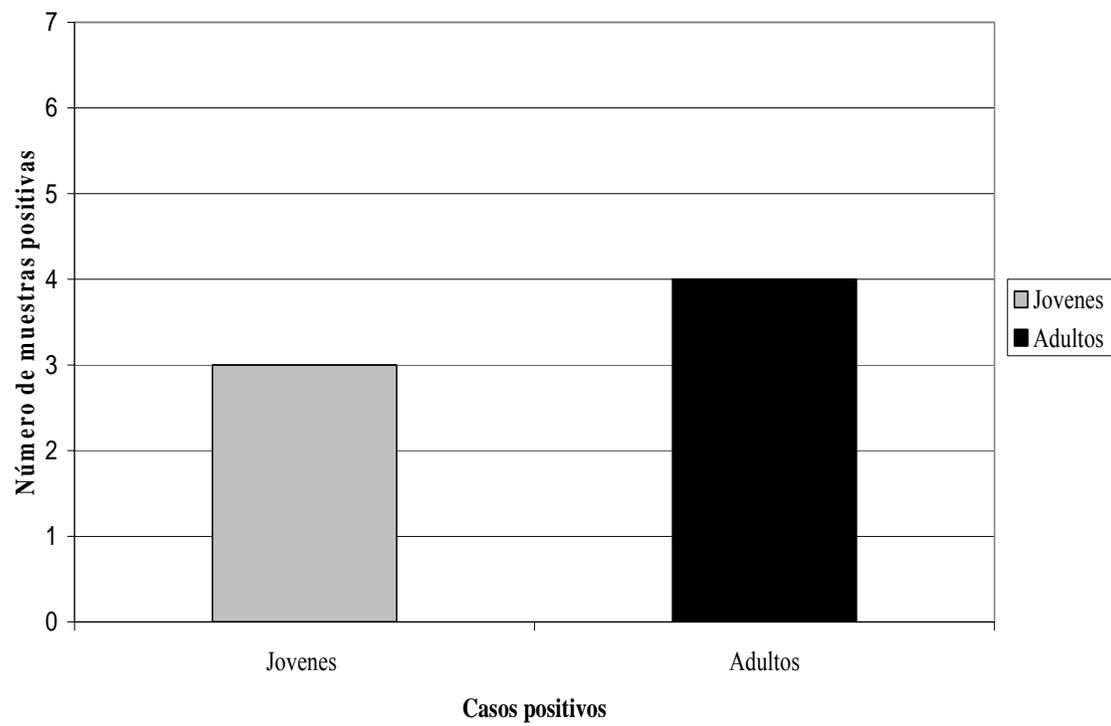
GRÁFICO No. 2**Distribución de sueros seropositivos por edad**

GRÁFICO No. 3

Distribución de perros no vacunados por sexo y resultados obtenidos por la prueba de Microaglutinación en campo oscuro

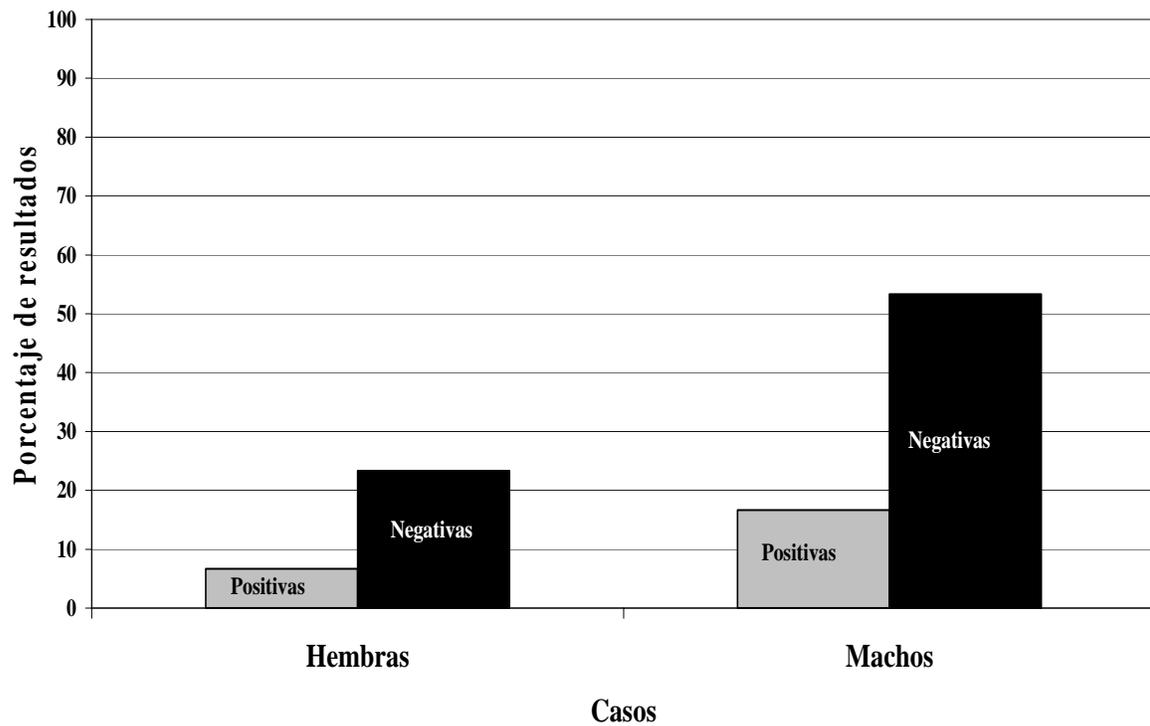
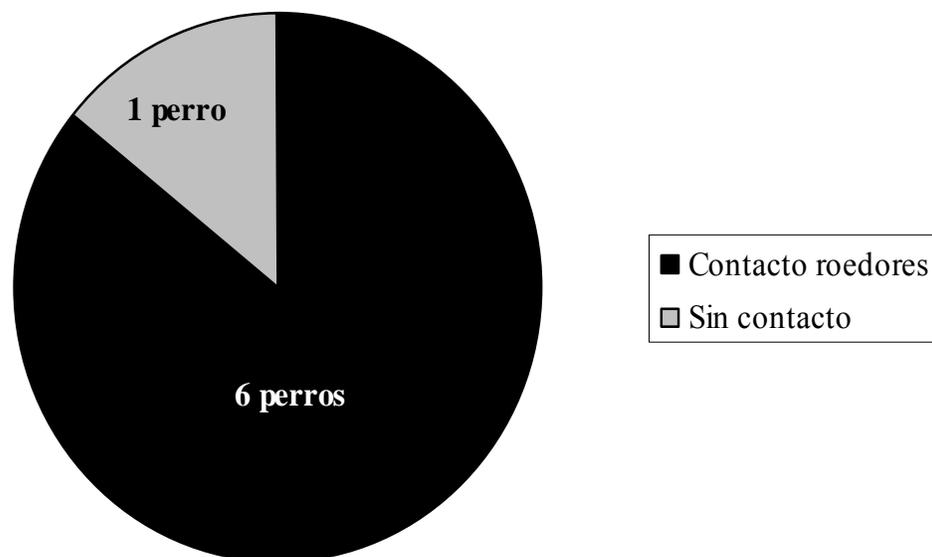


GRÁFICO No. 4

**Relación de muestras positivas asociadas a
hospederos de mantenimiento**



LISTADO CEPAS DE REFERENCIA DE *Leptospira interrogans* UTILIZADAS EN LA TÉCNICA DE MICROAGLUTINACIÓN MAT

1. *Leptospira interrogans* serogrupo autumnalis serovar Autumnalis
2. *Leptospira interrogans* Serogrupo australis serovar Australis
3. *Leptospira interrogans* Serogrupo ballum serovar Ballum
4. *Leptospira interrogans* serogrupo canícola serovar Canícola
5. *Leptospira interrogans* serogrupo celledoni serovar Celledoni
6. *Leptospira interrogans* serogrupo grippotyphosa serovar grippotyphosa
7. *Leptospira interrogans* serogrupo sejroe serovar Sejroe
8. *Leptospira interrogans* serogrupo icterohaemorrhagiae serovar Icterohaemorrhagiae
9. *Leptospira interrogans* serogrupo panama serovar Panama
10. *Leptospira interrogans* serogrupo pomona serovar Pomona
11. *Leptospira interrogans* serogrupo pirogenes serovar Pyrogenes
12. *Leptospira interrogans* serogrupo sejroe serovar Hardjo

TABLA No. 1

**Perros clasificados de acuerdo al sexo y resultados de la prueba
Microaglutinación en campo oscuro**

Resultados de Prueba Sexo	Positivos	Negativos	
Machos	5	16	21
Hembras	2	7	9
Total	7	23	30

TABLA No. 2

**Perros clasificados de acuerdo al tipo de alimento consumido y el tipo de
reacción a la prueba de Microaglutinación en campo oscuro**

Leptospirosis	Positivos	Negativos	
Alimento balanceado	4	12	16
Alimento casero	3	11	14
Total	7	23	30

Osmundo Daniel Polo Díaz
Maestro de Educación Primaria Urbana

Asesor Principal: Dra. Blanca Romillo de Zelaya

Asesor: Dr. Heliodoro García Lemus

Asesor: Dra. Grizelda Arizandieta

IMPRIMASE: _____

Decano: Lic. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque