

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN – LEÓN.**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA.



**TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO EN
MEDICINA VETERINARIA.**

TEMA:

**“SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS Y TIPIFICACION DE
LOS SEROVARES CIRCULANTES EN EQUINOS DE ACHUAPA Y
EL SAUCE, DEPARTAMENTO DE LEÓN, 2006”.**

Autor:

Br. Darwin José Vargas Espinoza.

Tutores:

**Dra. Christiane Duttmann.
Dr. William Jirón.**

Asesores:

**Dr. Alberto Montoya.
Lic. Román Vallecillo.
Dra. Luz Adilia Luna.**

León, Nicaragua Junio del 2007.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de leptospirosis y tipificar los serovares circulantes de *Leptospiras* spp en equinos en los Municipios de El Sauce y Achuapa del Departamento de León en el año 2006. Con esta finalidad se consideraron 182 muestras de sueros equinos procedentes de las comunidades de Wiquili, El Carao, Las Peñas, La Calera, El Barro, Monte Frió (Achuapa-León), Panales, Petaquilla, Sálales, Rió Grande, La Calera (El Sauce-León). A las muestras de suero sanguíneo se les realizó la técnica MAT (Test de microaglutinación en tubos o aglutinación microscópica), con esta técnica se obtuvieron los distintos serovares que estaban presentes en cada equino que resultó reactor a la prueba. El serovar que se encontró con mayor frecuencia fue *L. pomona*, en segundo lugar *L. lousiana* y en tercero *L. icterohaemorrhagiae* (M20). El 76% de las muestras presentaron anticuerpos anti-leptospiras con títulos desde 1/50 a 1/800. Este estudio reporta la presencia de leptospiras en equinos de los Municipios de El Sauce y Achuapa con una seroprevalencia superior a la descrita en el estudio de 1995 y 2003 realizado por el CNDR, MINSA Central.

Palabras claves: Aglutinación microscópica, Equinos, Leptospirosis, Serovares, Seroprevalencia.

AGRADECIMIENTO

Agradezco de todo corazón primeramente a Dios nuestro Padre Celestial por haberme dado la fuente de sabiduría, salud y fortaleza para llevar a cabo este trabajo investigativo, ya que sin su ayuda no hubiera sido posible culminar y lograr los objetivos planteados en este trabajo investigativo.

A mis padres por brindarme su apoyo incondicional, confianza y dedicación, ya que sin su apoyo no hubiese logrado culminar mi carrera.

A mis hermanas y amigos que me animaron a seguir adelante y que de alguna u otra forma contribuyeron a que este estudio se realizara.

Al Dr. Alberto Montoya, Lic. Román Vallecillo y la Dra. Luz Adilia Luna quienes me facilitaron su ayuda para un desarrollo exitoso de este trabajo investigativo.

A mis tutores Dra. Christiane Duttmann y el Dr. William Jirón quienes gentilmente me brindaron conocimientos, tiempo, dedicación y paciencia necesaria durante el proceso de investigación.

Al CNDR por haberme facilitado su apoyo para poder llevar a cabo este presente estudio.

A DANIDA y el MAGFOR por su colaboración en la toma de muestras utilizadas en este presente trabajo investigativo.

Gracias a todos y cada una de las persona que me ayudaron.

DEDICATORIA

Este trabajo investigativo se lo dedico con mucho amor a:

Nuestro seños Jesucristo por ser la luz que me ha guiado siempre, es el que me ha fortalecido durante el transcurso de mis momentos difíciles y metas, en especial esta que es una meta crucial en mi vida.

Dedico este trabajo de investigación como un pequeño homenaje a mis padres José de Jesús Vargas Calvo y Zoila Estela Espinoza Quezada, por todo su apoyo y por todo lo que hemos compartido juntos, por haberme inculcado deseos de superación y seguir adelante, realmente son un ejemplo para mí.

A mis hermanas Mirtia, Ivette y Zoila Vargas Espinoza, quienes me han brindado su apoyo incondicional, gracias por desear lo mejor para mí.

ABREVIATURAS Y TERMINOS TECNICOS UTILIZADOS EN ESTE TRABAJO INVESTIGATIVO.

- Brote: Termino referido al inicio de una manifestación de enfermedad.
- CNDR: Centro Nacional de Diagnostico y Referencia.
- Endemia: Enfermedad que reina habitualmente, o en épocas fijas, en un país o comarca.
- Endémico: Es relativo a endemia, pero que es propio o exclusivo de determinadas localidades o regiones.
- Enfermedad: Cualquier proceso o alteración mas o menos grave que afecte la salud.
- Equino: Termino relativo a caballo, incluye el caballo y el asno.
- Leptospirosis: Enfermedad infecto – contagiosa que afecta a los seres humanos, los animales domésticos y silvestres.
- MAT: Aglutinación microscópica o test de micro aglutinación.
- Micro aglutinación: Es la reacción que se da entre el antígeno y el anticuerpo que ha desarrollado cualquier animal, esta reacción solo puede ser observada a través de un microscopio de campo oscuro.
- Patógeno: Termino que se le da a los agentes que originan y desarrollan una enfermedad.
- PBS: Solución buffer para MAT.
- Prevalencia: Termino utilizado en epidemiología para determinar el número de personas que sufren una enfermedad con respecto a la población en estudio.

- pH: Índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución, puede estar entre 0 – 7 disolución ácida y de 7 – 14 disolución básica.
- Seroprevalencia: Prevalencia encontrada en sueros.
- Serovar: Es la unidad básica que nos permite conocer y explicar la relación entre agente etiológico – Hospedador.
- Zoonosis: Enfermedad o infección que se da en los animales y que es transmisible al hombre en condiciones naturales.

INDICE

Nº contenido	Página
1. Introducción	1
1.1. Antecedentes	2
1.2. Justificación	3
1.3. Planteamiento del Problema	4
2. Objetivos	5
3. Marco Teórico	6
3.1. Sinonimias	6
3.2. Historia	7
3.3. Importancia Económica y Sanitaria	8
3.4. Bacteriología	9
3.4.1 Taxonomía y Clasificación	9
3.4.2 Clasificación Taxonómica y Especie de Leptospiras	10
3.4.3 Clasificación Serológica	11
3.4.4 Etiología	13
3.4.5 Resistencia del Agente Etiológico	15
3.5. Epidemiología	17
3.6. Patogenia	27
3.7. Sintomatología	29
3.8. Lesiones Anatomopatológicas	30
3.9. Diagnóstico	31
3.10. Profilaxis y Tratamiento	35
4. Diseño Metodológico	38
4.1. Lugar de Estudio	38
4.2. Población de Estudio	38
4.3. Criterios Intrínsecos	39
4.4. Criterios Extrínsecos	39
4.5. Factores de Inclusión	39
4.6. Factores de Exclusión	39
4.7. Selección y Recolección de las Muestras	39

4.8 Unidad de Análisis	40
4.9. Materiales Utilizados	41
4.10 Descripción de la técnica MAT	42
5. Resultados	44
6. Discusión	48
7. Conclusiones	50
8. Recomendaciones	51
9. Referencia Bibliográficas	52
10. Anexos	55

ÍNDICE

Tablas	Página
1. Especie leptospira	10
2. Reacción cruzada entre algunos serovares	12

Gráficos	Página
1. Seroprevalencia de leptospirosis equina	44
2. Serovares que mostraron reaccion en los equinos	45
3. Diluciones utilizadas en este estudio	46

1. INTRODUCCION

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial que afecta a los seres humanos, animales domésticos y silvestres. El agente causal es una espiroqueta de las cepas patógenas que pertenecen al género leptospira. Los síntomas patonogmónicos de esta enfermedad en equinos son: fiebre, ictericia, manifestaciones nerviosas centrales, manifestaciones reproductivas y complicaciones oculares. Los equinos son capaz de eliminar la bacteria por orina aproximadamente 210 días con lo cuál fácilmente podrían infestar a otros animales o a las personas por contacto directo o indirecto. (F. Horsch, 1981).

Los municipios de El Sauce y Achuapa son zona endémica a leptospirosis debido al brote epidémico en 1995 que afecto a los seres humanos y sus animales (Bovinos, Porcinos, Equinos, Caninos y Roedores) y a la aparición año con año de casos positivo en humanos. Esta enfermedad es más típica en los países que poseen climas tropicales o subtropicales, ya que son los que prestan las mejores condiciones para que él agente causal (leptospira) sobreviva, estas condiciones son: precipitación pluvial, temperatura, humedad relativa, pH, estructura y composición del suelo. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005).

La crianza equina en Nicaragua se inició desde la época de la conquista española, cuando los colonizadores introdujeron los primeros ejemplares que correspondían al tipo de berberisco español, animales de aptitud cárnica. Los equinos criados en fincas son una de las especies animal que en Nicaragua tiene gran importancia por su fácil adaptación en las zonas secas, su alimentación se limita a los pastos de cada región, y su utilización en diversas actividades como: deporte, transporte y en la mayoría de las ocasiones como medio de trabajo en el campo.

La crianza de animales equino y de otras especies la aparición de leptospirosis tiene su importancia en las grandes pérdidas económicas que se producen sobre todo en cuanto a reproducción se refiere, ya que casi siempre esta enfermedad ocasiona mortinatos, abortos y/o nacimientos de animales débiles e infertilidad.

1.1 ANTECEDENTES

En 1995 posterior al brote epidémico que hubo en El Sauce y Achuapa, se realizó un estudio con él objetivo de conocer la causa de dicha epidemia y si los animales tenían alguna participación en la aparición de dicho brote. En este estudio se incluyeron las personas que resultaron positivas a leptospirosis y la siguiente especie animal: bovinos, equinos, caninos, porcinos y roedores. La seroprevalencia reportada en equinos fue del 33.33% y los serovares encontrado fueron: *L. australis*, *L. ballum (S102)*, *L. bratislava*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* *L. pomona (type kennewicki)*, *L. shermani* y *L. wolffi*.

En nuestro país un estudio llevado a cabo en el año 2003 por el Centro Nacional de Diagnostico y Referencia del Ministerio de Salud (MINSa), en equinos de la zona (Sauce y Achuapa) refleja una seroprevalencia del 23% y los serovares reportados fueron: *L. lousiana*, *L. australis*, *L. manaho*, *L. sarmi*.

El estudio llevado a cabo en Río de Janeiro, Brasil 2006 por Lilenbaum W. encontró una seroprevalencia del 42.9 % en yeguas en reproducción. Los serovares con mayor predominancia en este estudio son: *L. icteroherrhagiae*, *L. bratislava*, *L. pomona*.

En los tres estudios que han sido tomados como referencia los datos fueron obtenidos a través de la técnica MAT, la cual es igual a la que nosotros utilizamos en este presente estudio.

1.2. JUSTIFICACIÓN

El interés del presente trabajo investigativo que se realizó en los equinos es porque estos son una especie que posiblemente participa en la aparición de nuevos casos de leptospirosis y no han sido tomada en cuenta desde este punto de vista, además contribuir al mejoramiento de conocimiento de la población porque la mayoría no conoce cómo los equinos podrían participar en la contaminación de ellos mismos o de otros animales por contacto directo o de forma indirecta por la contaminación del agua o ambiente.

Desde el punto de vista salud pública, medicina veterinaria y económico la importancia de realizar este estudio fue porque los municipios de El Sauce y Achuapa son regiones endémica a leptospirosis, las condicione ambientales; geográficas y de vida de los habitantes de Achuapa y El Sauce son apropiadas para que se de un nuevo brote epidémico porque las personas conviven en un mismo hábitat y tienen estrecha relación con los animales domésticos. Además porque en los equinos la leptospirosis tiene un curso crónico; en la mayoría de los casos es silenciosa; inespecífica e inaparente.

Este estudio se realizó en las comunidades de El Sauce y Achuapa donde en el 2006 se sabia de casos positivos de leptospirosis en humanos, además por la facilidad para la obtención de datos y resultados que demuestren la seroprevalencia actual de leptospirosis en El Sauce y Achuapa, los datos obtenidos serian utilizados en la elaboración de un programa de control y prevención de leptospirosis.

En salud pública y en medicina veterinaria es de gran importancia el reflejar los gastos a los cuales se incurren en el tratamiento no solo de las personas cuando enferman, sino también de los animales.

1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la seroprevalencia de leptospirosis y cuales son los serovares circulantes en los equinos de El Sauce y Achuapa (Departamento de León), Agosto – Octubre 2006?

2. OBJETIVOS

Objetivos generales:

Determinar la seroprevalencia de leptospirosis y tipificar los serovares circulantes en equinos de los municipios de Achuapa y El Sauce (Departamento de León), Agosto – Octubre 2006.

Objetivos específicos:

- Identificar los serovares de leptospirosis circulantes en equinos en los municipios de Achuapa y El Sauce (departamento de León) utilizando la técnica del MAT cualitativo.
- Conocer la seroprevalencia de leptospirosis equina en los municipios de Achuapa y El Sauce (departamento de León) con MAT cuantitativo.

3. MARCO TEÓRICO

La leptospirosis en los equinos es una de las tantas enfermedades infecciosa que lo afecta, el curso de esta enfermedad es crónico y los síntomas que se observan con mayor frecuencia son: fiebre, ictericia, manifestaciones nerviosas centrales como marcha envarada, mialgias, entre otros y complicaciones oculares como conjuntivitis, uveítis y panoftalmía. (F. Horsch, 1981)

Esta enfermedad es una zoonosis cosmopolita que ha adquirido mucha importancia en los últimos años, ya que origina daños a la salud humana y la economía mundial. Desde hace más de dos siglos que se conoce esta enfermedad, aproximadamente fue reportada por primera vez en el ser humano 1886-1888 por Adolfo Weil en Heidelberg quien la describió en ese entonces como un síndrome febril icterohemorrágico acompañado de insuficiencia renal por la nefritis y en los equinos fue descrita por vez primera en la Unión Soviética, pero los primeros en aislar el agente causal a partir de caballos con ictericia fueron Lubaschenko y Nowikowa en 1946. (F. Horsch, 1981).

3.1 SINONIMIAS

Como se sabe a través de los años que han transcurrido desde el descubrimiento de la leptospirosis ésta ha adquirido una infinidad de nombres tales como: enfermedad de Weil (*L. icterohaemorrhagiae*); fiebre de los arrozales (*L. bataviae*); enfermedad de los heneficadores; enfermedad de los porqueros (*L. pomona*); enfermedad de los manipuladores de pescados; ictericia enzótica; enfermedad de stuttgart (*L. canicola* en Europa); ictericia hemorrágica; ictericia infecciosa; agua roja; fiebre de los 7 días (*L. hebdomadis* en Japón); fiebre otoñal japonesa (*L. autumnales*); fiebre de los ratones; tifus canino, fiebre de cieno; fiebre de los pantanos (*L. grippotyphosa* en los trópicos); fiebre del agua; fiebre de los cosechadores; fiebre de los campos; ictero-hemoglobinuria de los bóvidos; oftalmía periódica del caballo; etc. Todas estas denominaciones han sido utilizadas para describir la enfermedad causada por leptospiras y obedece a

características epidemiológicas, clínicas, territoriales, especies afectadas, estacionalidad del año. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005).

3.2 HISTORIA

La leptospirosis es una enfermedad infecto–contagiosa de carácter zoonótico, de distribución 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.

La leptospirosis es una enfermedad conocida desde 1886, año en que el médico Alemán Adolfo Weil describió una enfermedad a la que denominó Ictericia Hemorrágica en Heidelberg entre trabajadores agrícolas alemanes, pero hay evidencias que un síndrome idéntico al descrito por Weil ya se había dado años antes en trabajadores de alcantarillados y es por esta razón de que la descripción de leptospirosis icterica pudo haber existido a principio del siglo XVIII.

Adolfo Weil fue el primero en describir casos de leptospirosis en humanos sin tener conocimiento del agente causal él cual es descrito por vez primera por los científicos japoneses Inada e Ido a comienzo de 1915, los que a su vez aislaron el agente causal de leptospirosis en 1916 y lo nombraron espiroqueta icterohaemorrhagiae, pero luego fue renombrado leptospira en 1917; en este mismo año Noguchii aísla el agente en ratas de Nueva York, EE.UU y postula la posible participación de la rata como trasmisora de esta enfermedad al hombre.

La primera información sobre la leptospirosis en los animales procede de la leptospirosis humana, data desde 1852 en que Hofer describió una enfermedad de los perros a la cual llamo tifus canino, pero en 1898 le cambia el nombre por enfermedad de los perros de stuttgart, sin embargo la etiología de esta enfermedad fue aclara en 1922 por el Checoslovaco Lukes, pero quienes la describen como agente causante de enfermedad en los animales es Klarenbeck y Schuffner en 1935 al demostrar que *L. canicola* era el agente causal de la

enfermedad de stuttgart en los perros.

En bovinos los primeros en notificar la afección de leptospirosis fueron Michin y Azinov (1935) en la antigua USSR denominándola hemoglobinuria infecciosa aguda, el agente causal aislado fue *L. icterohaemorrhagiae*, en 1941 estudios posteriores apuntan a que el agente causal es *L. grippotyphosa* y en 1944 Jungherr notifica en esta misma especie en Israel y Estados Unidos de América quedando este último como la primera notificación en el continente Americano.

La primera descripción de Leptospirosis en equinos fue en la antigua Unión Soviética por Lubaschenko y Nowikowa, 1947 y desde entonces en Australia, Wellington y Ferris, 1953; Yugoslavia, Zakarija, 1953; Hungría, Kasza y Kemenes, 1955; en los EE.UU. Roberts, Cork y Robinsón, 1955 y Francia, Rossi y Kolochine – Erber, 1955, Pero anteriormente, había notificación sobre la primera observación de Leptospira en el riñón de equino ya en 1934.

(K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SANITARIA

La leptospirosis es considerada la epidemia más difundida no solo a nivel nacional, sino a nivel mundial, ya que su importancia no solo es económica, sino también sanitaria. El principal daño a la economía repercute en la afectación reproductiva como es causa de mortinatos, abortos o nacimiento de animales débiles y un bajo rendimiento en el trabajo de los equinos principalmente por la mialgia que produce. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005).

El principal factor de importancia sanitaria es debido a que el equino actúa como eliminador de la bacteria hasta 210 días por orina con lo cual es capaz de contaminar al ser humano, el ambiente (suelo, agua de los ríos, pastos, etc.) y a otros animales (caninos, suidos, bovinos, etc.). (TM J Reyes, TS. R. Vallecillo, 2004)

Además del riesgo sanitario, hay que tener en cuenta la vertiente económica

derivada de los gastos originados por el cuidado médico de los pacientes, bajas laborales, pérdida de productividad y capacidad de trabajo, vigilancia y control de los lugares de trabajo, ropas especiales de protección, seguros médicos para el personal en riesgo, evaluación de vacuna, etc. (S. Faine, 1982)

3.4 BACTERIOLOGÍA

3.4.1 TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN

Las leptospiras son bacterias pertenecientes a la familia leptospiracea que a su vez es la segunda familia del orden espiroqueta. El género que se reconoce dentro de esta familia es leptospira; comprende siete especies **patógenas** que fueron agrupadas de acuerdo a su ADN homólogos 1. *L. interrogans*;

2. *Leptospira. noguchii*; 3. *Leptospira. weilii*; 4. *Leptospira. santorosai*; 5. *Leptospira inadaí*; 6. *Leptospira borgpetersenii*; 7. *Leptospira kirschneries*. Y cuatro especies **saprofitas**: 1. *Leptospira biflexa*; 2. *Leptospira meyeri*; 3. *Leptospira parva*; 4. *Leptospira wolbachii*. (TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004)

En cuanto a denominación de leptospira se refiere son bacterias Gram (-) y por consiguiente son aerobios obligados, tipo ADN, con flexibilidad la que le permite mucho movimiento helicoidales, no toleran la desecación ni la exposición de forma directa a los rayos solares, no resiste pH ácidos o muy alcalinos, tampoco temperaturas extremas por lo que para su cultivación y crecimiento se necesita tener las condiciones adecuadas y los nutrientes necesarios para que ella se pueda desarrollar con éxito. (Dr. R.A. Hartskeerl et al. 2002)

3.4.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y ESPECIES DE LEPTOSPIRA.

División: Procariontes

Clase: Schizomicete

Orden: Spirochaetales

Familia: Leptospiraceae

Género: Leptospira; Leptonema; Turneria

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

Especie: Patógenas y Saprofitas

Otros

Familia: Spirochaetaceae

Género: *Cristispira*; *Spirochaeta*; *Brachyspira*; *Brevinema*; *Anguilina*; *Serpulina*; *Treponema*; *Borrelia*

Tabla1 ESPECIES LEPTOSPIRA

PATOGENAS	SAPROFITAS
<i>L. interrogans</i>	<i>L. biflexa</i>
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>L. wolbachii</i>
<i>L. noguchii</i>	<i>L. parva</i>
<i>L. santarosai</i>	
<i>L. alexanderi</i> (genomospecies 2)	
<i>L. kirschneri</i>	
<i>L. meyeri</i> *	
<i>L. fainei</i> *	
<i>L. Weillii</i>	
<i>L. inadai</i> *	

*Poseen estatus patogénico no claro.

(K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.4.3 CLASIFICACIÓN SEROLÓGICA

Antes del año 1987, el género de leptospira se dividía en dos especies, *L. interrogans* que agrupa a todas las leptospiras patógenas y las de vida

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

parasitaria, la *L. biflexa* engloba a las saprofitas que han sido aisladas del medio ambiente. (S. Faine, 1982).

El serovar es el taxón básico y por determinación de las especies de *L. interrogans* y *L. biflexa* se logra la aglutinación después de que hay una absorción cruzada con antígenos homólogos. Además el serovar es la unidad taxonómica que nos permite clasificar y explicar la relación que existe entre agente etiológico – hospedador. Los primeros en dar una definición clara de serovar fueron Wolf y Broom en 1954, no se aplica solo a la clasificación sistémica, sino también a la aplicación práctica.

Dentro de cada especie de leptospira se incluyen uno o mas serovares que están diferenciado entre si por su composición antigénica, pero por razones practicas, los serovares relacionados antigénicamente se clasifican bajo el mismo serogrupo, cabe destacar que también hay reacción cruzada entre algunos serogrupos como lo mostramos a continuación en la tabla 2. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

Tabla 2 REACCIÓN CRUZADA ENTRE ALGUNOS SEROGRUPOS.

CELLEDONI		PYROGENES CANICOLA
JAVANICA	SARMIN	ICTEROHAEMORRHAGIAE
	PANAMA	AUSTRALIS
DJASIMAN	LOUISIANA	AUTUMNALIS
SEJROE	MINI	HEBDOMADIS
POMONA		GRIPPOTYPHOSA
SHERMANI	TARASSOVI	BATAVIAE

(Dr. R.A. Hartskeerl et al, 2002).

Hasta ahora en día se han identificado mas de 300 variantes a las cuales se les denomina serotipo o serovar, también cabe destacar que han sido agrupadas en 23 serogrupos por su afinidad antigénica. (TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004)

Las infecciones frecuentemente se producen por un número limitado de serovares endémicos de una región o país y la presencia de esta bacteria también depende de los factores ambientales, físicos y químicos de la ecología bacteriana. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.4.4 ETIOLOGÍA

En cuanto a término se refiere sabemos que "Leptospira" proviene del griego **lepto** que quiere decir fino y **spira** de espiral.

Las leptospiras son espiroquetas, la flexibilidad y movilidad que poseen es gracias a sus flagelo periplasmático en forma de anzuelo que se encuentran insertados en ambos extremos de la bacteria, estos anzuelos le permiten realizar un movimiento activo de rotación sobre su eje, flexión, traslación, propulsión y ondulatorios activos. (TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004)

En los medios de cultivo de tipo líquido el movimiento es de rotación rápida sobre su eje longitudinal; en los medios de cultivo semisólidos el movimiento es en serpentina y horadación, pero en medios sólidos solo reptan por la superficie. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

Las bacterias son helicoidalmente enrolladas, muy finas que incluso pueden pasar filtros que otras bacterias no son capaces de pasar, miden 10–20 micrómetro de largo y 0.1–0.5 micrómetro de ancho. Las leptospiras solo pueden observarse a través de microscopia de campo oscuro o de contraste de fase, pero no puede ser observada por microscopia de campo brillante. No se tiñen con facilidad con los colorantes de anilina aunque son GRAM (-), pero si pueden impregnarse con plata, fluoresceína, peroxidasa más reactivos coloreados o por hibridación del ADN con biotina – avidit. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

Al observar las leptospira al microscopio de campo oscuro se nota que están construidas por una membrana externa o envoltura de lípidos, proteína y lipopolisacaridos; esta envoltura es muy importante en cuanto a antigéneidad se refiere, ya que rodea la pared celular de peptidoglucano, dos flagelos periplasmáticos (filamentos axiales), los que se sitúan entre la membrana externa y la pared celular se encuentran fijos en cada extremo de la bacteria, los extremos

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

libres se extienden hacia la parte media y no se superponen, un cilindro protoplasmático de forma helicoidal con el contenido celular, material nuclear, ribosomas, mesosomas y cuerpos de inclusión celular. Los cuerpos basales flagelares se asemejan a los de las bacterias GRAM (-) a excepción de *L. illini* que posee una ubicación incierta por ser similar a las GRAM (+), también el cuerpo basal del flagelo piroplasmático y un mechón de túbulos citoplasmático que se encuentran presentes en treponemas, pero no en borrelia. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

El agente causal de leptospiras posee actividad a las enzimas oxidasa, catalasa, peroxidasa y esterasa; en condiciones de laboratorio crecen en medios de cultivos simples con pH de 7.2 – 7.6 y a temperatura de 15 – 18 °C también se utilizan los ácidos grasos de cadena larga como fuente de carbono y las sales de amonio para proporcionar aminoácidos que son metabolizados por β oxidación, además los medios se enriquecen con la agregación de vitaminas del tipo B₂ y B₁₂ las que estimulan el crecimiento de la bacteria. Las bacterias necesitan también fósforo y algunos iones metálicos durante los periodos de incubación que es entre 4 – 14 días, pero para determinados serovares este periodo puede ser superior a cuatro semanas. El piruvato puede estimular el inicio del crecimiento de algunos serovares con lo cual se puede acortar el periodo de incubación. (S. Faine, 1982).

Los medios de cultivos que se utilizan pueden ser de tres formas: líquidos, sólidos y semisólidos. Los medios sólidos se utilizan con menor frecuencia; en la mayoría de las veces los medios líquidos son utilizados para el mantenimiento de serovares utilizados en las pruebas serológicas y los medios de cultivo semisólidos son los que resultan muy adecuados para el mantenimiento de serovares de referencia. Tanto los medios líquidos, como semisólidos son útiles para el aislamiento a partir de muestras sospechosas. Los medios para el cultivo de cepas se clasifican de acuerdo a los componentes que lo integran como son: con suero de conejo, con Tween y seroalbumina bovina, Ellinghausen, McCulleugh, EMJH y sin proteínas. (S. Faine, 1982).

3.4.5 RESISTENCIA DEL AGENTE ETIOLÓGICO

Las leptospiras son microorganismos unicelulares que para sobrevivir necesitan condiciones adecuadas del suelo en cuanto al pH (neutro o ligeramente alcalino y las condiciones ambientales (temperatura 24-28 °C, humedad relativamente alta), ya que estas bacterias son muy sensibles a la desecación, rayos solares directos, pH ácido y alcalino, porque al encontrarse con pH menor a 6 o mayor a 8 les inhibe su crecimiento y por tanto su desarrollo. Una temperatura menor a 13 °C o mayor a 35 °C causa la muerte de forma muy rápida, las sustancias químicas con las que podemos matar o inactivar a las leptospiras son: fenol al 5%, alcohol al 70%, formol al 2%, nitrógeno líquido a temperatura de – 70 °C, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, sosa cáustica al 2%, en aproximadamente 5 minutos, solución de ácido sulfúrico al 0.05% en 5 minutos, también son muy sensibles a la solución hipertónica de sal común 2.8%, bilis, putrefacción, y a la mayoría de antibióticos in Vitro o in vivo tales como: penicilina, estreptomycin, aureomicina y al grupo de los macrólidos. (F. Horsch, 1981)

Cabe destacar que las leptospiras en la orina que tiene reacciones ácida mueren rápidamente, es por esta sencilla razón de que en la orina de los seres humanos no se disemina la infección mientras no sea diluida, pero no así en la orina débilmente alcalina como la de: suino, equinos y bovinos que eliminan durante periodos largo la bacteria, en la orina ácida muere rápidamente como es el caso de los carnívoros (perros). (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

Las leptospiras para poder sobrevivir en el medio ambiente necesitan que este posea las siguientes condiciones: humedad alta, temperatura de 24 – 28 °C, pH neutro o ligeramente alcalino, presencia de materia orgánica, bajo estas condiciones y con un suelo saturado las leptospiras son capaces de sobrevivir hasta 183 días en suelo, en el caso de suelos secos solo sobreviven 30 minutos. En el agua estéril sobreviven hasta 3 meses o mas, en aguas alcalinas 1–2 semanas, en la orina alcalina sobrevive 16 días o mas, han sido reportado algunos casos de supervivencia de leptospiras en leche refrigerada 3 días o menos, leche adulterada con agua hasta 60 días. En los tejidos no contaminados y guardados a

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

4 °C sobreviven 3-4 semanas, en sangre no coagulada y desfibrinada mantenida a 20–25 °C viven de 3–6 semanas. En medios de cultivos, sangre y tejidos contaminados que hayan sido congelados rápidamente a –70 °C se mantienen 5 años o más, también esta demostrado que las bacterias de leptospiras son capaces de sobrevivir en músculo 13 días, 12 días en riñón y hígado, 8 días en el bazo tras la muerte del animal. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.5 EPIDEMIOLOGÍA

A como sabemos la leptospirosis es considerada la antropozoonosis que posee distribución mundial, por lo que el estudio epidemiológico es muy complejo, ya que hay un sinnúmero de factores que influyen en la presentación de esta enfermedad por lo que se hace difícil el poder extrapolar entre diferentes regiones geográficas, por lo que nos hemos visto obligado a tener conocimiento de los factores ambientales, condiciones climáticas de la zona en estudio, interacción entre ser humano – animales – medio ambiente. Las distintas cepas patógenas pueden afectar a los mamíferos, pero algunos actuaran solo como hospedador de mantenimiento o accidental en función del serovar considerado. (WHO 1999)

3.5.1 ESPECIES SUSCEPTIBLES

Las especies que poseen mayor importancia desde el punto de vista económico son: bovinos, equinos, suinos, caninos, otros animales domésticos y salvajes que son afectados en menor o mayor grado se encuentran los gatos, venados, mapachines, murciélagos, peces, reptiles, conejos, zorros, ratas, ratones. (Dr. R.A. Hartskeerl et al, 2002)

3.5.2 HOSPEDADOR DE MANTENIMIENTO

Son aquellos que aseguran la perpetuación de una población determinada de bacterias sin la intervención de ningún hospedador accidental. A la población de mantenimiento se le llama reservorio continuo de un serovar en un ecosistema determinado. Los mamíferos salvajes o domésticos actúan como hospedadores de mantenimiento de cada serovar o serogrupo de leptospira patógeno. Una especie animal es capaz de ser reservorio de varios serovares y diferentes especies animales pueden serlo de un mismo serovar. (WHO, 2002.)

Un hospedador de mantenimiento debe poseer las características siguientes:

- Gran receptividad a la infección por el serovar frente al que mantiene se como hospedador (dosis infectiva es menor).
- Relativa o baja patogenicidad del organismo en el hospedador.
- Aparición de infección renal con leptospiruria prolongada.
- Infección crónica.
- Transmisión eficaz de la infección a los animales de la misma especie por contacto directo.

La leptospira es capaz de mantenerse en algunos hospedadores en el tracto genital con lo cual causa esterilidad, afectación reproductiva, aborto e infesta al macho o a otras hembras. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

En los hospedadores de mantenimiento la infección se transmite independientemente de las condiciones climáticas y ambientales, pero en el caso de la transmisión de la infección de hospedadores de mantenimiento y accidental o viceversa, se hace necesario la supervivencia del agente (leptospira) en el medio ambiente para poder efectuar la infección.

Las especies silvestres que actúan como hospedadores de mantenimiento en algunos países son: Europeo: rata gris (*Rattus norvegicus*), rata negra (*Rattus rattus*) hospeda a icterohaemorrhagiae en toda Europa, topillo (*Microtus arvalis*) de grippotyphosa en Holanda y Francia, erizo (*Erinaceus europaeus*) de bratislava y australis en Francia, el ciervo y el mapache reservorios silvestres de pomona. Las ratas son hospedadores de mantenimiento principalmente al serogrupo icterohaemorrhagiae y ballum; cerdo a pomona, bratislava y tarassovi; perro a canicola, ganado bovino como hospedador de mantenimiento del serovar hardjo, pomona, grippotyphosa en EE.UU pomona, pero en Europa señalan que la especie equina mantiene al serovar bratislava. En nicaragua según el estudio llevado a cabo en 1995 revelo que los equinos actuaban como hospedador de mantenimiento de: australis, bratislava, canicola, icterohaemorrhagiae y como

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

hospedador accidental de pomona (tipo kennewicki). (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.5.3 HOSPEDADORES ACCIDENTALES

Se dice que cualquier mamífero puede ser hospedador accidental de leptospiras, pero debe poseer las características siguientes:

- La transmisión se da entre individuos de una misma especie y de forma esporádica.
- Los signos clínicos que se presentan son de enfermedad aguda a grave (hepatitis, crisis hemolítica).
- Leptospiruria solo dura algunas 2- 3 semanas.
- Las muestras para un diagnostico claro es el animal enfermo.
- Bajo porcentaje de animales seropositivos.

(K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.5.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y PREVALENCIA

La leptospirosis se encuentra distribuida mundialmente por lo que teóricamente, cualquier mamífero puede ser infestado por cualquier serovar, pero la realidad es otra ya que algunos serovares son considerados endémicos y enzoóticos en una región.

A nivel internacional los países endémicos son: España; Barbados; Holanda; Francia; Rusia; Perú; Argentina; Chile; Canadá; Eslovaquia; Escocia; Pakistán; Tailandia; Nigeria; Alemania; Costa Rica; Nicaragua; Dinamarca; Italia; Cuba; Zaire; Irlanda del Norte; Bangla Desh; Japón; Venezuela.

Los países epidémicos son: Brasil; China; India; Puerto Rico y casos aislados de Estados Unidos de las América.

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

En esta forma los serovares tales como; pomona; icterohaemorrhagiae; canicola y grippotyphosa son considerados de distribución mundial. La presencia de uno u otro serovar en una zona, región, país depende de la presencia de animales mamíferos silvestres en esa región, pero Van Der Hoeden 1958 declaró que la distribución y la incidencia dependen exclusivamente del tipo de suelo y pH; temperatura; condición ambiental y capacidad de las aguas naturales de mantener a estos microorganismos sin dañarlos. (WHO, 2002)

3.5.4 PREVALENCIA

La prevalencia que se ha encontrado en equinos a nivel mundial ha sido 25–30%, esto según García – Carullo, 1966; Verma, 1977; Carpio y Iverson, 1979; Perdomo y Garin, 2002, ellos son los que han afirmado que esta es la prevalencia que se ha encontrado en equinos.

Para los bovinos es a nivel individual 7.6–10.4 y 42.8 en un rebaño, esto lo afirma Alonso–Andicoberry, 2001.

De forma particular Paparamborda ha publicado en 2001 que la prevalencia para seres humanos es de 24 % y 40% para cerdos.

En Nicaragua la seroprevalencia encontrada en equinos de El Sauce y Achuapa en 1995 fue del 33.33%. (Trevejo. R, et al 1995)

En Río de Janeiro, Brasil 2006 reportó una seroprevalencia del 42.9 % en yeguas en reproducción. (Lilenbaum W, 2006)

En un estudio llevado a cabo en Nicaragua por el Centro Nacional de Referencia del Ministerio de Salud en equinos de El Sauce y Achuapa 2003 refleja una seroprevalencia del 23%. (TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004)

3.5.5 FUENTES DE INFECCIÓN

La forma de contaminación a los seres humanos es por contacto directo con animales enfermos o de forma indirecta por contacto con orina de animales enfermos, también por ingesta de alimentos y aguas contaminada, leche cruda, descarga vaginal, fetos abortados. A las personas que se desempeñan como veterinarios, trabajadores de mataderos, médicos de inspección de carne, granjeros, trabajadores de control de roedores son las personas que están más expuestas a contraer la enfermedad o infestarse por la estrecha relación y convivencia con animales enfermos. Los seres humanos que también están expuestos a contraer la enfermedad son los trabajadores que de una forma u otra mantienen contacto directo y/o indirecto con los animales: mineros, soldados, trabajadores de higiene y pesca, trabajadores de ferias de animales y de canal, arroceros, cortadores de caña de azúcar entre otros. (TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004).

Los animales sanos son infestados por medio del contacto directo con animales enfermos. Otra fuente de contaminación, pero indirecta la constituyen la orina de animales enfermos, el agua, leche, forrajes, pastos, tejidos de animales, descargas posparto, saliva, semen, instrumentos quirúrgicos, así como vectores siendo los roedores (ratas y ratones), los más importantes por la condición de ser reservorios de esta enfermedad de forma natural. (K. Sandoval y E. Ramírez, 2005).

A continuación describimos como es que las leptospiras son capaces de mantenerse en el agua; orina; leche; tejido animal; descargas posparto y como podemos contaminarnos los seres humanos y los animales por el simple contacto directo o indirecto con estos materiales:

AGUA: Las leptospiras son capaces de mantenerse en el medio siempre y cuando este posea las condiciones adecuadas de supervivencia, es por eso que debe haber entre el medio y estos microorganismos una buena vinculación, ya que al

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

propiciarle una humedad relativamente alta y una temperatura a su punto óptimo (24-28 °C) tendrán un efecto beneficioso para la bacteria, porque si la temperatura del agua es baja disminuirá la multiplicación, pero alargará el tiempo de supervivencia, en cambio si la temperatura es alta propicia la multiplicación y acorta el tiempo de supervivencia. Las leptospiras son capaces de sobrevivir y mantener su capacidad infestante en el agua durante 22 días, es por estas razones de que los brotes son frecuentes en épocas lluviosas a como suponemos que es lo que ocurrió en 1995 en el Sauce y Achuapa, también cabe destacar que hubo una nueva reactivación en 1998 por el huracán Mitch. Estas bacterias no son capaces de sobrevivir en todas las aguas, sino que dependen del tipo de pH y la salinidad.

ORINA: En muchas ocasiones la infestación con leptospira depende casi exclusivamente del contacto con orina de animales enfermos, portadores o reservorios, pero el factor que hace determinante que estos microorganismos sobrevivan en la orina depende de forma exclusiva del pH, ya que no es capaz de soportar pH ácidos, los equinos son capaces de eliminar la bacteria hasta 210 días por poseer una orina débilmente básica al igual que la de cerdos y bovinos estos últimos favorecen la supervivencia, ya que en 1 ml de orina pueden encontrarse 100 millones de leptospiras.

LECHE: Las hembras que están enfermas y en periodo de lactación son capaces de eliminar las leptospiras por la leche, pero aquí sobreviven muy poco tiempo debido a la existencia de sustancias antimicrobianas, también cabe mencionar que los seres humanos se han infestado al consumir leche cruda de animales infestados y/o convalecientes hasta tres días después del ordeño.

TEJIDO ANIMAL: Los microorganismos son capaces de sobrevivir en los animales que han muerto, ya que no dependen del pH posmortem, ni del efecto antagónico con otras bacterias, es por eso que las leptospiras son capaces de sobrevivir y mantener su capacidad infestante en los tejidos de animales en los mataderos y fetos abortados.

DESCARGAS POSPARTO: Ha quedado demostrados que las descargas post aborto se convierten en fuente de contaminación, ya que las leptospiras son capaces de mantener su capacidad infestante 8 días después de haber pasado el proceso de post infección.

(K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.5.6 FACTORES ASOCIADOS A LA INFECCIÓN SON:

DEPENDIENTES DEL AGENTE ETIOLÓGICO

a). CONDICIONES MEDIOAMBIENTALES: Temperatura de 24 – 28 °C, pH neutro o ligeramente alcalino, humedad relativamente alta, presencia de materia orgánica, existencia de ríos de donde consumen agua los animales y muchas veces los humanos por no tener agua potable como ocurría en las comunidades del Sauce y Achuapa donde se tomaron las muestras de este estudio, estacionalidad del año (invierno).

b). CAPACIDAD INFESTANTE: Esta presentan una capacidad muy variable ya que esta en función del serogrupo o serovar, porque unos serovares son capaces de sobrevivir en un país o región determinada y otros no.

DEPENDIENTE DEL HOSPEDADOR

a). EDAD: Estudios que se han llevado a cabo en otros países demuestran que en los animales de mayor edad se ha encontrado mayor seropositividad con anticuerpos leptospirales. La mortalidad es de 20-30 % en los equinos adultos ya que la enfermedad cursa de forma crónica y silenciosa y 60–70 % en los de menor edad, pero la morbilidad es alta hasta 70 - 80 % en adultos y 90 – 100 % en los de menor edad. Muchas veces la aparición de seropositividad con anticuerpos leptospirales esta influenciado por la edad, ya que a los animales adultos se les relaciona con el estado de portador renal, mientras tanto en los pequeños se

caracterizan por eliminar mayor cantidad de leptospira por la orina.

b). GESTACIÓN: En las publicaciones hechas por W. Lilenbaum en Brasil (2006) y por K. Sandoval y E. Ramírez (2005), demuestran que el aborto se produce en los últimos estadios de gestación entre el 6–9 mes, por lo que muchas veces se supone y se confunde con brucelosis, la infección parece producirse varias semanas antes, ya que el periodo de incubación en el caso de aborto suele ser largo, además que el aborto es casi siempre causado por serovares accidentales y se debe a un aumento en la temperatura de la hembra gestante.

c). ESTADO INMUNITARIO: Los animales que han sido expuestos previamente, son refractarios a la reinfección de este mismo serovar, aunque los niveles en sangre hayan bajado. También existe relación con los niveles de inmunoglobulina (*IgM* o *IgG*), cuando estas aumentan en orina la cantidad de leptospira que se elimina es menor.

DEPENDIENTE DEL MEDIO

a). ALIMENTACIÓN: A los animales que han sido alimentados con ensilaje de grano como suplemento, provoca que el pH bajara a nivel ácido, con lo que se refleja la eliminación de poca leptospira en orina,

b). INFECCIONES CONCURRENTES: Se ha demostrado que después que un animal sufre de una infección cualquiera, hay un aumento a la receptividad de que estos animales contraigan la leptospirosis, debido a que el sistema inmunitario esta bajo o débil.

c). APTITUD Y MANEJO: Los equinos que conviven con otros animales tienen mayor probabilidades de contraer la leptospirosis y convertirse en hospedadores accidentales o de mantenimiento, no así los que conviven de forma separada. Las exposiciones, ferias, carreras y los trabajos a los que son sometidos los equinos propician la transmisión entre ellos y hacia otros animales o al ser humano.

3.5.7 VIAS DE TRANSMISION

Las dos vías principales de transmisión son: Directa e Indirecta.

HORIZONTAL DIRECTA: Es la más frecuente en aquellos casos de serovares adaptados como es el caso de hardjo.

1). CONTACTO DIRECTO: Al haber una convivencia de los animales sanos con los enfermos o asintomático estos últimos se convierten en hospedadores de mantenimiento y son capaces de infestar a los animales sanos. Esta vía de transmisión se considera fundamentalmente en aquellas especies cuyo hábitat se encuentra en áreas de condiciones climáticas favorables.

2). NÚCLEOS GOTICULARES: Son de gran importancia debido a que las gotas de orina se dispersan a varios metros del animal que orina, pudiendo así contagiar un animal enfermo a un sano por la vía inhalatoria, conjuntival o contacto con piel lesionada.

HORIZONTAL INDIRECTA: El principal papel de esta vía radica en aquellas infecciones accidentales, ya que ocurre cuando los equinos o cualquier otra especie animal son expuestas a un ambiente contaminado con material infestante. Los materiales involucrados en esta vía de transmisión son los fomites (agua, alimentos, pastos, suelos) que facilitan un fácil contacto del animal–humano–agente causal y la forma más frecuente en que el ser humano y los animales se infestan es a través del contacto con la piel lesionada o las mucosas con agua, barro contaminados por orina de animales enfermos y contacto en los mataderos con los órganos de animales enfermos; otro de los materiales que juegan un papel súper importante y el que más se da en Nicaragua por las formas de alimentar a los animales que es a través del pasto con lo cual ocurre una contaminación intra e inter especie.

VERTICAL.

a). TRANSPLACENTARIA: Las leptospiras son capaces de atravesar la placenta en los periodos de leptospiremía dando así origen a abortos, mortinatos de neonatos, nacimiento de animales débiles.

b). VÍA ORAL: Ocurre por la ingesta de pasto contaminado con orina de animales enfermos o de reservorios.

3.6 PATOGENIA

Las leptospiras son una de las bacterias que presentan mayor acción de invadir debido a la producción de enzimas, factores mecánicos, motilidad por excavación y tropismo orgánico; es por estas razones que las leptospiras son capaces de alcanzar líquido cefalorraquídeo y el ojo lesionándolo causando incluso una ceguera total por la uveítis con tendencia al desprendimiento. Las capacidades de causar lesión a los órganos y tejido radica en los factores tóxicos (hemolisina, fibrinolisin, lipasas) y endotoxinas (catalasa, hialuronidasa).

Las bacterias penetran al organismo de los equinos, otros animales (bovino, suino, caninos, etc.) y el ser humano a través del alimento, agua contaminada o por medio de las membranas mucosas del ojo, boca, fosas nasales, vagina, pene, también puede penetrar por la piel lesionada (heridas, erosiones, magulladuras) o piel intacta pero reblandecida por el agua. Cuando el agente ya a penetrado invade el torrente sanguíneo y se multiplica; en el parénquima hepático durante el periodo de incubación que va de 2–30 días según sea el caso, luego circula en sangre con lo que da origen a leptospiremia que dura entre 5–7 días produciéndose pirexia y la eliminación de leptospira en leche, también ocurre anorexia, daño funcional a algunos órganos (hígado, bazo) en animales jóvenes.

Los anticuerpos aparecen aproximadamente en 10 días postinfección junto con la acción leptospiricida de las beta-macroglobulinas del suero y la acción del complemento con lo que provocan desaparición de las leptospiras en torrente sanguíneo, pero se localizan en distintos órganos como: cámara anterior del ojo, meninges, riñón donde los anticuerpos tienen acceso limitados por las estructuras de este y útero grávido dando origen al aborto.

La ruta de entrada es: mucosa nasal, oral, conjuntival y abrasiones de la piel; al momento de penetrar la bacteria se dirige al torrente sanguíneo donde se multiplica y se incuba por aproximadamente 12 días, luego se origina una fase leptospirémica que dura 7 días y se caracteriza por fiebre, anorexia, disnea y

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

postración es en este instante en que las leptospiras alcanzan el torrente circulatorio llegando así a alcanzar los órganos internos: hígado, riñón, útero grávido, vagina, ovarios, oviductos, membranas fetales, glándula mamaria, en el macho los testículos, epidídimo y vesícula seminal donde ocurre daño tisular mas o menos severo, pero esta en dependencia del serovar involucrado.

La fase de leptospiremía cesa con la aparición de anticuerpos o las leptospiras son eliminadas por fagocitosis de los órganos internos, pero esto no ocurre en el riñón donde sobreviven formando microcolonias en los túbulos renales principalmente en las proximidades de las microvellosidades donde la nefritis esta determinada por el daño capilar a la vez que esta acción se ve facilitada por la producción de ureasa por parte de las leptospiras y de aquí es la razón de que sean excretadas por orina a través de largos periodos de tiempo e incluso durante toda la vida. La fase de leptospiruria también es importante para el mantenimiento de la infección, ya que en esta fase es donde aparecen la mayoría de signos clínicos (anorexia, pirexia, conjuntivitis) de enfermedad aguda y muchas veces son atribuidos a la existencia de determinados factores de patogenicidad bacteriana como las hemolisinas que causan hemólisis y las lipasas, estos factores son mas frecuentes en determinados serovares tales como: pomona, grippotyphosa.

Al estar localizada las bacterias en hígado y humor acuoso complican el cuadro clínico, también cabe mencionar que el aborto se da por un aumento en la temperatura (fiebre); la aparición de uveítis recurrente en equinos se involucra a la producción de anticuerpos contra el antígeno leptospiral en reacción cruzada con tejidos oculares, además que el daño de la retina con uveítis tiene una relación con la presencia de linfocitos B en la retina.

(K. Sandoval y E. Ramírez; 2005)

3.7 SINTOMATOLOGIA

En los equinos los síntomas son variables, ya que en la mayoría de las veces esta enfermedad tiene un curso crónico, inaparente e inespecífico de modo que puede haber fiebre, ictericia, hemoglobinuria, necrosis de la piel y labios, conjuntivitis con edema en los párpados, lagrimeo y fotofobia.

La oftalmia periódica es considerada como una complicación de la leptospirosis, ya que en la mayoría de los casos este síndrome aparece entre los 2–8 meses después de haber padecido la enfermedad aguda como una panoftalmía no purulenta con preponderancia de uveítis y tendencia al desprendimiento lo que provocará en mucho de los casos ceguera total.

Los abortos ocurren cuando se presenta la enfermedad en su forma aguda y en la mayoría de las veces estos abortos ocurren en el último tercio de gestación por lo que se tiende a confundirse con abortos por brucelosis y se debe a un aumento en la temperatura (fiebre).

(F. Horsch; 1981)

3.8 LESIONES ANATOMAPATOLGICAS

Las lesiones que aparecen en la leptospirosis no son patonogmónicas y es por esto que a la hora del diagnostico no debemos basarnos en ellas, porque muchas veces las lesiones son poco observables, ya que depende del serovar implicado, los órganos y la especie animal afectadas.

En los cadáveres se han encontrado ictericia manifiesta, necrosis de la piel; ollares; cavidad nasal y bucal. Al realizar la necropsia se observa hígado hipertrofiado y pálido, vesícula biliar llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro, bazo ligeramente aumentado de tamaño y color amarillento en la superficie. A nivel del músculo cardiaco hay degeneración y en algunos puntos hemorragias, los riñones se encuentran edematosos de color rojizo o pardo oscuro con nefritis intersticial, lesiones necroticas e ictéricas por toda la superficie. La vejiga se encuentra llena de orina turbia o rosada y hay lesiones petequiales dispersas en diferentes partes del cuerpo (boca, labios, lengua).

(F. Horsch; 1981)

3.9 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de esta enfermedad no es nada sencillo, a pesar de que existen en la actualidad una serie de pruebas laboratoriales disponibles. El diagnóstico se vuelve difícil por las características intrínsecas de las leptospiras y a la epidemiología. Las pautas a tomar para llevar a cabo un diagnóstico claro, bueno y preciso se deberá hacer tomando en cuenta la epidemiología, sintomatología clínica y el diagnóstico de laboratorio. Aunque en sí el diagnóstico debería basarse en el aislamiento, cultivo e identificación de la bacteria, pero las exigencias de este microorganismo tales como crecimiento lento y difícil no nos permiten aplicar estas técnicas diagnósticas por lo que se opta llevar a cabo estudios epidemiológicos como este donde el objetivo es la obtención de un resultado de seroprevalencia y tipificación de serovares circulantes.

Debemos tomar en cuenta que el **diagnóstico epidemiológico** debe contener lo siguiente:

- Anamnesis (edad, sexo).
- Antecedentes de la región en estudio (casos positivos de leptospiras).
- Factores climáticos (precipitación pluvial, temperatura, desastres naturales).
- Presencia de otras especies domésticas (suinos, caninos, bovinos).
- Control de roedores en las fincas.

El **diagnóstico clínico** es muy difícil debido a los síntomas inespecíficos que posee esta enfermedad y más aun por el curso que es casi siempre asintomático.

El **diagnóstico laboratorial** se puede hacer con las distintas técnicas serológicas que existen y son útiles tales como:

- Técnicas indirectas que nos permiten detectar anticuerpos a leptospiras: MAT; Fijación del Complemento; ELISA; Hemoaglutinación Indirecta; PCR.
- Técnicas directas que están encaminadas a detectar leptospiras o sus antígenos y ácidos nucleicos en las distintas muestras: Observación en microscopio de

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

campo oscuros; Tinción argénica; Técnica de tinción Inmunohistoquímica (Inmunofluorescencia, Inmunoperoxidasa, Marcado de partículas de oro); Técnica de detección y estudio de ácido nucleico, Aislamiento.

El método serológico de referencia y el utilizado en este estudio investigativo es la técnica de MAT. El MAT se emplea para la detección de anticuerpos en sueros de animales sospechosos o enfermos, estos sueros reaccionan con antígenos vivos de leptospiras de 10 días de crecimiento en medio líquido EMJH con enriquecimiento. La técnica de MAT fue ideada por Martín en 1917 y Pettit 1918 quienes lograron describir el fenómeno de aglutinación y lisis con suero; a partir de esa fecha este método ha sido modificado y mejorado por distintos autores tales como los que cito a continuación: Schüffner y Mochtar, 1926; Borg-Peterson y Fagroeus, 1949; Wolf, 1954; Carbrej, 1960; Galton, 1965; Cole, 1973; Suzer y Jones, 1973; estas personas son quienes lograron estandarizar factores como: tiempo, temperatura de incubación, punto de corte, concentración de antígeno y la edad de siembra, a la vez estos fueron quienes demostraron que no se producía lisis a como se pensaba en la antigüedad, sino aglutinación.

Esta técnica posee una sensibilidad de 92% y una especificidad de 95%, además el valor predictivo positivo es 95% y negativo 100%. Para llevar a cabo el MAT es importante utilizar cultivos de 4-8 días de edad, ya que esto nos permitirá obtener resultados más confiables y no tendremos títulos por debajo lo cual se debe a reacciones inespecíficas.

Los títulos de anticuerpos del suero será la dilución más alta en la que encontremos más del 50% de aglutinación; el punto de corte más recomendado es en bovinos 1/100 y para perros, felinos, ovinos, suinos y equinos 1/50.

3.9.1 DESVENTAJAS DEL MAT

- No distingue anticuerpos vacúnales de los de infección.
- Resulta difícil su estandarización porque su valoración es subjetiva.
- Requiere el mantenimiento de cultivos de leptospiras.

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

- No siempre detecta a los animales infectados, en especial cuando el serovar implicado *L. hardjo* que presenta poca antigéneidad.
- Difícil de realizar.
- Totalmente costosa.

3.9.2 VENTAJAS DEL MAT

- Es segura y confiable.
- Sirve de base para evaluar otros métodos serológicos.

Las técnicas bacteriológicas brindan resultados muy importantes debido a que nos permiten observar, aislar e identificar el microorganismo, pero son muy complejas. Muchas veces los diagnósticos laboratoriales deben basarse en el conocimiento de la patogenia de la bacteria y de sus propiedades.

Otras de las utilidades que tiene la técnica del MAT es que además de detectar anticuerpos antileptospira en el suero, identificar los aislamientos, clasificar las cepas y servir de base para evaluar otros métodos serológicos.

(K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.9.3 Diagnostico diferencial

Para llevar a cabo este tipo de diagnostico debemos poseer información profunda de la población en estudio, dicha información debe haber sido recabada a través de una buena anamnesis que tome en cuenta antecedentes particulares y presencia de síntomas o patologías en los animales 15-20 días antes de tomarles la muestra.

En los equinos se debe saber diferenciar de las siguientes enfermedades:

Anemia Infecciosa Equina.

Salmonelosis.

Babesiosis.

Brucelosis

Tripanosomiasis.

Artritis Viral Equina.

Rinoneumonitis Viral Equina.

(F. Horsch; 1981)

3.10 PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

El principal objetivo que debemos tener en cuenta a la hora de tomar las medidas de control y para que estas sean efectivas es de mucha importancia identificar a los posibles animales afectados, el serogrupo y serovar presente, ya que al estar presente uno u otro serovar así debemos actuar porque la existencia de hospedadores de mantenimiento específicos hacen que las medidas de control sean distintas para cada tipo de hospedador (mantenimiento o accidental).

3.10.1 PROFILAXIS

Teniendo en cuenta la epidemiología de la leptospirosis sabemos que es muy variable y que el control de esta enfermedad es muy difícil debido a que el microorganismo es capaz de albergarse en riñón de donde es eliminado con la orina durante mucho tiempo, perpetuándose el estado portador, pero lo que debemos hacer es poseer un conocimiento de la prevalencia de serotipos específicos en una determinada población y describir los focos de contagio, para evitar la aparición de nuevos casos. (WHO, 1982)

3.10.2 INMUNOPROFILAXIS

Se puede llevar a cabo por medio de la vacunación como inmunización pasiva con suero hiperinmune, pero en nuestro país no poseemos vacunas que protejan a los equinos contra esta enfermedad, por lo que con este estudio pretendemos dar a conocer la Seroprevalencia de leptospirosis en equinos y la tipificación de serovares circulantes en las comunidades de El Sauce y Achuapa, con el objetivo de que se tomen medidas preventivas y es por eso que el uso de las vacunas es la mejor herramienta para el control de esta enfermedad, pero debemos mencionar que las vacunas presentan los siguientes inconvenientes como son:

- Las vacunas comerciales son bacterinas.
- No proporcionan inmunidad cruzada entre serovares distintos.
- La protección es limitada a cepas distintas de un mismo serovar.

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

- Los serovares y cepas varían en cada país o región, por lo que al exportar vacunas elaboradas en otros países, se corre el riesgo de que no sean eficaces y por tanto no den protección.

Además los estudios revelan que el uso de vacunas mono, bi y pentavalentes no evitan la infección, la migración al útero y oviducto ni la persistencia de la infección renal y por lo tanto tampoco evitan la leptospirosis, nacimientos de crías débiles y mortinatos.

(K. Sandoval y E. Ramírez, 2005)

3.10.3 PROFILAXIS HIGIÉNICO-SANITARIA

Es de mucha importancia en el control de la leptospirosis, pero siempre debemos tomarlas en cuenta de forma conjunta con el tratamiento y la vacunación, ya que ninguna es eficaz de forma separada.

Las medidas higiénico-sanitarias deberán estar basadas en: control de hospedadores de mantenimiento silvestres y el control de hospedadores domésticos, también se deberá tener en cuenta el papel que juegan los factores ecológicos que influyen en la epidemiología de la leptospirosis tales como: densidad de población animal, migración natural o planeada, características geográficas; agronómicas y meteorológicas de la zona en estudio.

A continuación exponemos algunas de las recomendaciones que se deben tomar en cuenta y que han sido utilizadas en otros estudios por distintos autores tales como:

- Educar a la población sobre todo aquellas de alto riesgo de contagio y como evitar la enfermedad.
- Protección adecuadas de los: ganaderos, veterinarios, obreros agrícolas (cañeros y arrozales), mediante el uso de calzado y vestimenta adecuada (botas, guantes, antiparras, tapaboca, todos estos estarán de acuerdo a la tarea que desempeñen.
- Impedir el ingreso de animales (domésticos, salvajes y roedores) al interior del la

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

casa, lugares de almacenamiento del alimento.

- Prohibir a la población el uso de aguas donde se bañan o toman agua los animales (ríos, lagunas, charcos), que son una de las principales fuentes de contagio por estar contaminadas con el agente (leptospiras).
- Mantener y pastorear de forma separada las distintas especies animales.
- Aplicar el tratamiento específico a los animales y las personas con síntomas trasladarlas a la unidad de salud más cercana para que sea debidamente tratada.
- Llevar a cabo más estudios de este tipo para tener una curva de prevalencia de la enfermedad en cada especie animal y los serovares que están presentes.
- Desratización mensual.
- Realizar informes anuales sobre la situación de la enfermedad en esta zona (Sauce y Achuapa). (Faine, 1982; OIE, 1992; WHO, 1993, K. Sandoval y E. Ramírez, 2005).

3.10.4 TRATAMIENTO ESPECÍFICO PARA EQUINOS

Primeramente debemos centrar el tratamiento que actúe de forma rápida y eficaz contra la leptospirosis, es muy importante tener un control de la enfermedad antes de que el agente causal provoque daños irreparables a nivel de riñón e hígado y ojo. Por lo que resulta muy útil el uso de todos los antimicrobianos, ya que tienen efectos a nivel de la leptospiras a excepción de las sulfamidas y cloranfenicol.

Los antibióticos que mas se recomiendan cuando se sospecha de una infección por leptospirosis son: dihidroestreptomicina, penicilina, estreptomicina, oxytetraciclina, tetraciclinas.

En los equinos el tratamiento más adecuado y correcto es el siguiente:

Dihidriestreptomicina: 20-25 mg/Kg/24h durante 4-6 días/IM.

Tetraciclinas: 15-25 mg/Kg/12h durante 4-6 días/IM.

Penicilinas en caso agudo: 10,000-20,000 UI/Kg/12h durante 5-7 días/IM.

En el caso de oftalmia periódica se debe usar corticosteroides por vía parenteral pomada de atropina tres veces al día, durante 6-8 día.

(Merck, 2000).

4. DISEÑO METODOLÓGICO

El presente trabajo investigativo se llevó a cabo por medio de un estudio de corte transversal por ser económico y el tiempo de estudio es corto; el cual nos permitió determinar la seroprevalencia de leptospirosis y tipificar los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa del departamento de León.

4.1. Lugar de Estudio

El presente estudio se llevó a cabo en equinos de las siguientes comunidades: Wiquili, El Carao, Las Peñas, La Calera, El Barro, Monte Frío (Municipio de Achuapa); Panales, Petaquilla, Sálales, Rió Grande, La Calera (Municipio de El Sauce), Departamento de León. Las comunidades de El Sauce y Achuapa fueron seleccionadas por conveniencia, ya que actualmente en ellas se detectaron casos positivos de leptospirosis en humanos y por el fácil acceso.

4.2. Población de Estudio

Según datos obtenidos a través del censo ganadero hecho a inicio del 2006 la población total de equinos de El Sauce y Achuapa era de 3000.

La población en estudio estuvo conformada por todos los equinos mayores de un año en las comunidades de El Sauce y Achuapa por donde se presentaron casos positivos de leptospirosis en humanos.

Los equinos fueron sometidos a una sola toma de muestra, la cual se llevó a cabo en los meses de Agosto – Octubre del 2006 en las comunidades antes mencionadas. Cabe destacar que la población total equina mayores de un año en estas comunidades estaba conformada por 197 equinos, pero se descartaron 15 equinos por que los propietarios no estaban de acuerdo con este estudio y la muestra se conformó por 182 equinos.

4.3. Criterios Intrínsecos

Todos los equinos que pertenecen a los Municipios de Achuapa y El Sauce son de raza criolla.

4.4. Criterios Extrínsecos

En las comunidades de Achuapa y El Sauce la crianza de los equinos es extensiva, la cantidad aproximada de equinos que tienen en una finca es de 2-3, las condiciones sanitarias y el cuidado que le brindan los propietarios a sus equinos no son buenas.

4.5. Factores de Inclusión

Equinos mayores de 1 año de comunidades con casos positivos de leptospirosis en humanos y de propietarios que estaban de acuerdo con la realización de este estudio.

4.6. Factores de Exclusión

Animales de personas que no estaban de acuerdo con el estudio o que no quisieron que se les tomaran muestra a sus animales la que en total fueron 15 propietarios para un 8% de rechazo.

4.7. Recolección de la muestra

Para recolectar los datos se visitó casa por casa a los productores dueños de los animales y se les pidió su consentimiento para tomar a cada equino una muestra de sangre de la siguiente manera:

Se sujetó al equino y seguidamente se procedió a tomar sangre directamente de la yugular utilizando un vacutainer con su respectivo tubo al vacío estéril y sin anticoagulante o una jeringa de 10 ml estéril, la cantidad estimada a tomar de sangre fue de 3-5 ml. Las muestras tomadas y marcadas se colocaron en gradillas, luego fueron llevadas a DANIDA donde se centrifugaron y el suero obtenido se colocó en microviales de 1.5 ml, los que se mantuvieron en refrigeración.

4.8. Unidad de análisis

Los 182 sueros sanguíneos obtenidos a través de la centrifugación de la sangre de los equinos en DANIDA El Sauce.

En este presente estudio se presentaron las siguientes limitaciones: en primer lugar el aspecto económico, además de la limitación que representa el escoger una muestra por conveniencia debido que nos da un sesgo y no nos permite extrapolar los resultados con toda la población como si la muestra fuese seleccionada de forma aleatoria.

Los resultados obtenidos se presentaron a las autoridades de los municipios de El Sauce y Achuapa y se divulgaron en los medios públicos.

4.9. MATERIALES UTILIZADOS

1. Gabachas desechables.
2. Guantes de látex descartable, no estéril (NIPRO).
3. Tubos de ensayo (vidrio) 16x100mm con tapón de hule.
4. Tubos al vacío (VACUETTE) de 9 ml, 16x100mm.
5. Bolsas plásticas.
6. Gradillas plásticas y metálicas.
7. Jeringas y agujas estériles.
8. Marcadores.
9. Pipetas pasteur.
10. Pipetas automáticas (1-200 μ l, 1-50 μ l y 100-1000 μ l).
11. Puntas para pipetas automáticas de 50 μ l y 100 μ l (Fisher Scientific).
12. Placas flexibles de 96 pocillos, fondo en U, sin tapa, no estéril (FALCON).
13. Alcohol al 70%.
14. Fenol al 5%.
15. Brotes (agitador) "Heidolph".
16. Incubadora grande (Fisher Scientific).
17. Refrigeradora (SAMSUNG).
18. Centrifuga.
19. Centrifuga para microviales (IEC Micro-MB Centrifuga).
20. Balanza eléctrica.
21. Peachimetro (pH) (Corning).
22. Cabina de bioseguridad "Bio-II-A" (TELSTAR).
23. Microscopio de campo oscuro "OLYMPUS Bx40".
24. Papel toalla y de aluminio.
25. Algodón.
26. Porta y cubre objetos.
27. Reactivos: PBS (Fosfato Buffer Salino), Buffer para MAT.

4.10 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL MAT (TEST DE MICROAGLUTINACIÓN O AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA).

El MAT es la técnica de oro utilizada para el diagnóstico serológico de leptospirosis. Esta técnica se utiliza para detectar anticuerpos en sueros de animales o seres humanos sospechosos o enfermos, el suero sospechoso o del enfermo debe reaccionar con antígenos vivos de leptospira de 10 días de crecimiento en medio líquido EMJH con enriquecimiento.

Los serovares utilizados en el presente estudio fueron obtenidos del Cepario Holandés y de las cepas de referencia en Cuba. Los que se conservan y se utilizan en el diagnóstico de la leptospirosis en el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) – MINSA. De los serovares disponibles se utilizaron doce:

L. canicola, *L. grippityphosa*, *L. hebdomadis*, *L. icterohaemorrhagiae* (RGA), *L. icterohaemorrhagiae* (M20), *L. pomona*, *L. pyrogenes*, *L. sejroe*, *L. patoc*, *L. icterohaemorrhagiae* (Wijnberg), *L. icterohaemorrhagiae* (kennewikies), *L. lousiana*. Debido a que comparten antigéneidad y son las que se encuentran principalmente en nuestros animales.

Los cultivos utilizados en esta prueba se someten a pases cada 5-8 días para garantizar que estén en óptimas condiciones. Los títulos a los que se consideran positivos los equinos son los superiores a 1/50.

El MAT cualitativo es el que nos determina los serovares que se encuentran en el suero del animal afectado o rector.

MAT cualitativo: El suero problema se diluye primeramente en 1/50 en un tubo de ensayo (1960 µl de PBS+40 µl del suero problema). Luego se añade 50µl de esta dilución en cada pocillo de una microplaca o más microplacas según el número de antígenos utilizados (máximo 29 antígenos diferentes) y posteriormente se añade 50µl de antígeno en cada pocillo, esto se hace en forma horizontal a la microplaca. Se hace una muestra control en la que se añade 50µl de PBS en cada pocillo de

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

una microplaca o más según el número de antígenos utilizados (máximo 29 antígenos diferentes) y posteriormente se añade 50µl de antígeno en cada pocillo.

PBS= Fosfato Buffer Salino.

El MAT cuantitativo es el que determinará los títulos de anticuerpos que ha desarrollado el animal para un determinado serovar.

MAT cuantitativo: El suero problema se diluye primeramente en 1/5 en un tubo de ensayo (400µl de PBS+100µl del suero problema). Luego esta dilución se pasa a 1/50 en otro tubo de ensayo (200µl de la dilución 1/5 + 1800µl de PBS). Luego se le añade a otros 4 tubos de ensayo 400µl de PBS a cada uno y posteriormente se añade 400µl de la dilución 1/50 a uno de los tubo quedando este a una dilución de 1/100, de este tubo se añade a otro 400µl quedando este a una dilución de 1/200 y de este tubo se añade a otro 400µl quedando este a una dilución de 1/400 y finalmente de este tubo se añade al último tubo 400µl quedando este a una dilución de 1/800.

Luego se añade en los pocillos de la microplaca en forma vertical de arriba hacia abajo (HA) 50µl desde la dilución 1/50 hasta la dilución 1/800 y posteriormente se añade 50µl del antígeno a cuantificar. Se hace una muestra control en la que se añade 50µl de PBS en cada pocillo de una microplaca + 50µl de dilución 1/50 del suero problema.

Tanto en el MAT cualitativo como en el MAT cuantitativo una vez que se preparan las microplacas, estas se incuban a 37°C por 2 horas y luego se leen en el microscopio de campo oscuro a un objetivo de 20X para observar las aglutinaciones, las que tienen que ser más del 50% de leptospiras aglutinadas para considerarse como positiva una muestra. De cada pocillo se extrae 10µl y se deposita en un porta objetos para observarse al microscopio de campo oscuro.

5. RESULTADOS

De los 182 equinos muestreados 139 resultaron positivos en una dilución mínimo 1/100 contra uno o más serovares de *Leptospira*, representando una seroprevalencia de 76% (Fig. 1)



Figura 1. Seroprevalencia de leptospirosis en equinos de El Sauce y Achuapa obtenida por medio del MAT cuantitativo.

De los 182 equinos muestreados 139 resultaron positivos, 76 (41.46%) reaccionaron contra el serovar *L. pomona*, seguido por 51 (28.02%) contra *L. lousiana*; 49 (26.92%) contra *L. icterohaemorrhagiae* (M20); 32 (17.58%) contra *L. canicola*; 31 (17.03%) contra *L. pyrogenes*; 20 (10.99%) contra *L. icterohaemorrhagiae* (wijnberg); 17 (9.34%) contra *L. patoc*; 16 (8.79%) contra *L. grippotyphosa*; 10 (5.49%) contra *L. sejroe*; 8 (4.39%) contra *L. icterohaemorrhagiae* (RGA); 7 (3.85%) contra *L. hebdomadis*; 7 (3.85%) contra *L. icterohaemorrhagiae* (kennewikies); Fig. 2.

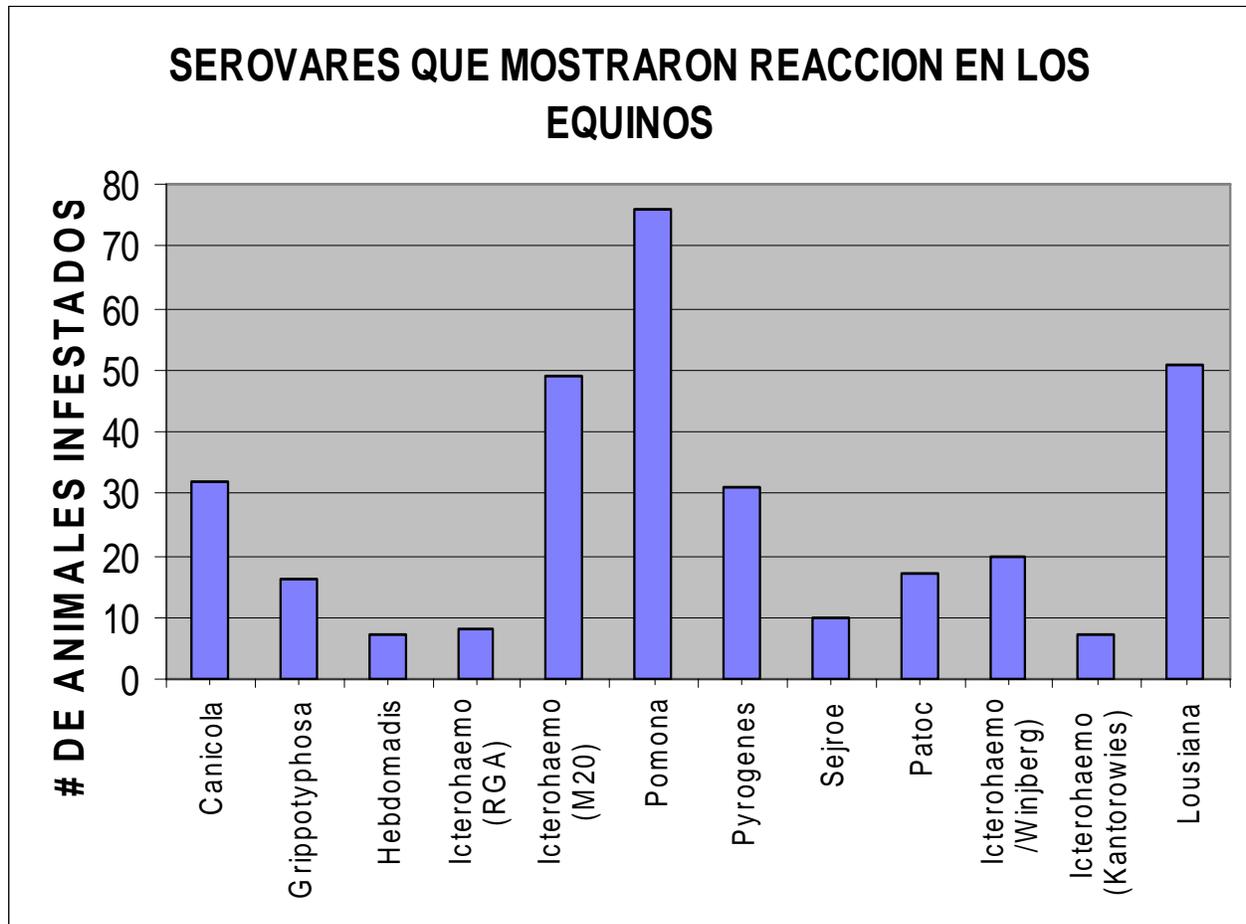


Figura 2. Serovares que mostraron reacción en los equinos de El Sauce y Achuapa a través de la técnica MAT cualitativo.

Las diluciones utilizadas en este estudio: 1/50, 1/100, 1/200, 1/400 y 1/800 a las cuales se sometieron con cada suero de los animales que resultaron reactor al MAT cualitativo. Esto es útil para valorar el nivel de anticuerpos que ha desarrollado cada animal reactor a las leptospiras.

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

Estos son los serovares y las diluciones utilizadas en este estudio: *L. canicola* las diluciones obtenidas 1/100 (29), en 1/200 (3) y para 1/400 y 1/800 (0). El serovar *L. grippotyphosa* la dilución 1/100 (11), 1/200 (4), 1/400 (1), 1/800(0). El serovar *L. hebdomadis* en 1/100 (7) y en 1/200, 1/400 y 1/800 (0). El serovar *L. icterohaemorrhagiae* (RGA) para dilución 1/100 (8), 1/200, 1/400,1/800 (0). El serovar *L. icterohaemorrhagiae* (M20) en la dilución 1/100 (41), 1/200 (6), 1/400 y 1/800 (1). El serovar *L. pomona* la dilución 1/100 (32), 1/200 (33), 1/400 (6), 1/800 (5). El serovar *L. pyrogenes* en 1/100 (24), 1/200 (6), 1/400 (1), 1/800 (0). El serovar *L. sejroe* 1/100 (9), 1/200 (1), 1/400 y 1/800 (0). El serovar *L. patoc* para la dilución 1/100 (15), 1/200 y 1/400 (1), 1/800 (0). El serovar *L. icterohaemorrhagiae* (wijnberg) 1/100 (19), 1/200(1), 1/400 y 1/800 (0). El serovar *L. icterohaemorrhagiae* (Kantorowies) 1/100 (6), 1/200 (1), 1/400 y 1/800 (0). El serovar *L. lousiana* en la dilución 1/100 (46), 1/200 (4), 1/400 (1) y 1/800 (0). Las diluciones utilizadas las podemos apreciar en la figura 3.

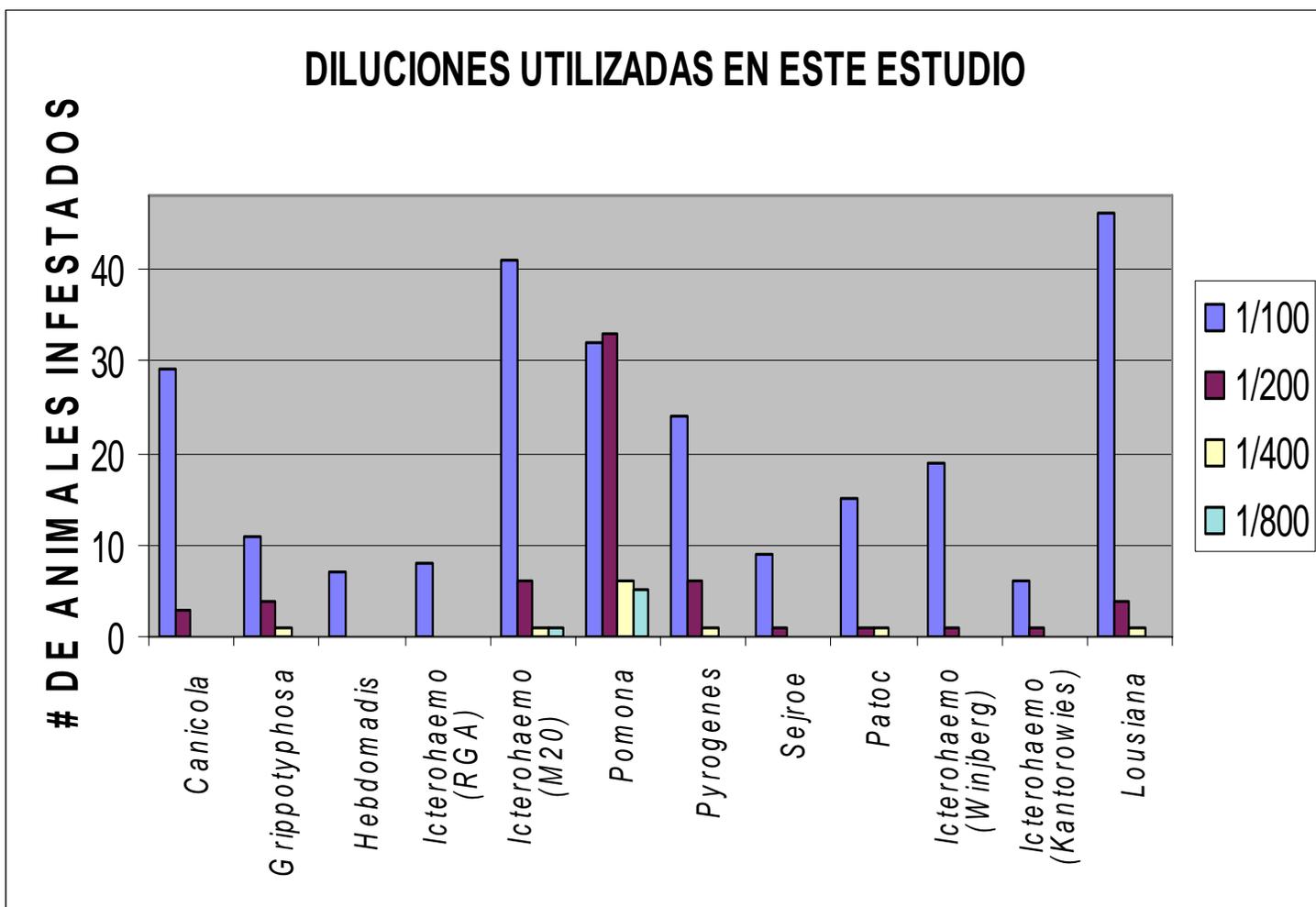


Figura 3. Diluciones utilizadas en este estudio para cada animal reactor a MAT cualitativo contra cada serovar de leptospirosis en equinos de El Sauce y Achuapa.

RESULTADOS ESTADISTICOS CON EPIDAT 3.1

Al investigar la seroprevalencia de leptospirosis equina a través de una prevalencia esperada de 25% y un nivel de confianza del 95%, se observó una prevalencia de 76%, que puede estar confiada en un intervalo entre 70 – 83%. Al comparar la prevalencia esperada con la encontrada se obtiene un *valor de p*= 0.0000 que confirma una significancia estadística de los resultados obtenidos. (EpiDat 3.1, Inferencia sobre una proporción, contraste de hipótesis)

6. DISCUSIÓN

Basado en los dos estudios el realizado por Trevejo. R, et al 1995, el del 2003 llevado a cabo por el CNDR y en este presente estudio donde se observa una seroprevalencia del 76% nos demuestra que la enfermedad de leptospirosis es endémica en los municipios de El Sauce y Achuapa, además debemos tener en cuenta que no contamos con programas de vigilancia epidemiológica y si las condiciones ambientales son propicias hay probabilidades de que aparezca un nuevo brote epidémico.

El estudio llevado a cabo en el 2003 por el Centro Nacional de Diagnostico y Referencia del Ministerio de Salud en equinos de El Sauce y Achuapa refleja una seroprevalencia menor (23%) comparado a lo encontrado en nuestro estudio, lo que posiblemente se debe a la selección de los animales. Solo se tomaron en cuenta los animales de las personas que se diagnosticaron positivas a leptospirosis obviando así todos los demás animales que podrían haber sido reactivos y se comportan como portador asintomático o silencioso. Mientras en nuestro estudio se incluyeron todos los equinos de todas las fincas de una comunidad por donde por lo menos había un caso positivo de leptospirosis en humanos, por esto también se puede obtener una seroprevalencia elevada.

Lilenbaum W. llevó a cabo un estudio en Río de Janeiro, Brasil 2006 y encontró una seroprevalencia del 42.9 % en yeguas en reproducción y la prevalencia a nivel mundial es de 25-30%, este alto porcentaje encontrada en Brasil puede deberse a que solo toman en cuenta a las yeguas en reproducción.

Los serovares que mayor predominancia tuvieron en las yeguas sometidas al estudio de Lilenbaum W. en Río de Janeiro, Brasil 2006 con anticuerpos ANTI leptospira fue *L. icteroherrhagiae* (43.40%), *L. bratislava* (27.23%), *L. pomona* (14.47%), en el presente estudio los serovares de mayor predominancia son: *L. pomona* (41.46%), *L. lousiana* (28.02%), *L. icterohaemorrhagiae* (M20) (26.92%), *L. canicola* (17.58%) y *L. pyrogenes* (17.03%), esta diferencia puede deberse a

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

que en Brasil el reservorio mas importante lo constituye el *Rattus norvegicus* y según el CNDR en nuestro país es el perro. Además de que los serovares son específicos de cada región, a como lo demuestran los siguientes datos: No se puede extrapolar entre diferentes regiones geográficas debido a la diferencia en los factores ambientales, condiciones climáticas de la zona en estudio, interacción entre ser humano – animales – medio ambiente, así como también existen hospedadores de mantenimiento y accidentales los cuales son distintos para cada región.

Los serovares tales como: pomona; icterohaemorrhagiae; canicola y grippotyphosa son considerados de distribución mundial (WHO, 2002)

7. CONCLUSIONES

- 1- Existe una elevada seroprevalencia de anticuerpos antileptospira en las muestras estudiadas 76% en comparación con la reportada en 1995 del 33.33% y con la obtenida en el 2003 por el CNDR de 23%.
- 2- Los serovares que reaccionaron con mayor frecuencia en este estudio son: *L. pomona*, *L. lousiana*, *L. icterohaemorrhagiae* (M20), *L. canicola*, *L. pyrogenes* y en Río de Janeiro Brasil 2006 los serovares encontrados con mayor frecuencia: *L. icteroherrhagiae*, *L. bratislava*, *L. Pomona*, esta diferencia de serovares puede deberse a la desigualdad en el reservorio.
- 3- El serovar *L. icterohaemorrhagia* esta reportado por Trevejo R. et al (1995) y por el CNDR (2003 y 2006) en seres humanos de El Sauce y Achuapa.

8. RECOMENDACIONES

1. Llevar a cabo mas estudios de este tipo cada año para tener un monitoreo constantes de esta enfermedad, sobre todo en las zonas mas vulnerables a que se den nuevos brotes epidémicos de leptospirosis y elaborar programas de vigilancia epidemiológica en todo el país, pero haciendo mas énfasis en las zonas mas vulnerables.
2. Concientizar a la población de lo grave que es esta enfermedad sobre todo cuando hay brotes epidémicos debido a las grandes perdidas económicas.
3. Realizar un estudio de caso y control para determinar si los equinos actúan como transmisor de leptospirosis a los humanos.

9. REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS

1. Acha N. P. y Szyfres B. 2001. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y Los Animales, 3rd Edición, OPS/OMS.
2. Aguirre J. y Torres W. 2005. Tesis Para Optar al Titulo de Licenciado en Medicina Veterinaria.
3. Beer J. 1981. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos, Tomo: II, Capitulo: 58, Horsch F.
4. Bernal J. 2003. Leptospirosis. Medicina Veterinaria Área de Divulgación Científica. Facultad de Ciencia Veterinaria. UNLP. Disponible en: <http://www.cdc.gov>.
5. Biberstein E. L. Tratado de Microbiología Veterinaria; Capitulo 32: Leptospirosis.
6. Faine S. 1982. Guidelines for the Control of Leptospirosis. WHO Offset Publication 67 World Health Organizations, Geneva Switzerland 96 Faine S. and Stallman N. D., Amended descriptions of the Genus Leptospira.
7. García Suárez R. Zoonosis: Manual de Procedimientos Para el Diagnostico de Leptospirosis, Capitulo III: Leptospirosis.
8. Hartskeerl R. A; Smits H. L; Korver H. Goris M. G. A; Terpstra W. J; 2002. International Course on Laboratory Methods for the Diagnosis of Leptospiras.
9. Hickey W. P. 2002. Leptospirosis. Disponible en: <http://www.emedicine.com/PED/topic1298.htm>.

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

10. Hudson B. D. 2000. Leptospirosis of Domestic Animals. Boletín Epidemiológico 21(2), Disponible en:
<http://www.ianr.edu/pubs/animaldisease/g417.html>.
11. Kalsow C. M. y Dwyer. A. E. 1998 .Retinal Immunopathology in Horses with Uveitis Ocul Immunol Inflamm.
12. Kemenes F; Surjan J. y Kasza L. 1984. Suide on Equine Leptospirosis with Emphasis on Eyes Lesion (Equine Periodic Ophthalmic), Annalus Immunology Hungariae. 24:345-355.
13. Labiofam. 1997. Vademécum de Medicamentos Veterinarios.
14. Lilenbaum W. 2006. Leptospirosis on Animal Reproductions: IV. Serological Findings in Mares from Six Farms in Rio de Janeiro, Brazil.
15. Meck. 2005. Manual de Veterinaria. 5ta ed. Barcelona, España. Ed. Océano Grupo, Pág.: 532-533.
16. Mitch Huracane. 1998. Disponible en:
<http://www.Who.int/emc/outbreak3/4news/n1998/de/n02dec1998.html>.
17. O.M.S. 2001. El Control de las Enfermedades Transmisibles. 17 edición. Publicación Científica y Técnica # 581, OPS.
18. O.M.S. 1998. Zoonotic Diseases. Disponible en:
<http://www.int/cds/vph/porfile.html>.
19. Reyes Cerros J. y Vallecillo R. 2004 Centro Nacional de Diagnostico y Referencia, MINSA, Área de Leptospiras.

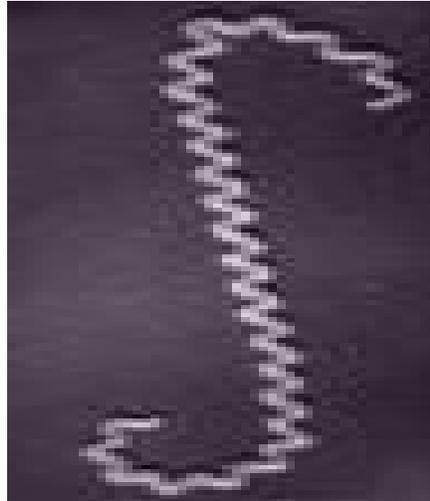
Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

20. Sandoval K. y Ramírez W. 2005. Centro de Estudios Prevención y Mitigación de Desastres; Facultad de Medicina Veterinaria Universidad de Granma. Revista Electrónica Veterinaria, REDVET. ISSN 1695-7504. Disponible en: <http://www.veterinaria.org.revistas/redvet>.
21. Szyfres B. 1976. La Leptospirosis Como Problema de la Salud Humana y Animal en América y del Caribe. Public. Cien #316. OPS.
22. Trevejo R; Ashford D; Reyes C; Robert J; Weyant R. 1995. Epidemic Leptospirosis Associated with Pulmonary Hemorrhage-Nicaragua. JID 1998, 178 Noviembre.
23. Yamamoto S. 1955. Recientes Investigaciones Sobre Oftalmia Periódica en Caballos de Japón. OIE. 42,432-432.
24. Project: Multidisciplinary Study on the Epidemiology of the Haemorrhagic Fevers Leptospirosis and Dengue in Central America. Grant #ICA4-2000-10037. Queen's University of Belfast, (Belfast – United Kingdom). Centro Nacional de Diagnostico y Referencia – Ministerio de Salud (MINSA), Participación de Medicina Veterinaria UNAN – León.

ANEXOS

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

Foto de una Leptospira



ESPECIES SUCEPTIBLES



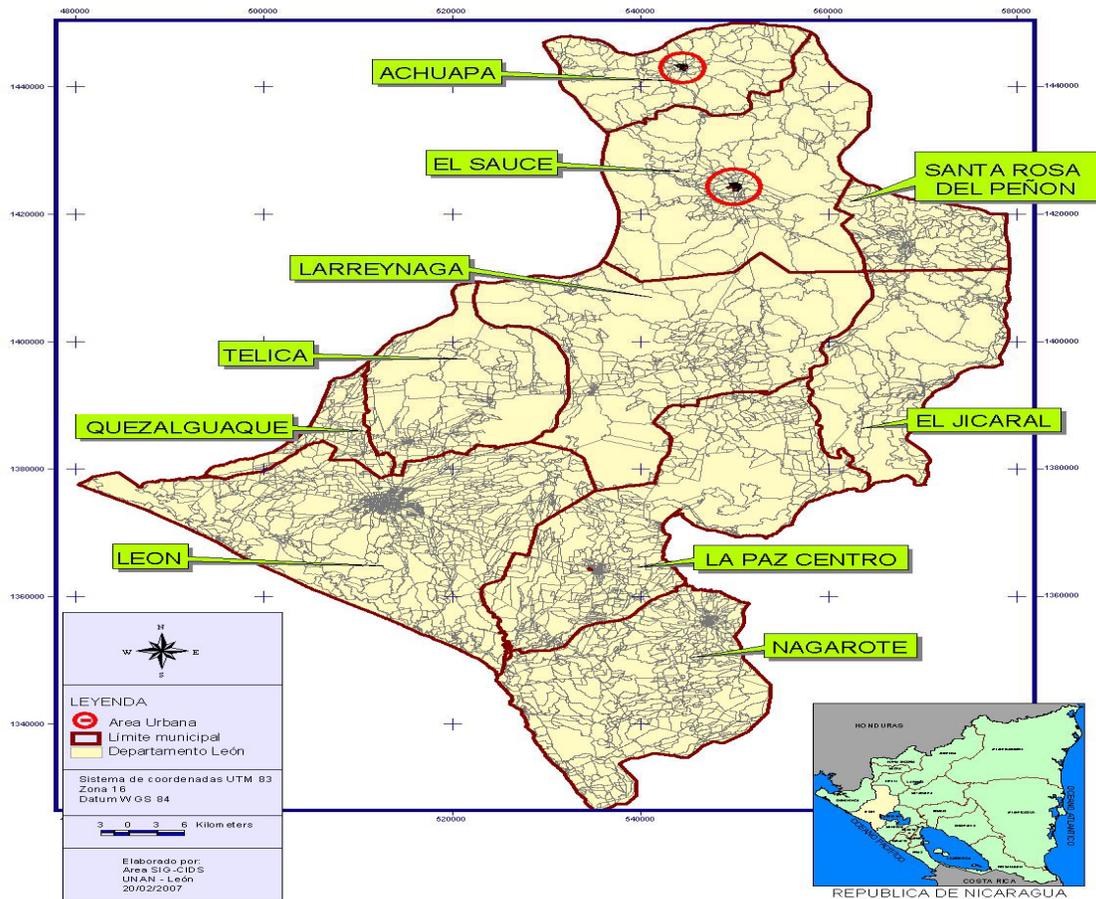
MODELO ECOLÓGICO DE LA TRANSMISIÓN DE LA LEPTOSPIROSIS



Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

MAPA EPIDEMIOLÓGICO

**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES DOMÉSTICOS Y SILVESTRES
DEPARTAMENTO LEÓN - MUNICIPIOS EL SAUCE Y ACHUAPA; AÑO 2006**



ALGUNOS SINTOMAS Y LESIONES



TABLA 1. SEROVARES A LOS QUE REACCIONARON LOS EQUINOS DE EL SAUCE Y ACHUAPA.

Serovariedades	Porcentaje *	Positivos / Total
Pomona	41.46	76/182
Lousiana	28.02	51/182
Icterohaemorrhagiae (M20)	26.92	49/182
Canicola	17.58	32/182
Pyrogenes	17.03	31/182
Icterohaemorrhagiae (Wijnberg)	10.99	20/182
Patoc	9.34	17/182
Grippotyphosa	8.79	16/182
Sejroe	5.49	10/182
Icterohaemorrhagiae (RGA)	4.39	8/182
Hebdomadis	3.85	7/182
Icterohaemorrhagiae (Kennewikies)	3.85	7/182

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

TABLA 2. Cepario del CNDR, MINSA.

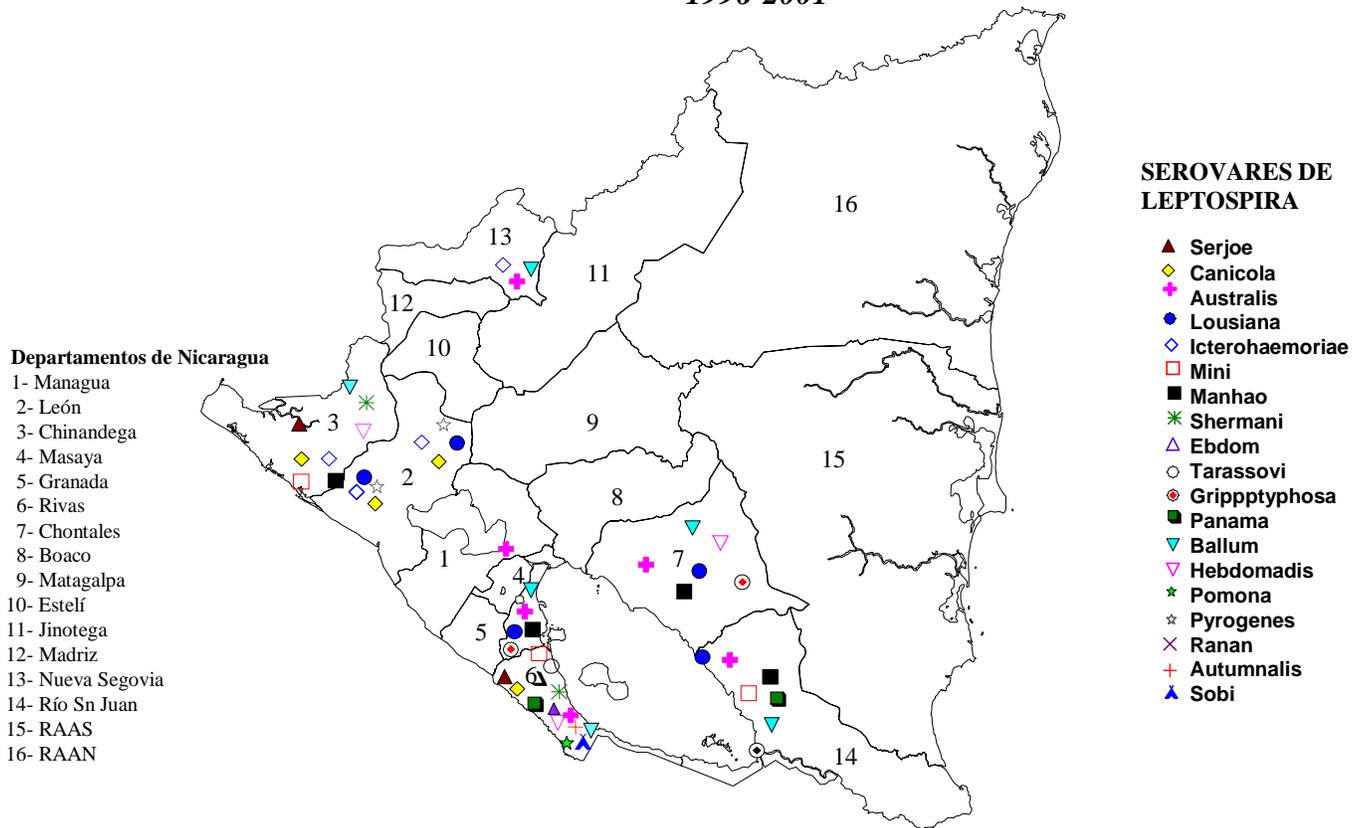
SEROGRUPO	SEROVAR	STRAINS
1. <i>Australis</i>	<i>australis</i>	<i>Ballico</i>
2. <i>Austramaliz</i>	<i>austramaliz</i>	<i>Automomnalis Akiyami A</i>
3. <i>Ballum</i>	<i>Castellonis</i>	<i>Castellon 3</i>
4. <i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i>	<i>Swart</i>
5. <i>Canicola</i>	<i>canicola</i>	<i>Hond Utrech. IV</i>
6. <i>Cynopteri</i>	<i>Cynopteri</i>	<i>3522 C</i>
7. <i>Grippotyphosa</i>	<i>grippotyphosa</i>	<i>MOSKVAV</i>
8. <i>Herbdomadis</i>	<i>hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis</i>
9. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	<i>RGA</i>
10. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	<i>M20</i>
11. <i>Javanica</i>	<i>javanica</i>	<i>Veldrad Batavia 46</i>
12. <i>Panamá</i>	<i>Panamá</i>	<i>C2214</i>
13. <i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	<i>Pomona</i>
14. <i>Pyrogenes</i>	<i>pyrogenes</i>	<i>Salinem</i>
15. <i>Sejroe</i>	<i>hardjo</i>	<i>Hardjoprajitmo</i>
16. <i>Sejroe</i>	<i>sejroe</i>	<i>M84</i>
17. <i>Sejroe</i>	<i>wolfii</i>	<i>3705</i>
18. <i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	<i>Perepelitsin</i>
19. <i>Samaranga</i>	<i>patoc</i>	<i>Patoc I</i>
20. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>copenhani</i>	<i>Wijnberg</i>
21. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	<i>Kantorowies</i>
<u>Cepas de referencia de Cuba</u>		
22. <i>Celledoni</i>	<i>celledoni</i>	<i>Celledoni</i>
23. <i>Shermani</i>	<i>shermani</i>	<i>Sheramani</i>
24. <i>Djasamin</i>	<i>djasamin</i>	<i>Djasamin</i>
25. <i>Mini</i>	<i>mini</i>	<i>Sari</i>
26. <i>Lousiana</i>	<i>lousiana</i>	<i>LSU 1945</i>
27. <i>Ranaru</i>	<i>ranaru</i>	<i>ICF</i>
28. <i>Manhao</i>	<i>gingshui</i>	<i>L05</i>

Seroprevalencia de leptospirosis y Tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, 2006.

29. Sarmin	sarmin	Sarmin
------------	--------	--------

Al no contar con estudios previos sobre los serogrupos frecuentes que circulan en la zona, se deberá trabajar con los 29 serogrupos existentes en el CNDR, MINSA. Estas cepas serán de referencia con certificado acreditativo mantenidas por resiembra periódica cada 10-15 días. (Cepario del CNDR, MINSA; 2006).

DISTRIBUCION ESPACIAL DE SEROVARES DE LEPTOSPIRAS PRESENTES EN ANIMALES DOMESTICOS DE NICARAGUA. 1996-2001



Fuente: Lab. Leptospira - CNDRMINSA

