

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN – LEON**

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



TEMA: SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS Y TIIFICACION DE SEROVARES CIRCULANTES EN CANINOS DE LOS MUNICIPIOS DE EL SAUCE Y ACHUAPA DEL DEPARTAMENTO DE LEÓN, DURANTE EL PERÍODO DE AGOSTO A SEPTIEMBRE 2006.

AUTOR: *Br. JESSICA SHELEBY ELIAS.*

**TUTORES: *Dra. CHRISTIANE DÜTTMANN.*
*Dr. WILLIAM JIRON TORUÑO.***

**ASESORES: *Dr. ALBERTO MONTOYA.*
Lic. ROMAN VALLECILLO.
*Dra. LUZ ADILIA LUNA.***

LEON, NICARAGUA, JULIO 2007.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de leptospirosis y tipificar los serovares circulantes de *Leptospiras spp.* en caninos en los Municipios de El Sauce y Achuapa del Departamento de León en el año 2006. Con esta finalidad se consideraron 197 muestras de sueros caninos procedentes de las comunidades de Wiquili, El Carao, Las Peñas, La Calera, El Barro, Monte Frío (Achuapa-León), Panales, Petaquilla, Sálales, Río Grande, La Calera (El Sauce-León). A las muestras de suero sanguíneo se les realizó la técnica MAT (Test de microaglutinación o aglutinación microscópica), con esta técnica se obtuvieron los distintos serovares que estaban presentes en cada canino que resultó reactor a la prueba. El serovar que se encontró con mayor frecuencia fue *L. canicola*, en segundo lugar *L. icterohaemorrhagiae (M20)* y *L. grippotyphosa* en tercero. El 41% de las muestras presentaron anticuerpos anti-leptospiras con títulos desde 1/100 a 1/800. De los 80 reactores, 49 presentan coagulación a 2 ó más serovares. Este estudio reporta la presencia de leptospiras en caninos de los Municipios de El Sauce y Achuapa con una seroprevalencia inferior a la encontrada en esta misma zona en 1995, después del brote de lo que se llamó Fiebre de Achuapa (44.5%); pero es superior a la encontrada en otro estudio realizado también en la misma zona pero en el año 2003 (16.4%).

Palabras claves: Aglutinación microscópica, Caninos, Leptospirosis, Seroprevalencia, Serovares

AGRADECIMIENTO

A mis profesores: **Dra. Christiane Duttmann y Dr. William Jirón**, por haber dirigido este trabajo a través de su tutoría.

Al **CNDR** por su apoyo para poder llevar a cabo el presente estudio.

A **DANIDA** y el **MAGFOR** por su colaboración en el arduo trabajo del muestreo.

Gracias a todas las personas que de un modo u otro, me ayudaron no sólo a la realización de esta investigación, sino también me brindaron su apoyo a todo lo largo de mi carrera.

ABREVIATURAS Y TERMINOS TECNICOS UTILIZADOS EN ESTE TRABAJO INVESTIGATIVO.

- *Brote*: Término referido al inicio de una manifestación de enfermedad.
- *CNDR*: Centro Nacional de Diagnostico y Referencia.
- *CID*: Coagulación intravascular diseminada.
- *CSF*: fluido cerebro espinal.
- *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 más o menos grave que afecte la salud.
- *Canino*: Del lat. canīnus. adj. 1 Pertenciente o relativo al can. Raza canina.
2. Que tiene semejanza con las propiedades del perro.
- *LCR*: líquido céfalo-raquídeo
- *Leptospirosis*: Enfermedad infecto – contagiosa que afecta a los seres humanos, los animales domésticos y silvestres.
- *LOS*: lipo-oligo-sacáridos.
- *MAT*: Aglutinación microscópica o test de micro aglutinación.

- *Microaglutinación*: 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*: Término que se le da a los agentes que originan y desarrollan una enfermedad.
- *PBS*: Solución buffer para MAT.
- *Prevalencia*: Término 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.
- *spp*: especies
- *Zoonosis*: Enfermedad o infección que se da en los animales y que es transmisible al hombre en condiciones naturales.

INDICE

N^o 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 Definición	6
3.2. Sinonimias	6
3.3. Historia	6
3.4. Importancia Económica y Sanitaria	8
3.5. Bacteriología	9
3.5.1 Taxonomía y Clasificación	9
3.5.2 Clasificación Taxonómica y Especies de Leptospiras	10
3.5.3 Clasificación Serológica	11
3.5.4 Etiología	13
3.5.5 Resistencia del Agente Etiológico	15
3.6. Epidemiología	17
3.7. Patogenia	25
3.8. Síntomas Clínicos	30
3.9. Inmunidad a la infección	33
3.10 Anatomía Patológica	35
3.11 Diagnóstico	37
3.12. Profilaxis y Tratamiento	43
4 Material y Método	47
5. Resultados	56
6. Discusión	60
7. Conclusiones	62
8. Recomendaciones	63
9. Bibliografía	64
10. Anexos	70

ÍNDICE DE TABLAS y GRAFICOS

Tablas

1. Especies leptospira	10
2. Cepario	11
3. Reacción cruzada entre algunos serovares	12
4. Supervivencia de Leptospiras	16
5. Producción de Toxinas	27
6. Serovares y diluciones obtenidas	58

Gráficos

1. Seroprevalencia de leptospirosis canina	56
2. Serovares encontrados en los caninos	57
3. Diluciones de corte para cada animal reactor	59

1. INTRODUCCIÓN:

La Leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa aguda y febril causada por una bacteria del género *Leptostira*, que afecta sobretodo a los animales salvajes y domésticos que sirven como fuente de infección para el ser humano. Es de distribución cosmopolita en la que varias especies, principalmente los roedores, actúan como hospederos de mantenimiento de muchos serovariedades en todo el mundo, siendo el hombre y los animales de explotación económica y social, hospederos accidentales.

(K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

Las condiciones ambientales prevalentes en la mayoría de países tropicales y subtropicales de América (lluvias abundantes, desborde de aguas residuales durante las inundaciones, suelos no ácidos, altas temperaturas) favorecen su transmisión.

La Leptospirosis es una zoonosis de gran relevancia en nuestro país. Desde el año de 1995 en que se presentó un brote de lo que se conoció como la fiebre de Achuapa, ha venido comportándose de forma endémica en la región. (CNDR, 2003)

En el perro, es una enfermedad sistémica aguda o crónica, y que frecuentemente presenta curso inaparente. El germen se excreta con la orina de los perros infectados; la duración de la infección puede ser de uno a tres años, en el caso de actuar la serovariedad *canícola*. (BRUNNER, R, et al; 2002)

Muchos serovares pueden infestar al perro, pero los principales implicados en la enfermedad clínica son *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola*, siendo esta última la más frecuente. (Vadillo et al, 2002) (Biberstein y Zee, 1994) (Ettinger, S. J. y Feldman, E. C. 1997).

En Nicaragua son muchos los estudios que señalan la importancia del perro en la transmisión y el ciclo de la enfermedad, así como la relación con la seroprevalencia en humanos. Pero son muy pocos los que brindan datos epidemiológicos cuantificados de la seroprevalencia en la propia especie canina.

Para obtener más información y disponer de datos de utilidad diagnóstica y preventiva, se realizó este estudio en perros de las zonas rurales

de El Sauce y Achuapa. Las muestras fueron almacenadas y procesadas en el laboratorio del Centro Nacional de Diagnostico y Referencia (C.N.D.R.) en el periodo de Agosto del 2006 hasta Enero del 2007. Las cuales fueron sometidas al test de microaglutinación (MAT), que continúa siendo la técnica de referencia.

1.1 ANTECEDENTES:

La Leptospirosis es una enfermedad infecciosa que puede ser letal y causar grandes epidemias como la ocurrida en los municipios de Achuapa y El Sauce en el año 1995, que se propagó a todo el país provocando la muerte a 46 personas y causó la hospitalización de más de 3,000 pacientes. (Dr. A. Montoya, CNDR/MINSA, 2004)

Un estudio realizado en El Sauce y Achuapa en 1995 por Trevejo et al., refleja una seroprevalencia de Leptospirosis canina de 44.6% y los serovares encontrados en perros fueron: *L. australis*, *L. ballum* (S102), *L. bratislava*, *L. canicola*, *L. hardjobovis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* (type *kennewicki*), *L. pyrogenes*, *L. shermani* y *L. wolffi*.

Según Rubel et al. en 1997 en Argentina, la seroprevalencia de Leptospirosis canina fue de 57% y los serovares que se aislaron con mayor frecuencia fueron *L. canicola* y *L. pyrogenes*.

En un estudio realizado en México, por Rivera et al. 1999, la seroprevalencia de Leptospirosis en perros callejeros fue de 38.51% (*L. castellanis*: 50%, *L. pyrogenes*: 38.46%, *L. canicola*: 26.92% y *L. icterohaemorrhagiae*: 21.15%).

En otro estudio realizado por el CNDR/MINSA en el 2003, se encontró una seroprevalencia de Leptospirosis en perros de El Sauce y Achuapa, de 16.4% y los serovares circulantes fueron: *L. Canicola*, *L. Lousiana*, *L. Sarmin* y *L. Manaho*.

En Brasil Sousa et al. 2004, realizó un estudio de seroprevalencia de Leptospirosis en perros callejeros, encontrando una seropositividad del 20% (*L. autumnales*: 20%, *L. pomona*: 17.5%, *L. grippotyphosa*: 10.0% y *L. patoc*: 10.0%)

Medina, Z. y Guerra, M. en el año 2005 en Venezuela, encontraron una seroprevalencia de Leptospirosis canina de 65,9%; los serovares más frecuentes fueron *L. canicola*, *L. hardjo* y *L. icterohaemorrhagiae*

En todos estos estudios mencionados se ha usado la técnica MAT, la que también utilizamos en esta investigación.

1.2. Justificación:

Realizamos esta investigación en caninos dada la participación de los mismos no sólo en el mantenimiento del ciclo de la Leptospirosis en animales domésticos, sino también por la relación que tienen en la aparición de nuevos casos en humanos.

Para las áreas de Salud Pública, de Medicina Veterinaria y desde el punto de vista económico, es importante realizar este estudio ya que somos un país endémico en Leptospirosis y es crucial contar con datos epidemiológicos de esta enfermedad en caninos, en los cuales es subdiagnosticada y puede cursar de forma inaparente.

Este estudio se realizó en las comunidades de El Sauce y Achuapa donde se produjo el brote epidémico en 1995 que afectó a los seres humanos y a los animales de distintas especies. En el año 2006, en esas comunidades, se han reportado casos positivos en humanos. Los datos obtenidos podrían ser utilizados para elaborar un Programa de Control y Prevención de Leptospirosis.

También es de mucha importancia que este estudio sea llevado a cabo porque las condiciones ambientales, geográficas y de vida de los habitantes de El Sauce y Achuapa son apropiadas para que se de un nuevo brote epidémico de leptospirosis, ya que las personas tienen una relación estrecha con los animales por convivir en un mismo hábitat.

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

En las zonas de El Sauce y Achuapa la Leptospirosis es una enfermedad endémica, además no existen datos actuales sobre la seroprevalencia en cánidos.

1. ¿Cuál es la seroprevalencia actual de leptospirosis en la población canina de El Sauce y Achuapa (Departamento de León), en el periodo de agosto a octubre 2006?
2. ¿Cuáles son los serovares circulantes todavía no tipificados en dicha población?

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL:

1. Determinar la seroprevalencia de Leptospirosis y los serovares circulantes en caninos de los municipios de El Sauce y Achuapa del departamento de León en el periodo de Agosto a Septiembre del 2006.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Conocer la seroprevalencia de Leptospirosis canina, en los municipios de El Sauce y Achuapa del departamento de León, por medio de la técnica de microaglutinación (MAT) cuantitativa.
2. Identificar los serovares circulantes en la población canina utilizando la técnica de (MAT) cualitativa.

3. MARCO TEORICO

3.1. DEFINICIÓN DE LEPTOSPIROSIS:

La Leptospirosis es una enfermedad infecciosa febril, aguda o crónica, de curso clínico frecuentemente inaparente, que afecta al hombre y a los animales y cursa con abortos, hematuria e ictericia. (BEER, J. 1981).

La Leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial, producida por una espiroqueta de las cepas patógenas del género *Leptospira*, que afecta tanto a los animales silvestres y domésticos así como al hombre (Thiermann, 1984).

3.2. SINONIMIAS:

La Leptospirosis se conoce por otros 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 enzoótica; 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 obedecen a características epidemiológicas, clínicas, territoriales, especies afectadas, estacionalidad del año. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005).

3.3. Historia:

La Leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa de carácter zoonótico, de distribución mundial, producida por cepas patógenas del género *Leptospira*, que poseen las mismas características morfológicas y fisiológicas, pero que serológica y epidemiológicamente son muy diversas.

La Leptospirosis es conocida desde 1886, año en que el médico Alemán Adolf Weil describió una enfermedad a la que denominó Ictericia Hemorrágica en Heidelberg entre trabajadores agrícolas alemanes.

Los primeros casos de Leptospirosis en humanos sin conocer el agente, los describieron, Weiss en 1881 y Weil en 1886. Los científicos Japoneses Inada e Ido fueron los primeros en describir el agente causante de la enfermedad al comienzo del 1915, aislado por vez primera por estos mismos investigadores pero fue hasta en 1916, que fue nombrado spiroqueta icterohaemorrhagiae, y luego renombrado Leptospira en 1917. También en 1917, Noguchi aisló en ratas pero en Nueva York, Estados Unidos.

En 1917, se describe la infección en la rata gris (*Rattus norvegicus*) por el mismo agente y se postuló su posible papel como transmisora de esta enfermedad al hombre.

Las primeras informaciones sobre la enfermedad de leptospira en los animales procedían de la leptospirosis humana, datan del 1852 en que Hofer describió una enfermedad de los perros antes desconocida que llamó Tyfus Seu Febris Nervosa Canum. Keff en 1898 cambió el nombre de esta enfermedad por la enfermedad de los perros de Stuttgart (Stuttgarte Handesenchue). Sin embargo, su etiología de esta enfermedad fue aclarada en 1922 por el Checoslovaco Lukes, el cual demostró que el agente era una espiroqueta. Pero en la realidad, la primera descripción de las Leptospiras como agentes productores de enfermedad en los animales se realizó en 1933, cuando Klarenbeck y Schuffner demostraron que la *L. canicola* era el agente etiológico de la enfermedad Stuttgart en los perros.

Michin y Azinov (1935) fueron los primeros en notificar la afectación de leptospirosis en los bovinos en la antigua USSR, denominándola como "hemoglobulinuria infecciosa aguda", y del agente aislado *L. icterohaemorrhagiae* bovina.

La primera descripción de Leptospirosis en equinos fue en la antigua Unión Soviética por Lubaschenko y Nowikowa, 1947... (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.4. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SANITARIA

La leptospirosis es considerada la epidemia más difundida tanto a nivel nacional, como mundial, ya que su importancia no sólo es económica, sino también sanitaria. El principal daño a la economía repercute en la afectación reproductiva de todos los animales domésticos: es causa de mortinatos, abortos o nacimiento de animales débiles, y provoca un bajo rendimiento en el trabajo de los equinos...(K. Sandow y W. Ramírez, 2005).

EL perro es de gran importancia desde el punto de vista sanitario debido a que éstos poseen gran predisposición a contagiarse con *L. canicola*, pero su sensibilidad para enfermarse es pequeña, por ello son muchos los que se convierten en portadores de infecciones residuales de *L. canicola* en el riñón, eliminándola hasta por tres años. (Pérez, 1986).

Por la conducta muy especial de la especie canina, de marcar sus territorios con orina, ésta se disemina fácilmente y en ocasiones, lleva la contaminación directamente al alimento y agua de consumo; o incluso en algunos casos estos animales comparten un mismo espacio con otros animales domésticos e incluso el hombre, lo que facilita aún más la contaminación directa del patógeno. (Rosales, 1990)

En nuestro país, el MINSA ha considerado al perro como el reservorio natural de Leptospirosis.

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).

3.5 BACTERIOLOGÍA

3.5.1 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 inadai*; 6. *Leptospira borgpetersenii*; 7. *Leptospira kirschneries*.

Y **saprófitas**:

1. *Leptospira biflexa*; 2. *Leptospira meyeri*; 3. *Leptospira parva*; 4. *Leptospira wolbachii*. (TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004)

La Leptospiras son bacterias Gram (-), 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 adecuada y los nutrientes necesarios para que ella se pueda desarrollar con éxito. (Hartskeerl, R. A. et al. 2002)

3.5.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y ESPECIES DE LEPTOSPIRA.

División: *Procariontes*

Clase: *Schizomicete*

Orden: *Spirochaetales*

Familia: *Leptospiraceae*

Género: *Leptospira; Leptonema; Turneria*

Especie: *Patógenas y Saprófitas*

Otros

Familia: *Spirochaetaceae*

Género: *Cristispira; Spirochaeta; Brachyspira;*

Brevinema; Anguilina; Serpulina; Treponema;

Borrelia

TABLA 1 ESPECIES DE 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 (genomospecies 2)</i>	
<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. Sandow y W. Ramírez, 2005).

3.5.3 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 parasitaria, *L. biflexa* engloba a las saprofitas que han sido aisladas del medio ambiente. (S. Faine, 1982). Como antígenos para esta prueba se utilizan los cultivos vivos de leptospiras de diferentes serovares. Al no contar con estudios previos sobre los serogrupos frecuentes que circulan en la zona, se deberá trabajar con los 29 serogrupos.

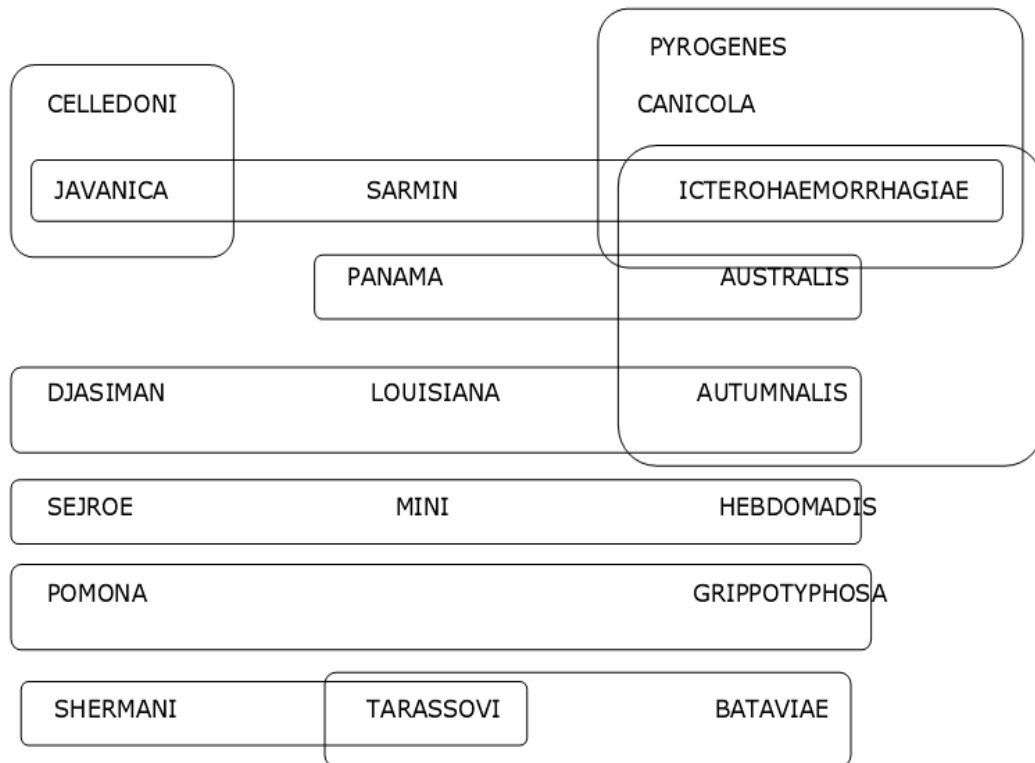
Actualmente se han identificado más de 300 variantes a las cuales se les denomina serotipo o serovar, también cabe destacar que han sido agrupadas en 23 serogrupos por su afinidad antigénica. (TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004).

TABLA 2 CEPARIO DEL CNDR/MINSA

SEROGRUPO	SEROVAR	STRAINS
➤ Cepario Holandés:		
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>Hebdomadis</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>	3705
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>
➤ Cepas de referencia de Cuba:		
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>
29. <i>Sarmin</i>	<i>sarmin</i>	<i>Sarmin</i>

TABLA 3 REACCIÓN CRUZADA ENTRE ALGUNOS SEROGRUPOS.



(Hartskeerl, et al. 2002)

3.5.4 ETIOLOGÍA:

El término "Leptospira" proviene del griego *lepto*: fino y *spira*: espiral. Las Leptospiras son espiroquetas, aerobios obligados, flexibles muy finos, helicoidalmente enrollados y de gran movilidad, de 5 a 20µm de largo por 0,1 a 0,5µm de ancho (Faine et al, 1999).

Llevan a cabo tres formas principales de movimiento: traslación, flexión y rotación. Además en medios semisólidos pueden realizar movimientos de perforación. (Vadillo et al, 2002) En los medios de cultivo de tipo líquido el movimiento es de rotación rápida sobre su eje longitudinal; pero en medios sólidos sólo reptan por la superficie. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

Al microscopio electrónico se observa que están constituidas por:

- *Membrana externa o envoltura* (lípidos, proteínas, LPS) de gran importancia antigénica, que rodea la pared celular de peptidoglicano.
- *Dos Flagelos periplasmáticos* (filamentos axiales) situados entre la membrana externa y la pared celular; fijos en ambos extremos de la bacteria.
- *Un cilindro protoplasmático* de forma helicoidal con el contenido celular. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

Se caracterizan por ser oxidasa, peroxidasa y catalasa positivas. Pueden elaborar hialurodinasas, fibrinolisinias, lipasas y hemolisinas. (Vadillo et al, 2002).

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 períodos 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 período de incubación. (Faine, S. 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; 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 seroalbúmina bovina, Ellinghausen, McCulleugh, EMJH y sin proteínas. (Faine, S. 1982).

3.5.5 RESISTENCIA DEL AGENTE ETIOLÓGICO

La supervivencia de las Leptospiras depende de las variaciones de pH ($6 < \text{pH} < 8$: efecto inhibitorio) y de condiciones ambientales como temperatura ($13^\circ\text{C} < T^\circ < 57^\circ\text{C}$: muerte rápida) y humedad relativa. Son muy sensibles a la desecación y a la luz solar directa.

Además, existen distintas sustancias químicas de carácter leptospiricida: fenol al 5%, alcohol al 70%, formol al 2%, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, sosa cáustica al 2%, durante 5 minutos, solución al 0,05 % de ácido sulfúrico, en 5 minutos, son muy sensible a la solución hipertónica de sal común (2,8%), a la bilis, la putrefacción y a la mayoría de los antibióticos in vitro o in vivo como la penicilina, estreptomycin, aureomicina y los grupos macrólidos.

Es importante destacar que las leptospiras en orinas muy ácidas mueren rápidamente, es por esta sencilla razón que en la orina de los seres humanos no se disemina la infección mientras no sea diluida, pero no así en la orina débilmente básica... (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

Cuando las condiciones son favorables, las Leptospiras pueden sobrevivir largo tiempo (meses) en el medio ambiente: alta humedad, temperaturas moderadas y pH neutro o ligeramente alcalino. (Hartskeerl, et al. 2002).

En el frío pueden sobrevivir hasta 100 días a -20°C . Es importante también mencionar que la pasteurización no destruye a las leptospiras lo que indica que es necesaria la ebullición para cumplir con su destrucción. A los 10 segundos muere con 100°C y sólo a los 10 minutos si la temperatura es de 56°C . Tampoco sobreviven en agua salada. (Laguna Torres. V, 2000)

La Leptospira no se multiplica fuera del huésped... (McDonough, 2001)

Medios fuera del huésped	Tiempo de supervivencia
Condiciones de suelo óptimas	183 días
Suelos secos	30 minutos
Agua estéril	3 meses o más
Aguas alcalinas	1-2 semanas
Orina alcalina	16 días o más
Leche refrigerada	3 días o menos
Leche adulterada con agua	60 días
TEJIDOS	
Tejidos no contaminados (4°C)	3-4 semanas
Sangre no coagulada y desfibrinada (20-25°C)	3-6 semanas
Medios de cultivo, sangre y tejidos que hayan sido congelados rápidamente a -70°C	5 años o más
Músculo	13 días
Riñón e hígado	12 días
Bazo (post mortem)	8 días

TABLA 4 SUPERVIVENCIA DE LEPTOSPIRAS

Seroprevalencia de Leptospirosis y Tipificación de los serovares circulante en caninos de El Sauce y Achuapa, 2006.

Tejidos no contaminados (4°C)	3-4 semanas
-------------------------------	-------------

(K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.6 EPIDEMIOLOGÍA:

La leptospirosis es considerada una antropozoonosis de 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)

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

3.6.2 HOSPEDADOR DE MANTENIMIENTO

Son aquellos que aseguran la perpetuación de una población determinada de parásitos 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 capas de ser reservorio de varios serovares y diferentes especies animales pueden serlo de un mismo serovar. (WHO, 2002.)

Características del hospedador de mantenimiento:

- Gran receptividad a la infección por el serovar frente al que mantiene como hospedador (para éstos la 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.
- En algunos hospederos, se mantiene la *Leptospira* en el tracto genital.
(K. Sandow y W. 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 en el medio ambiente para poder efectuar la infección.

Las especies silvestres que actúan como hospedadores de mantenimiento en algunos países son:

Europa: en toda Europa: rata gris (*Rattus norvegicus*), rata negra (*Rattus rattus*) hospeda a *L. icterohaemorrhagiae*.

Equinos: *L. bratislava*.

En Holanda y Francia: topillo (*Microtus arvalis*) de *L. grippotyphosa*.

En Francia: el erizo (*Erinaceus europaeus*) de *L. bratislava* y *L. australis*, el ciervo y el mapache reservorios silvestres de *L. pomona*.

Las ratas son hospedadores de mantenimiento principalmente del serogrupo *L. icterohaemorrhagiae* y *L. ballum*.

El cerdo de *L. pomona*, *L. bratislava* y *L. tarassovi*.

El perro de *L. canicola*.

El ganado bovino *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa*.

En Estados Unidos: el ganado bovino lo es de *L. Pomona*.

3.6.3 HOSPEDADORES ACCIDENTALES

Cualquier mamífero puede ser, potencialmente, hospedero accidental de las *Leptospira*. Las características de mayor importancia de un hospedero accidental durante la infección de son:

La transmisión es intraespecie y esporádica.

- Presenta signos de forma aguda y grave (hepatitis, crisis hemolítica).
- Duración de la leptospiruria es apenas semanas.
- La muestra para el diagnóstico es el animal enfermo.
- Bajo porcentaje de animales seropositivos.

(K. Sandow y W. Ramírez, 2005).

3.6.4 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 América.

Serovares considerados de distribución mundial: *L. pomona*; *L. icterohaemorrhagiae*; *L. canicola* y *L. grippotyphosa*.

La presencia de uno u otro serovar en una zona, región o 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)

3.6.5 FUENTES DE INFECCIÓN

Los animales con infecciones subclínicas y los que se han recuperado de la enfermedad, continúan eliminando el microorganismo en la orina por periodos prolongados, constituyendo así una fuente de infección para otros animales. (Bohórquez, A. et al. 2002)

También el agua, leche, forrajes, pastos, tejidos de animales, descargas posparto, saliva, semen, instrumentos quirúrgicos y vectores, siendo los roedores (ratas y ratones) los más importantes por su condición de reservorio natural. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

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 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).

AGUA: las leptospiras son capaces de sobrevivir en el agua y mantener su capacidad infestante durante 22 días, por tal razón los brotes son frecuentes en épocas lluviosas. Siempre dependiendo del nivel de pH y la salinidad.

ORINA: en muchas ocasiones la infestación con leptospira depende 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, por eso algunos autores plantean que la orina del ser humano (pH: 4.6-8.0) y la de ratas o ratones no son excelentes fuentes para la infección. La orina de los bovinos es considerada como la de mayor excelencia para una fuente de infección ya que el pH alcalino de su orina lo permite. Además, la orina de muchos animales presenta aglutininas y lisinas específicas, cuya presencia causa una disminución en el tiempo y el número de microorganismos presentes.

LECHE: muchos animales infestados eliminan Leptospiras a través de la leche, pero debido a la presencia de sustancias antimicrobianas, la supervivencia en la leche cruda es muy corta.

TEJIDO ANIMAL: el tiempo de supervivencia de las Leptospiras en los tejidos depende del pH postmortem y el efecto antagónico que supone la contaminación con otras bacterias.

DESCARGAS POSPARTO: las Leptospiras mantienen su capacidad infectante en las descargas uterina pos parto y pos aborto, pasados 8 días de éste.

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 los lamidos de los perros a los niños, con la lengua contaminada mecánicamente, podría ser una forma más.

(K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.6.6 LOS FACTORES ASOCIADOS A LA INFECCIÓN SON:

➤ DEPENDIENTES DEL AGENTE ETIOLÓGICO

- **CONDICIONES MEDIOAMBIENTALES:**

- *Temperatura:* 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.

- ##### - **CAPACIDAD INFESTANTE:** está en función del serogrupo o serovar, porque unos serovares son capaces de sobrevivir en un país o región determinada y otros no.

➤ DEPENDIENTES DEL HOSPEDADOR:

- ##### - **EDAD:** los estudios llevados a cabo en otros países demuestran que en animales de mayor edad se ha encontrado mayor seropositividad con anticuerpos anti-*Leptospira*. Esto esta relacionado con el estado de portador.
- ##### - **GESTACIÓN:** el aborto por Leptospirosis se produce principalmente en el último tercio de la gestación y en la mayoría de los casos es provocado por serovares accidentales.
- ##### - **ESTADO INMUNITARIO:** os 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 inmunoglobulinas (*Ig M* o *Ig G*), cuando estas aumentan en orina la cantidad de leptospira que se elimina es menor.

➤ **DEPENDIENTES DEL MEDIO:**

- **ALIMENTACIÓN:** alimentos ricos en carbohidratos pueden provocar el descenso del pH, disminuyendo las excreciones renales de *Leptospira*.
- **INFECCIONES CONCURRENTES:** la receptividad de una animal a contraer la Leptospirosis, puede aumentar después que éstos han padecido alguna infección cualquiera.
- **APTITUD Y MANEJO:** los perros que conviven con otros animales tienen mayor riesgo de contraer la Leptospirosis. Perros jóvenes no vacunados, hijos de madres no vacunadas, tienden a padecer formas más graves de la enfermedad.

3.6.7 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 *L. hardjo*.
- **CONTACTO DIRECTO:** *transmisión venérea:* se ha demostrado la presencia de *Leptospiras* en semen de toros, en humanos se diagnosticó la infección de una mujer luego de contacto sexual con su pareja durante la fase de leptospiruria (van der Hoeden, 1958). Además de la venérea, la costumbre de los bovinos y perros de lamer los genitales y/o otras áreas corporales de sus compañeros, puede permitir también la transmisión de la infección.
- **NÚCLEOS GOTICULARES:** las gotas de orina se dispersan a varios metros del animal que orina, así un animal con leptospiruria puede contagiar a otros por inhalación o vía conjuntival.

- **HORIZONTAL INDIRECTA:** esta vía es fundamental en las infecciones accidentales ya que se produce tras la exposición al ambiente contaminado con material infectante

- **Fómites:** agua, alimentos, pastos y suelos contaminados pueden facilitar el contacto entre el animal/humano y el agente. 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 y el contacto con órganos de animales enfermos en el matadero. Los pastos contaminados juegan un papel importante para la transmisión intra e interespecie.

- **VERTICAL:**

- **TRANSPLACENTARIA:** el agente puede atravesar la placenta durante el período de leptospiremia infestando al feto y produciendo lesiones similares a las que producen en el adulto dando como resultado: abortos, mortinatos de, nacimiento de animales débiles y portadores asintomáticos, según el momento de la infección. En el perro es desconocida la transmisión transplacentaria, así como la aerógena.

- **VÍA ORAL:** por ingesta de alimento contaminado con orina de animales enfermos o de reservorios.

(K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.7 PATOGENIA:

Los mecanismos por los cuales las Leptospiras causan enfermedad, no están completamente claros. Un sinnúmero de factores de virulencia han sido señalados, pero a excepción de unos pocos, su rol en la patogénesis de la enfermedad, no es del todo claro. (Levett, P., 2001)

Las leptospiras penetran las membranas mucosas o la piel macerada o con abrasión y se multiplican rápidamente al entrar en el espacio vascular. (García, A. 2004)

Estas espiroquetas presentan una gran movilidad, lo que les permite un rápido desplazamiento. Poseen diversas enzimas como hemolisinas, esfingomielinasa, fosfolipasa y hemaglutininas, que facilitan su ingreso al hospedero. (Boza, R. 1999)

La movilidad que el microorganismo posee, así como su hialuronidasa lo capacitan para penetrar en los tejidos. (Laguna T. 2000)

La primera lesión que aparece en los animales infectados es la pérdida de la integridad de la membrana de las células endoteliales que recubren los pequeños vasos sanguíneos por toda la economía del individuo hospedador, lo que provoca la rotura de los vasos sanguíneos y la consiguiente hemorragia. Esto puede deberse a la acción de una toxina glicoprotéica (GLP), que es diferente al lipopolisacárido (LPS), que desempeña un importante papel en la inmunidad pero no es tóxico... (Vadillo M, Santiago, et al. 2002)

Las lesiones endoteliales han sido comprobadas por microscopía electrónica, principalmente en mitocondrias y retículo endoplasmático. Las mitocondrias se encuentran dilatadas mientras que el retículo endoplasmático está aumentado de tamaño. Todos estos fenómenos precederían a la lesión final, la necrosis celular. (Laguna T. 2000)

La enfermedad en huéspedes reservorios primarios tiende a ser más crónica, ó asintomática con una débil respuesta de anticuerpos. En contraste, la enfermedad en un huésped incidental tiende a ser aguda y severa con marcada respuesta de anticuerpos. El espectro de enfermedad en el perro va desde subclínico, a subagudo, agudo (severo), ó crónico; puede además haber aborto con ó sin placentitis. (McDonough. 2001)

En los 4 a 11 días post infección, los organismos rápidamente invaden el torrente sanguíneo, creando una leptospiremia. La leptospiremia temprana se asocia con los signos clínicos de fiebre, anemia transitoria debida a la hemólisis, leucocitosis, hemoglobinuria y albuminuria. En perros susceptibles, las leptospiras usualmente establecen una septicemia y se esparcen sistemáticamente a los órganos internos, incluyendo el hígado y riñones, ó a la placenta y feto. El desarrollo extensivo de lesiones específicas depende del serovar particular y su virulencia, así como también del estado inmune del perro. (García, A. 2004)

3.7.1 Factores de virulencia de Leptospira:

- *Factores de adherencia (OSP)*: asociados con proteínas de superficie que le permiten adjuntarse a la fibronectina y colágeno del huésped, así como también factores desconocidos que le permiten la invasión a través de las membranas mucosas ó piel húmeda y ablandada.

- *Lipopolisacáridos de Leptospira (LPS)*: que tienen actividad endotóxica del lipooligosacárido (LOS) de Leptospira, actúan sobre monocitos, activan los macrófagos, linfocitos B y en menor medida a linfocitos T, estimulando la liberación de linfocinas, desencadenando la reacción de coagulación intravascular diseminada (CID), incluyendo hemorragia y sangrados anormales; trombocitopenia y agregación plaquetaria. Otro efecto de los LPS es el de protector contra los bactericidas del suero normal, también tienen hemolisinas; el cúmulo de todos estos factores presentes causan la hemoglobinuria y anemia hemolítica. (McDonough. 2001) (Laguna T. 2000) El LPS estimula la adherencia de neutrófilos y plaquetas a las células endoteliales, causando agregación y explicando su rol en el desarrollo de trombocitopenia. (Levett, P., 2001)
[Los macrófagos estimulados producen interleucina 1 e interferón y tienen una mayor actividad bactericida, varios estudios han demostrado que el LPS es el componente inmunodominante. No obstante, se ha establecido, in vitro, que el LPS de las leptospiras es menos activo biológicamente que el de algunas enterobacterias.

Las Leptospiras son más fácilmente fagocitadas al ser opsonizadas por Ig G específicas. (Boza, R. 1999)]

- o *Esfingomielinasa C*
- o *Fosfolipasa A*
- o *Otras citotoxinas: Catalasa, Peroxidasa*

TABLA 5

Producción de Toxinas por serovar				
LPS: endotoxina (baja potencia)		Hemolisina: Esfingomielinasa	Fosfolipasa C, Na, K ATPasa	Elaboran proteínas citotóxicas:
Reportada en varios serovares		pomona	canicola	pomona
		ballum		copenhageni
		hardjo		
		tarassovi		

(Levett, P., 2001)

Leptospiras virulentas inducen apoptosis in vivo e in vitro. (Merien, F. et al 1997) (Merien, F. et al 1998)

Recientemente se ha descrito, una proteína fibronectina producida solamente en algunos serovares virulentos (Merien, F. et al 2000)

Se ha demostrado la producción de factor de necrosis tumoral (FNT- α) en pacientes con leptospirosis y se ha asociado entre otros factores, con la severidad y con la mortalidad de la enfermedad.. (Boza, R. 1999)

En la enfermedad aguda también se han detectado anticuerpos IgG anticardiolipina (Rugían, F. P. et al 1991)

La *L. icterohaemorrhagiae* usualmente causa fiebre, hemorragia, anemia, e ictericia; mientras que una severa insuficiencia renal aguda y/o hepatitis crónica activa es común por *L. grippityphosa*, resultando en una enfermedad mucho más severa que aquella causada por *L. pomona*. Las infecciones por *L. pomona* son a menudo subclínicas, pero es común un estado portador crónico. La infección del perro con el huésped adaptado *L. canicola* comúnmente resulta en una nefritis intersticial crónica. (McDonough. 2001). *L. interrogans* muestra in vitro la capacidad de adherirse a la membrana y de penetrar al citoplasma de células eucarióticas, lo que puede ser inhibido por proteasas, suero inmune de conejo y por el calor. (Boza, R. 1999)

Los gérmenes penetran ya en los órganos en la fase de leptospiremia. Colonizan principalmente hígado y riñón, en los que provocan cambios degenerativos. La ictericia sobreviene cuando el hígado está suficientemente alterado. La ictericia del perro es hepatocelular y no hemolítica como la del ternero. (Leipzig. 1981) (Biberstein y Zee, 1994). Con la estimulación al Sistema Retículo Endotelial (SER), los anticuerpos formados dan títulos mensurables de aglutinación y lisis a los 7-10 días. Estos títulos aumentan en el curso de la enfermedad, disminuyen después y persisten durante años con carácter residual a un nivel bajo. (Leipzig. 1981)

Como alteraciones atípicas se presentan también una meningitis benigna cuando las leptospiras invaden el sistema nervioso, [se ha postulado que la inflamación en el CNC, es causada principalmente por la producción de complejos inmunes (Tong, M. J, et al 1971)], ocasionalmente uveítis, aborto e infertilidad por la transmisión transplacentaria de leptospiras. (Greene, C. 1989). Hacia el final del estadio de bacteremia, 7 - 10 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 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, ó tracto reproductivo están protegidas de los efectos bactericidas de los anticuerpos; por lo tanto una leptospiruria persistente puede desarrollarse, con episodios periódicos de fiebre.

Estudios anteriores han demostrado complejos inmunes en vasos sanguíneos, músculo esquelético, corazón, riñones y en el hígado de pacientes con leptospirosis. en un excelente estudio lograron demostrar en pacientes con leptospirosis fallecidos con hemorragia pulmonar o con síndrome de distress respiratorio del adulto, antígenos de la bacteria adheridos a la membrana endotelial de capilares pulmonares así como dentro del citoplasma de los mismos, además, lesiones importantes de la células endoteliales pulmonares y agregación plaquetaria endotelial. Los autores proponen que la trombocitopenia da origen a los fenómenos hemorrágicos encontrados en un gran porcentaje de pacientes con leptospirosis.

Esta trombocitopenia no es causada por una destrucción periférica ni por déficit en su producción medular, sino por la activación, adhesión y agregación plaquetarias, estimulado todo esto por la lesión endotelial de múltiples causas, (probablemente por complejos inmunes) ya sugerida por la presencia de anticuerpos antifosfolípidos. (McDonough. 2001).

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. Eventualmente, los perros recuperados pero excretando, pueden ser seronegativos al analizarse, sin embargo, los organismos continúan multiplicándose y persisten. (McDonough. 2001)

3.8 SINTOMAS CLINICOS:

La mayoría de las infecciones por *Leptospira* tienen curso asintomático. Las infecciones se presentan principalmente en perros, bóvidos y cerdos, a veces en caballos, cabras, óvidos y focas; excepcionalmente en los gatos.

La Leptospirosis del perro puede ser causada por varios serogrupos diferentes de *Leptospira*. (Carlyle Jones, T., et al 1997) Los principales serotipos implicados son *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola*, siendo la última la más frecuente. (Biberstein y Zee, 1994)

La severidad de los síntomas ha sido relacionada con los niveles de anticuerpos circulantes (Gali, M. et al 1985)

El período de incubación varía de 5 a 20 días. Se observan tres formas: icterica, urémica y gastrointestinal.

➤ *Forma Ictérica:* suele estar provocada por *L. icterohaemorrhagiae*. Se presenta con fiebre alta, pero al segundo día de enfermedad, ésta puede descender a normal o subnormal. La ictericia aparece a partir del cuarto día de enfermedad. Generalmente se colorean primero las mucosas conjuntival y bucal, días después se extiende a la región abdominal inferior y la cara interna de las extremidades posteriores. Las áreas hepática y renal muestran dolor a la presión. La orina aparece teñida de color castaño y mantenida largo tiempo al aire, cambia progresivamente a color verdoso. En el curso de la enfermedad se produce apatía, inapetencia, vómitos y diarrea con ocasionales presencias de sangre.

➤ *Forma Urémica (Síndrome nefrítico-azotémico)*: producida generalmente por *L. canicola*. También presentan fiebre por 24 horas, muestran gran apatía que puede convertirse en somnolencia, inapetencia, vómitos incoercibles, diarreas muchas veces acuosas y una persistente poliuria ocasionan el agotamiento total del animal. La anamnesis señala la existencia de polidipsia, marcha rígida con las extremidades reunidas y el dorso encorvado. La región lumbar se muestra dolorosa a la presión, mucosas color rojo sucio, especialmente la de los carrillos y bordes de la lengua que puede tornarse pardusca, en muchas ocasiones pueden aparecer ligeras erosiones que luego se convierten en úlceras amplias y profundas, recubiertas de una capa necrótica con tendencia a sangrar. A partir de los bordes de la lengua se observan lesiones ulcerativas que pueden conducir a necrosis de toda la zona marginal del órgano. Esta forma urémica aguda dura de 6-10 días y la mortalidad puede ser de 75-90%. (BEER, J. 1981).

La forma subaguda observada en el perro corresponde a un síndrome urémico consecutivo a una nefritis: se aprecia una poliuria-polidipsia que se acompaña de vómitos y de diarrea. (Desachy, 2006)

➤ *Forma Gastrointestinal*: esta forma es similar a la urémica, pero predominan los signos gastrointestinales: diarreas incoercibles frecuentemente hemorrágicas. El pronóstico de esta forma es el mejor. (BEER, J. 1981).

Otros autores describen además otras dos formas de la enfermedad:

➤ *Curso latente o subclínico*: esta es la forma más frecuente, los trastornos clínicos pueden faltar por completo o ser tan discretos que no se advierten.

➤ *Síndrome Nervioso*: observamos trastornos dependientes del sistema nervioso central: trismos, accesos epileptiformes, ataxia, fenómenos de excitación psíquica, mielitis; que aparecen precozmente en perros jóvenes con síntomas leves de nefritis y títulos positivos de aglutinación. En algunos de estos casos se obtuvieron títulos con el LCR (líquido cefalorraquídeo), mientras en las demás formas, son siempre negativas. (Leipzig. 1981)

La forma más aguda afecta a los cachorros jóvenes, produce fiebre y normalmente es mortal en un plazo de días. (Biberstein y Zee, 1994)

En casos crónicos, puede ocurrir que no exista enfermedad aparente, ó sólo se presenta fiebre de origen desconocido y una conjuntivitis que va de leve a severa ("ojos rojo"). (McDonough. 2001). La Leptospirosis crónica se manifiesta por lo general con signos inespecíficos: inapetencia, polidipsia, poliuria y a veces afecciones gastrointestinales de larga duración. La enfermedad puede prolongarse por más de tres semanas provocando estados caquéticos. (BEER, J. 1981)

3.9 INMUNIDAD A LA INFECCIÓN:

La inmunidad a Leptospirosis es principalmente humoral (Adler, B and S. Faine, 1977). La respuesta inmune mediada por células, se ha reportado (Rotnam, S., et al 1984) Sin embargo, la supresión de esta respuesta también ha sido reportada con la reducción de los linfocitos T CD₄⁺. (Yamashiro-Kamashiro, E. H. et al 1991)

Los perros en diferentes partes del mundo posiblemente se ven infectados por muchos serovares diferentes, pero la prevalencia local varía. Las vacunas actualmente utilizadas en perros en la mayoría de los países contienen los serovares *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*. En vacunas más recientes *L. grippityphosa* y *L. pomona* han sido agregadas. El desarrollo de la inmunidad protectora hacia leptospirosis se cree que está asociada con la opsonización y anticuerpos bactericidas dirigidos hacia LOS y antígenos protéicos asociados. Vacunas más viejas pueden producir inmunidad la cual es adecuada para suprimir la invasión sistémica por serovares homólogos, pero no para prevenir la colonización renal de un perro, resultando en un estado portador renal. La localización de leptospiras en los túbulos proximales renales, y su supervivencia en el fluido cerebroespinal (CSF) y humor vítreo del ojo en algunos animales infectados, refleja la inhabilidad de los anticuerpos para penetrar en aquellos sitios sin causar inflamación. Debería reconocerse que la protección por vacunas es serovar específica y, en menor extensión, a un serogrupo específico. La protección contra leptospirosis está relacionada al nivel de anticuerpos aglutinantes y/u opsonizantes. A pesar de la disponibilidad de las vacunas por varias décadas, la duración de la inmunidad inducida por la vacuna no se conoce puesto que no existen los estudios de largo plazo.

La prueba serológica para la leptospirosis más utilizada es la aglutinación microscópica de *Leptospira* (MAT). Detecta bien la respuesta de Ig M, pero no es tan eficiente para detectar respuestas de Ig G. La declinación de títulos MAT a menudo comienza aproximadamente 16 semanas pos-vacunación, pero títulos más bajos probablemente no indiquen falta de inmunidad, ya que una respuesta anamnésica puede ser suficiente para engendrar protección contra la enfermedad clínica. La protección aportada por bacterinas de célula completa es corta (anecdóticamente, alrededor de 9 meses) sugiriendo que perros con alto riesgo de infección requieran refuerzos al menos dos veces al año. Además las vacunas deberían contener los serovares que circulan en la región. La investigación actual sobre vacunas está enfocada hacia los productos de la subunidad y su objetivo es determinar qué fracción ó fracciones de la pared celular de la leptospira son inmunogénicas y protectoras sin ser tóxicas al animal. Una vacuna ideal reduciría el índice de reacciones adversas, y así mismo produciría protección contra ambos serovares homólogos y heterólogos. (McDonough. 2001)

3.10 ANATOMIA PATOLOGICA:

Las lesiones que aparecen en la Leptospirosis no son patognomónicas, por lo que no puede basarse en ellas para el diagnóstico de la enfermedad. También las lesiones poco observables dependen del serovar implicado así como los órganos afectados. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

En la **fase aguda** de la enfermedad las lesiones predominantes son: severa deshidratación e ictericia, petequias en pleura, peritoneo y mucosa oral y nasal. La lesión hepática que se observa, aunque no solamente en Leptospirosis, es una ruptura a nivel de organización celular, estas se disocian y hay una individualización de las células hepáticas. Las células afectadas a menudo presentan gránulos citoplasmáticos eosinofílicos y núcleos hipercrómicos. A veces la regeneración del parénquima hepático se evidencia por células binucleadas, grandes núcleos hipercrómicos y figuras mitóticas. Podemos encontrar focos necróticos en el parénquima hepático, las células de Kupfer pueden contener gran cantidad de hemosiderina y los vasos portales generalmente están congestionados.

A nivel renal: el glomérulo muestra pocos cambios pero los túbulos generalmente están muy alterados, hay inflamación, y las células epiteliales pueden estar vacuoladas o presentar gránulos eosinofílicos; y pueden estar completa o parcialmente descamadas en el lumen del túbulo. También podemos encontrar Leptospiras solas o en grupos. Los túbulos afectados suelen estar rodeados de linfocitos, células plasmáticas y ocasionalmente de eritrocitos, con infiltrado difuso en el estroma intersticial.

Los nódulos linfáticos y el bazo generalmente se encuentran aumentados de tamaño y pueden tener áreas edematosas y hemorrágicas.

Es común encontrar una hemorragia difusa en la porción fúndica de la mucosa gástrica que puede llegar a la necrosis, también pueden haber hemorragias en la submucosa y en menor grado en la muscular.

En intestino puede haber petequias en la serosa y la mucosa, pero aquí no son tan severas como las del estómago y tampoco se asocian con necrosis.

En otros órganos como el miocardio, mucosa y submucosa de la vejiga urinaria, glándulas adrenales, páncreas, vesícula biliar y pulmones; podemos hallar hemorragias y edema. En la superficie pleural de los pulmones puede haber tremendas hemorragias que pueden ser particularmente llamativas.

En la enfermedad **sub-aguda**: algunos animales que sobreviven a la septicemia aguda de la enfermedad, mueren por uremia causada por la insuficiencia renal. En la necropsia se observa deshidratación, emaciación y un fuerte olor urémico; pero la ictericia y la hemorragia son inusuales. La lesión renal es la más significativa, la superficie usualmente es lisa, la cápsula tensa y de color blanquecino o grisáceo, a veces hay hemorragias en le parénquima.

Las lesiones resultantes de la uremia pueden encontrarse además en otras partes del cuerpo. Esto incluye hemorragias gástricas con depósitos microscópicos de calcio, también hayamos depósitos calcáreos en las paredes de la Aorta y de grandes arterias. (Carlyle Jone, T. et al 1997)

El cadáver animal revela ictericia manifiesta, necrosis de la piel; de los ollares, de la cavidad nasal y bucal. En la necroscopia se observa acúmulo de líquido sero-gelatinoso rojizo en el tejido subcutáneo, hígado hipertrófico y palidez hepática, o color amarillenta, vesícula biliar llena con bilis espesa y viscosa de color pardo o verde, bazo de tamaño normal o ligeramente aumentado, de color amarillento, lesiones muy variables desde lesiones blanco amarillentas en la superficie o focos hemorrágicos como en pulmón. 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, también hemorragia. La vejiga, llena de orina turbia o rosada, los ganglios tumefactos y las mucosas intestinales pueden estar inflamadas. En los fetos abortados se observan congestión generalizada y deposiciones líquidas. También se puede encontrar ictericia, mastitis, fluido libre en cavidades corporales, lesiones petequiales dispersas, edema peri-renal, nódulos linfáticos aumentados de tamaño, bilis de consistencia pastosa y color negrusco. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.11 DIAGNÓSTICO:

El diagnóstico de leptospirosis en perros depende de la detección de leptospiras en especímenes clínicos y/o demostrando un aumento del título de anticuerpos hacia uno ó más serovares de leptospira. Es poco probable que las infecciones subclínicas sean diagnosticadas.

3.11.1 Diagnóstico laboratorial: los análisis de laboratorio incluyen perfiles químicos hematológicos y del suero, urianálisis, serología y estudios bacteriológicos de especímenes apropiados.

Técnicas Directas: observación al microscopio de campo oscuro, tinción Argénica: incluye la *técnica de Warthing-Starry y sus modificaciones y la técnica de Steiner y Steine*, *Técnicas de tinción Inmunohistoquímica: inmunofluorescencia, Inmunoperoxidasa y Marcado de partículas de oro; Técnicas de detección y estudio de ácidos nucleicos y Aislamiento*

Técnicas Indirectas: *test de microaglutinación (MAT), Prueba de Aglutinación Microscópica con Antígeno Muerto (MSAT), fijación de complemento (Fc), ELISA, aglutinación macroscópica, aglutinación en microcápsula y hemoaglutinación indirecta.*

También existen otros métodos pero no de amplio uso en el mundo como: Prueba Hemolítica (HL), Contrainmunolectroforesis (CIE), Inmunoabsorción Magnética. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.11.1.1 MAT: la actual prueba de diagnóstico "óptimo estándar" para leptospirosis es la prueba microscópica de aglutinación para Leptospira (L-MAT) realizado primero durante la fase aguda de la enfermedad y en un segundo suero (convaleciente) que debería obtenerse dentro de 3 ó 4 semanas. La serología para Leptospira es imprecisa, pero se pueden hacer generalizaciones con respecto a la interpretación del resultado de L-MAT. Los anticuerpos son detectados por primera vez entre el día 7 - 10 pos-infección en el perro.

En perros no vacunados los títulos inicialmente pueden ser bajos, 1:100 a 1:200, pero pueden incrementarse en la muestra convaleciente a 1:800 a 1:1600. En animales vacunados, títulos agudos de niveles menores (>1:400) son encontrados a menudo, pero dependen de cuándo el perro fue vacunado por última vez. La respuesta a la infección en animales previamente vacunados generalmente resulta en respuestas anamnésicas sólo para el serovar homólogo. El tratamiento antimicrobiano afecta adversamente el desarrollo de los títulos de anticuerpos. (McDonough. 2001)

Esta es la técnica serológica de referencia y la utilizada en este estudio. Los sueros de animales con anticuerpos anti-leptospira 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 a sido modificado y mejorado por distintos autores: Schüffner y Mochtar, 1926; Borg-Peterson y Fagroeus, 1949; Wolf, 1954; Carbrey, 1960; Galton, 1965; Cole, 1973; Suzer y Jones, 1973; quienes lograron estandarizar factores como: tiempo, temperatura de incubación, punto de corte, concentración de antígeno y la edad de siembra, y a la vez demostraron que no se producía lisis como se pensaba en la antigüedad, sino aglutinación.

EL MAT posee una sensibilidad de 92%, especificidad de 95%, el valor predictivo positivo es 95% y el negativo 100%.

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

➤ **DESVENTAJAS DEL MAT:**

- El MAT es una prueba que mide los niveles de respuesta inmunológica de los individuos, y existen portadores, eliminadores de la bacteria que no presentan niveles detectables de anticuerpos, lo mismo sucede con aquellos animales inmunodeprimidos y aquellos que al momento de tomar la muestra, por ejemplo para un estudio epidemiológico (como el presente), se encuentran en el período de incubación y aún no han desarrollado anticuerpos pero si están infestados.
- No distingue anticuerpos vacunales de los de infección.
- Resulta difícil su estandarización porque su valoración es subjetiva.
- Requiere el mantenimiento de cultivos de leptospiras.
- No siempre detecta a los animales infectados, en especial cuando el serovar implicado *L. hardjo*, cuya característica es ser poco antigénico.
- Es cara y laboriosa.
- Otra desventaja es el riesgo continuo al trabajar con antígenos vivos.

➤ **VENTAJAS DEL MAT**

- Como es una prueba serovar-específica, permite determinar qué serovar o serovares está causando la enfermedad (MAT cualitativo) y además cuantificar el nivel de anticuerpos (MAT cuantitativo).
- Es una prueba confiable: posee alta especificidad y sensibilidad.
- Detecta anticuerpos aglutinantes Ig M e Ig G, aunque McDonough 2001 afirma que el MAT detecta bien la respuesta de Ig M, pero no es tan eficiente para detectar respuestas de Ig G.

3.11.1.2 Otras pruebas complementarias:

Valoración e interpretación biopatológica:

➤ Hemograma:

- *Anemia normocrómica y normocítica*: moderada e inconstante, de génesis doble, por la hemólisis y por las pérdidas hemáticas provocadas por las lesiones vasculares.
- *Leucocitosis neutrofílica*: como respuesta a la acción patógena bacteriana.
- *Trombocitopenia*: moderada, no está del todo claro, pero se sugiere que es debido a la acción directa de las leptospiras sobre los megacariocitos.

➤ Bioquímica hemática:

- *Bilirrubina total y directa*: incrementadas, consecuencia de las alteraciones a nivel hepático y a la hemólisis.
- *Urea y creatinina*: elevadas, por el fracaso renal que se va instaurando paulatinamente.
- *ALT* y AST***: aumentadas, traducen fenómenos regresivos a nivel hepático como degeneración y necrosis.
- *Fosfatasa alcalina*: incrementada, inconstante. Debido a la dificultad de drenaje biliar hepático.
- *Fósforo*: elevado, paralelo al grado de insuficiencia renal.
- *Proteínas totales*: descendidas: hipoalbuminemia, por las pérdidas proteicas a nivel renal y la disminución de su síntesis a nivel hepático, aunque pueden encontrarse valores normales o hasta elevados en compensación a la deshidratación.

**Alanita y **Aspartato transferasa: transaminasas hepáticas, implicadas en el metabolismo de los aminoácidos alanina y aspartato (a nivel hepático), respectivamente, indicadoras de la función hepática.*

- **Bioquímica Urinaria:**
 - *Proteinuria.*
 - *Pigmentos biliares:* incrementados.
 - *Urobilinógeno:* aumentado o normal.
 - **Modificaciones físicas de la orina:**
 - *Densidad:* aumentada.
 - **Sedimento urinario:**
 - *Hematuria.*
 - *Leucocituria.*
 - *Cilindruria:* epiteliales y granuloso
 - **Otras:**
 - *Tiempo de sangría y coagulación:* incrementados.
- (Viñas, L. 1989)

3.11.2 Diagnostico Epidemiológico: en aquellos casos tanto de animales como de humanos, que se encuentren cuadros sintomatológicos compatibles con un caso de Leptospirosis, se debe enfatizar en las anamnesis de los aspectos siguientes:

- *Época del año* en la que ha aparecido el brote, con especial atención a las condiciones climáticas: precipitación, temperatura, humedad relativa
- *Aptitud del rebaño, manejo y estado sanitario* de la explotación incluyendo, entrada de animales nuevos, manejo de la recría, alimentación, si hay monta natural o inseminación artificial etc.
- *Presencia de otras especies domésticas* ejemplo: ovejas, perros, cerdos etc.
- *Control de animales silvestres portadores.*
- *Si el rebaño comparte el bebedero con otros animales silvestres.*
- *Edad y sexo* de los animales afectados.
- *Sintomatologías predominantes y características* de los signos clínicos
- *Antecedentes de leptospiras.*
- *Si se realiza o no vacunación contra Leptospirosis.*

3.11.3 Diagnóstico Clínico: tiene un carácter presuntivo y se realiza fundamentalmente a través de los signos y síntomas que presenten los animales y el humano. Además las lesiones anatomopatológicas características de la enfermedad que aportan una gran contribución. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.11.4 Diagnósticos Diferencial:

- *De la enfermedad peraguda ó aguda* en el perro incluyen enfermedad por gusanos cardiacos (dirofilariosis), anemia autoinmune hemolítica, bacteremia (debido a heridas por mordedura, prostatitis, enfermedad dental), hepatitis infecciosa viral canina, neoplasia hepática, trauma, Lupus, fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, Ehrlichiosis, toxoplasmosis, neoplasia renal, y cálculos renales.
- *De enfermedad crónica*, por ejemplo, aborto, síndrome del cachorro débil, incluyen brucelosis canina, infección canina por herpesvirus y distemper. (McDonough. 2001)

3.12 PROFILAXIS Y TRATAMIENTO:

Para que las medidas que se quieren tomar sean efectivas para el control de la enfermedad en cuestión, es sumamente imprescindible la identificación lo antes posible de los animales afectados, así como el serogrupo y/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. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

3.12.1 PROFILAXIS:

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 (WHO, 1982)

➤ INMUNOPROFILAXIS:

Las vacunas contra la Leptospirosis suelen estar asociadas con las del moquillo y la hepatitis, contienen solamente *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*, a veces *L. grippotyphosa* y *L. australis*. El título de aglutinación es bajo después de la vacunación, algunos autores señalan que se debe a anticuerpos protectores no emparentados con las aglutininas. (Leipzig. 1981)

La prevención de Leptospirosis comprende la eliminación del estado de portador, sin embargo el control de la excreción por los reservorios silvestres es imposible. Por este motivo la vacunación de los perros es esencial. Se dispone de bacterinas bivalentes que contienen dos serovares (*L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*) para empleo en caninos. La inmunización es eficaz para reducir la prevalencia e intensidad de la leptospirosis canina, pero no impide el estado de portador ni protege contra la infección por otras serovariantes. Se indican vacunaciones frecuentes (anuales) en zonas endémicas y todos los perros deberían recibir tres inyecciones en una primovacuna.

Desde el punto de vista de salud pública, la orina contaminada es muy infecciosa para las personas y especies animales susceptibles; en consecuencia debe evitarse el contacto con membranas mucosas o abrasiones en la piel. (Ettinger, S. y Feldman, E. 1997) (Biberstein y Zee, 1994)

En vacunas más recientes *L. grippotyphosa* y *L. pomona* han sido agregadas. El desarrollo de la inmunidad protectora hacia leptospirosis se cree que está asociada con la opsonización y anticuerpos bactericidas dirigidos hacia LOS y antígenos protéicos asociados. (McDonough. 2001)

Los animales amenazados pueden ser inmunizados pasivamente con sueros hiperinmunes. Los perros con infección latente se tratan con ventaja durante unos días con antibióticos. (Leipzig. 1981)

La vacunación es una práctica muy extendida en muchos países siendo, para algunos autores, la mejor herramienta de control. Sin embargo, presenta una serie de inconveniencias en primer lugar: las vacunas comerciales son bacterinas y no proporcionan inmunidad cruzada entre serovares distintos, además las cepas y varían entre países, por lo que la protección ofrecida por las vacunas elaboradas con cepas de otro país o región, en otras regiones puede ser poco eficaz. (K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

➤ **PROFILAXIS HIGIENICO SANITARIA:**

La profilaxis higiénico-sanitaria es esencial en el control de la leptospirosis en una población humana y animal, pero siempre ha de formar parte de un sistema general de control, junto con la vacunación y el tratamiento, ya que ninguna de estas medidas son eficaces por separado. Las medidas higiénicas- sanitarias deben basarse en dos puntos esenciales: el control de hospedadores de mantenimiento silvestres y el control de hospederos domésticos. También los factores ecológicos que influyen en la epizootiología de la Leptospirosis como: densidad alta de población animal, su migración natural o planeada, las características geográficas, agronómicas y meteorológicas del ambiente y los cambios estacionales deben tomar en cuenta.

Algunas medidas principales recomendadas son:

- Educar a la población sobre todo lo que represente alto riesgo de contagio y sobre cómo evitar la enfermedad.
- Protección adecuadas de los: ganaderos, veterinarios, obreros agrícolas, 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 casa y 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 a los animales, separados por especie.
- Aplicar el tratamiento específico a los animales y a las personas con síntomas, trasladarlas a la unidad de salud correspondiente.
- 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.
- Llevar a cabo programas de desratización mensual.
- Realizar informes anuales sobre la situación de la enfermedad en esta zona (Sauce y Achuapa). (Faine, 1982; OIE, 1992; WHO, 1993, K. Sandow y W. Ramírez, 2005).

3.12.2 TRATAMIENTO:

La terapia de sostén para los animales con Leptospirosis depende de la magnitud del cuadro, de la presencia de disfunción renal o hepática y de otros factores complicantes. Se infunden líquidos para superar el estado de choque y deshidratación y se indica diuresis química con agentes osmóticos (glucosa al 10% 2.5 ml/lb.) o diuréticos tubulares (furosemida) para los casos oligúricos. (Ettinger, S. y Feldman, E. 1997)

Las leptospiras son prácticamente sensibles a todos los antimicrobianos, a excepción de las sulfonamidas y el cloranfenicol, pudiendo utilizarse una amplia gama de ellos para el tratamiento de la infección. Sin embargo, la mayor limitación de los antimicrobianos es que no eliminan el estado de portador renal. (Alonso-Andicoberry et al. 2001)

Los antibióticos inhiben de forma inmediata la multiplicación bacteriana y reducen con rapidez las complicaciones mortales de la infección como la falla hepática y renal. (Ettinger, S. y Feldman, E. 1997)

Los perros usualmente se recuperan después de 2 semanas, si son tratados prontamente con antibióticos y fluidos endovenosos. Sin embargo, si el daño renal ó hepático es severo la infección puede ser fatal.

Un tratamiento exitoso depende de la evaluación de la severidad de la enfermedad del perro. La terapia antimicrobiana inicial, donde hay evidencia de disfunción renal y/o leptospiremia, debería incluir el uso de *penicilina G procaína* (40,000 a 80,000) u/kg., IM, una vez al día, ó en dosis divididas, dos veces al día) hasta el retorno de la función renal.

También pueden utilizarse fármacos alternativos en lugar de penicilina, como *ampicilina* ó *amoxicilina*. La eliminación de leptospiras del tejido intersticial renal a fin de controlar el estado portador se logra mejor utilizando *dihidroestreptomomicina* (10 a15 mg/ kg, IM, dos veces al día por 2 semanas) ó *estreptomomicina*. La *doxiciclina* no está formalmente aprobada, pero una administración oral de 5.0 mg/kg una vez al día ha sido propuesta. Los aminoglicósidos no pueden utilizarse en pacientes hasta que se restablezca la función renal. (McDonough. 2001)

Seroprevalencia de Leptospirosis y Tipificación de los serovares circulante en caninos de El Sauce y Achuapa, 2006.

4. MATERIAL Y METODO

4.1 Diseño metodológico:

La presente investigación es un estudio epidemiológico observacional transversal sobre la seroprevalencia de leptospirosis en la población canina de los municipios de Achuapa y El Sauce del departamento de León.

4.2 Lugar del estudio:

El presente estudio se llevó a cabo en la población canina de las siguientes comunidades: Wiquili, El Carao, Las Peñas, La Calera, El Barro, Monte Frío (Municipio de Achuapa); Panales, Petaquilla, Sálales, Río Grande, La Calera (Municipio de El Sauce), Dep. de León. Estas comunidades se escogieron por conveniencia por la actual detección de casos positivos de leptospirosis en humanos.

4.3 Población de estudio:

Perros de los municipios de El Sauce y Achuapa del departamento de León, estimando una población de 2000 perros de los cuales la mayoría es menor de 1 año. (Según el III Censo Nacional Agropecuario, Cenagro, existen 1500 fincas ganaderas en El Sauce y Achuapa, en cada finca hay de 1 a 2 perros, por tal motivo calculamos una población aproximada de 2000 caninos).

4.4 Selección y tamaño de muestra:

Elegimos por conveniencia las comunidades de El Sauce y Achuapa donde se han venido presentando casos de Leptospirosis en seres humanos, pero con una población estimada de 2000 perros, calculamos una muestra de 217 animales una prevalencia esperada de 35%, error aceptado de 6%, con nivel de confianza de 95%. Las fincas fueron elegidas al azar, y los animales según los criterios intrínsecos y extrínsecos.

4.5 Criterios intrínsecos:

Se tomaron muestras a los perros adultos, mayores de 1 año. Todos los perros de la zona de estudio son de raza criolla.

4.6 Criterios extrínsecos:

En estas comunidades los perros son criados en los patios, entrando en contacto con todos los animales del medio (porcinos, bovinos, equinos, ovinos etc.), donde deambulan libremente no sólo por la propia finca, sino también por las fincas vecinas. Por lo general las personas tienen de uno a dos perros en pobres condiciones sanitarias y nutricionales.

4.7 Factor de inclusión:

Perros mayores de 1 año con o sin síntomas de enfermedad aparente, de comunidades de El Sauce y Achuapa con casos positivos de leptospirosis humana.

4.8 Factores de exclusión:

1. Perros que al momento del muestreo no se encontraban en la finca.
2. Perros de personas renuentes a participar en el estudio.

4.9 Unidad de análisis y Toma de la muestra:

Son las 197 muestras de sangre extraídas de los perros de los municipios de El Sauce y Achuapa del departamento de León. Se extrajo de 3-5 ml de sangre del animal en pie, de la vena cefálica braquial o de la safena, izquierda o derecha, con jeringas de 3-5 ml, agujas de 21½, luego se depositó en un tubo de ensayo de 16x100 ml sin anticoagulante y se tapó con tapón de hule, marcándose con un código correspondiente al que se le asignó al animal en la encuesta. A continuación el tubo correctamente marcado y cerrado se deposita en una gradilla en las que fueron transportadas hasta el laboratorio móvil y provisional del CNDR instalado en DANIDA (El Sauce) donde son recepcionados para luego separar el suero de la sangre. Este suero se depositaba en micro-viales (también correctamente etiquetados), donde si pueden congelarse. Los tubos de ensayo con las muestras de sangre que no se hayan separado del suero el mismo día, solamente se pueden refrigerar y no congelar pues este proceso causa una hemólisis, si el suero es hemolítico, interfiere con el diagnóstico.

Trabajamos únicamente con 197 muestras, ya que perdimos 20 por mal manejo de las mismas.

Aunque hubo personas que no permitieron que sus perros fueran muestreados ($\approx 5\%$), esas muestras las sustituimos eligiendo otra finca.

4.10 Divulgación de los resultados:

- a. Notificación a las autoridades municipales de El Sauce y Achuapa.
- b. Publicación en medios de comunicación.
- c. Divulgación científica: Defensa de Tesis y exposiciones en congresos científicos.

4.11 Ventajas y Limitaciones del estudio:

Las ventajas principales del estudio de este tipo son la reducción de costes económicos, acortamiento del periodo de estudio, simplicidad en la recogida de información y posibilidad de determinar la prevalencia en un momento concreto.

Dentro de las limitantes del estudio tenemos, en primer lugar el factor económico, luego tenemos el sesgo de selección al elegir las comunidades por conveniencia y el de información, ya que las personas no saben realmente la edad de los animales, solo hacen un cálculo; finalmente tenemos la no contemplación de un porcentaje de rechazo, por tal razón al perder 20 muestras, debemos trabajar solamente con 197 de las 217 calculadas.

4.11 Materiales:

1. Aguja.
2. Alcohol 70%.
3. Algodón.
4. Agua destilada.
5. Antígenos vivos (*Leptospiras* sp.)
6. Beakers
7. Balanza electrónica.
8. Bolsas plásticas
9. Bordex
10. Centrifuga
11. Cinta para rotular
12. Cinta adhesiva
13. Cubreobjetos
14. Fenol 5%
15. Guantes de látex
16. Gabachas
17. Gradillas
18. Hoja de registro.
19. Incubadora
20. Jabón
21. Jeringas estériles de 3 y 5 ml.
22. Libreta.
23. Lapicero
24. Microscopio de campos oscuros.
25. Marcadores.
26. Mecates.
27. Mechero
28. Medios de cultivo EMJH (Ellinghausen & McCullough, modificado por Johnson & Harries).

29. Micro-viales
30. PBS (Phosphate-buffered saline)
31. Probetas de 2000ml, 1000ml, 500ml y 100ml).
32. Placas flexibles fondo U de 96 pocillos, sin tapa no estéril. Becton Dicranson.
33. Pipetas (5-50 μ , 0.5-10 μ , 50-200 μ , 100-1000 μ , 100-1000 μ). Biohit y Human.
34. Pipetas multicanal (50-300 μ , 400-2000 μ , 5-50 μ). Fisherbrand y Bonchmate.
35. Pipetas Pasteur
36. Papel de aluminio.
37. Papel absorbente.
38. PHmetro.
39. Portaobjeto.
40. PBS
41. Termos refrigerantes.
42. Tubos de ensayos de 16x100 mm. con tapón de hule para colección de muestras de sangre
43. Pissetas (alcohol, fenol, PBS, agua destilada).

DESCRIPCION DE LA TÉCNICA MAT:

Técnica MAT.

Esta se realiza de forma cualitativa y cuantitativa.

❖ MAT cualitativo:

Rotular los tubos con el número muestra que le corresponde y de igual manera se rotulan los tubos de ensayo en que se diluirán los antígenos.

1. Diluir los sueros a estudiar 1:100: 1960 µl (microlitro) de PBS y 40 µl de suero, completando 2 ml.
2. Se marcan las placas flexibles de 96 pocillos, fondo en U sin tapa no estéril, con la numeración de muestra y de antígeno correspondiente.
3. Agregar 50 µl de suero diluido en PBS en el pozo que corresponde al número de la muestra, esto se hace con todo los sueros que se va a trabajar.
4. Agregar 50 µl de antígeno en los pozos correspondientes a él (los antígenos se preparan tomando 1 ml del tubo de crecimiento y diluyéndolo en 3 ml de PBS, de forma que al microscopio se observen unas 100 leptospiras por campo), en la primera línea de pozos se depositan 50 µl de PBS y 50 µl de antígeno correspondiente al pozo; sin suero, es el control de antígenos que también puede ser ubicado al final de la placa.
5. Incubar por 2 horas en una temperatura de 37 °C.
6. Tomar 10 µl de las muestras que se encuentran en los pozos de la placa y se depositan en un porta objeto.
7. Observar en el microscopio de campo oscuro a 20x, si hay aglutinaciones (reacción antígeno-anticuerpo) o no.

❖ **MAT cuantitativo:**

1. Rotular los tubos con el número de muestra que le corresponde y de igual manera se rotulan los tubos de ensayo en que se diluirán los antígenos.
2. Diluir los sueros a estudiar 1:100: 1960 µl de PBS y 40 µl de suero completando 2ml y diluir los antígenos en 3ml de PBS 1 ml de antígeno.
3. Rotular las placas con el número de muestra a un lado y al otro lado el número de antígeno al cual reaccionó en el cualitativo.
4. Agregar 50 µl de PBS en el primer pocillo yendo de izquierda a derecha.
5. Agregar 50 µl de suero diluido en el segundo y el tercer pocillo (de igual manera que en el cualitativo, dejamos el primero sin suero, para control de antígeno).
6. Agregar 50 µl de PBS, desde el tercero hasta el séptimo pocillo.
7. Realizar las diluciones a partir del tercer pocillo, mezclando con las puntas de pipeta, obteniendo: tercer pocillo: 1/100, cuarto pocillo: 1/200, quinto pocillo: 1/400, sexto pocillo: 1/800. (Estas diluciones pueden seguir aumentando).
8. Agregar 50 µl del antígeno correspondiente en los pocillos.
9. Se incuban por 2 horas a 37°C, protegidas de luz directa. (Cubrimos las placas con papel de aluminio y las introducimos en la incubadora).
10. Tomar 10 µl de la muestra que se encuentran en los pozos de la placa y se depositan en un porta objeto.
11. Observa en el microscopio de campo oscuro a 20x.

Para el mantenimiento de las cepas que se utilizan como antígenos, se realizan pases cada 7 días (óptimo), o hasta 15, los antígenos son inoculados en medios de cultivos EMJH.

TABLA 6 LOS SEROVARES CON QUE TRABAJARON EN UN PRINCIPIO SON 29:

SEROGRUPO	SEROVAR	STRAINS
➤ Ceparrio Holandés:		
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>Hebdomadis</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>
➤ Cepas de referencia de Cuba:		
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>
29. <i>Sarmin</i>	<i>sarmin</i>	<i>Sarmin</i>

Decidimos trabajar con doce cepas debido a que comparten antigenicidad entre algunas de ellas y además son las que principalmente se encuentran en nuestros animales. Once de los serovares utilizados en el presente estudio fueron obtenidos del Cepario Holandés y uno de las cepas de referencia de Cuba. Las doce cepas utilizadas son: *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hebdomadis*, *L. icterohaemorrhagiae (RGA)*, *L. icterohaemorrhagiae (M20)*, *L. pomona*, *L. pyrogenes*, *L. sejroe*, *L. patoc*, *L. icterohaemorrhagiae (Wijnberg)*, *L. icterohaemorrhagiae (kennewikies)*, *L. lousiana*.

5. RESULTADOS:

De 197 muestra de caninos analizadas 80 fueron positivas en una dilución mínima 1/100 contra uno o más serovares de Leptospira (de los 80 perros reactivos, 49 presentaron títulos para dos o más serovares), representando una seroprevalencia de 41% (Fig. 1)

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

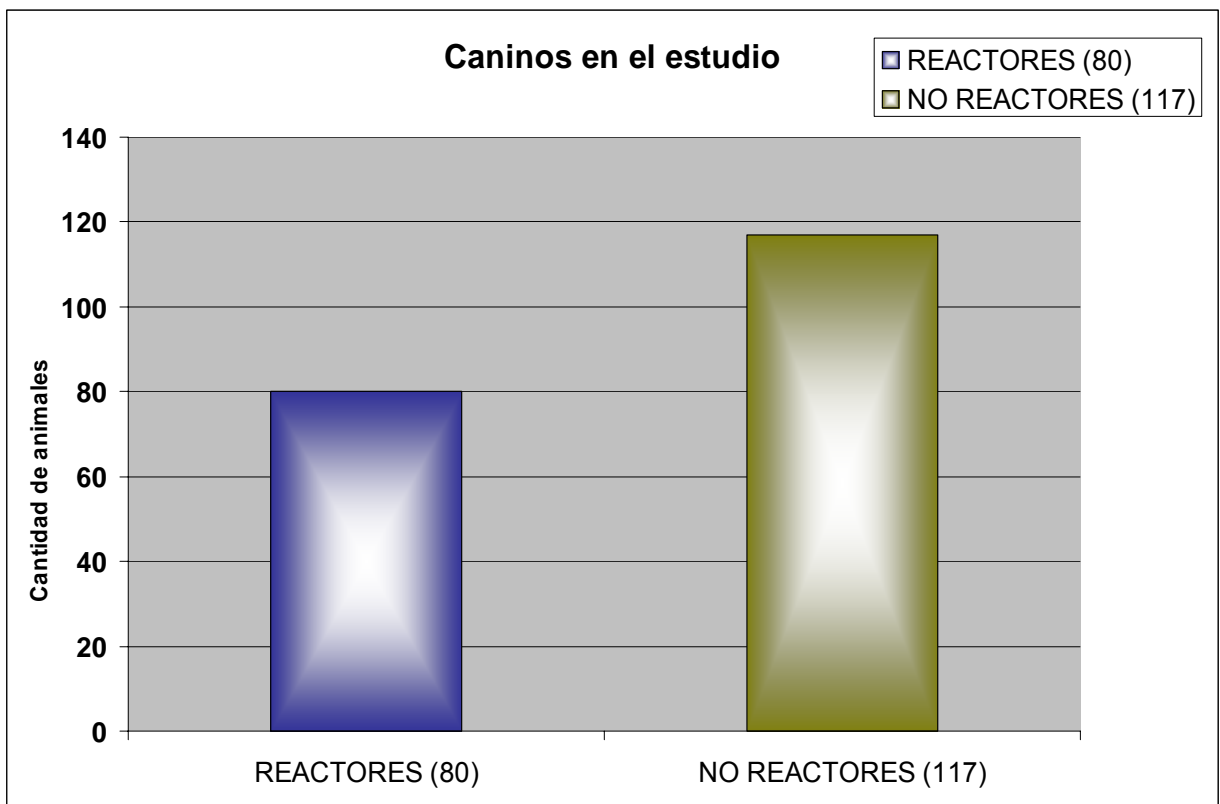
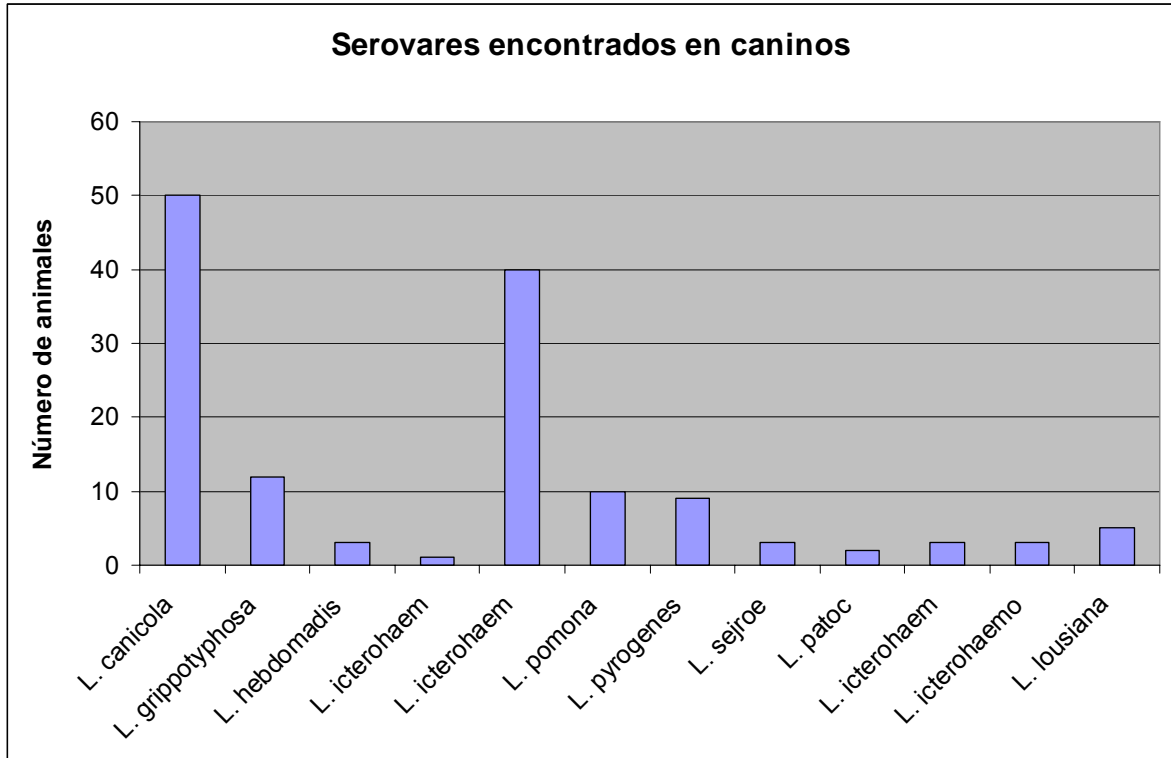


Fig. 2 Serovares encontrados en los caninos de El Sauce y Achuapa a través de la técnica MAT cualitativo.



De los 80 sueros positivos, en orden descendente, la cantidad que reaccionó a cada serovar: 50 a *L. canicola* (62.5%), 40 a *L. icterohaemorrhagiae* (M20) (50%), 12 a *L. grippityphosa* (15%), 10 a *L. pomona* (12.5%), 9 a *L. pyrogenes* (11.25%), 5 a *L. lousiana* (6.25%), 3 a *L. hebdomadis* (3.75%), 3 a *L. sejroe* (3.75%), 3 a *L. icterohaemorrhagiae* (wijnberg) (3.75%), 3 a *L. icterohaemorrhagiae* (Kantorowies) (3.75), 2 a *L. patoc* (2.5%) y 1 a *L. icterohaemorrhagiae* (RGA) (1.25%).

Seroprevalencia de Leptospirosis y Tipificación de los serovares circulante en caninos de El Sauce y Achuapa, 2006.

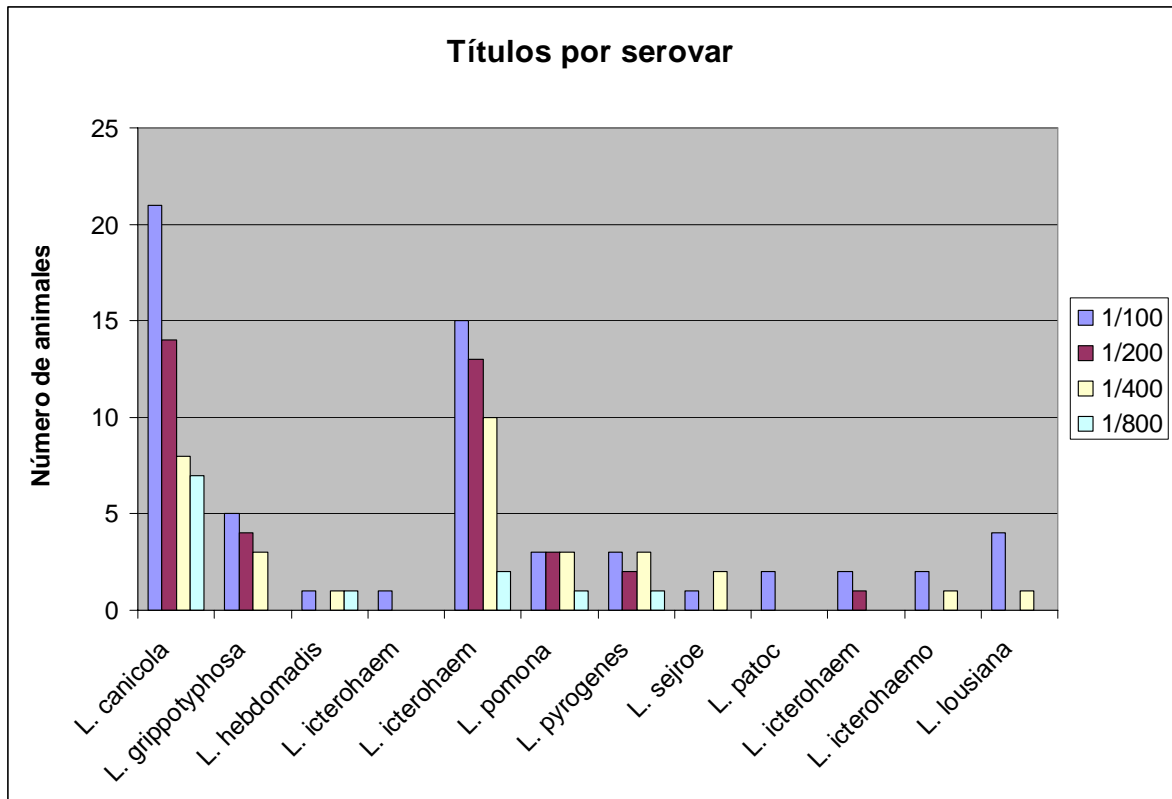
Las diluciones a las cuales se sometió cada suero de los animales que resultaron reactivos al MAT cualitativo fueron: 1/100, 1/200, 1/400 y 1/800.

A continuación una tabla de los serovares y las diluciones obtenidas:

TABLA 7.

Serovar	Dilución			
	1/100	1/200	1/400	1/800
<i>L. canicola</i>	21	14	8	7
<i>L. grippotyphosa</i>	5	4	3	0
<i>L. hebdomadis</i>	1	0	1	1
<i>L. icterohaemorrhagiae (RGA)</i>	1	0	0	0
<i>L. icterohaemorrhagiae (M20)</i>	15	13	10	2
<i>L. pomona</i>	3	3	3	1
<i>L. pyrogenes</i>	3	2	3	1
<i>L. sejroe</i>	1	0	2	0
<i>L. patoc</i>	2	0	0	0
<i>L. icterohaemorrhagiae (wijnberg)</i>	2	1	0	0
<i>L. icterohaemorrhagiae (Kantorowies)</i>	2	0	1	0
<i>L. lousiana</i>	4	0	1	0

Fig. 3 Diluciones de corte para cada animal reactor a MAT cualitativo



contra cada serovar de leptospirosis en caninos de El Sauce y Achuapa.

RESULTADOS ESTADISTICOS CON EPIDAT 3.1

Al investigar la seroprevalencia de leptospirosis canina a través de una prevalencia esperada de 35% y un nivel de confianza del 95%, se observó una prevalencia de 41% con IC₉₅ (33.5 – 47.7), calculando el valor de $p=0.11$ se concluye que no hay diferencia entre la prevalencia observada y la esperada.

6. DISCUSIÓN:

Trevejo et al. 1995, realizó un estudio de control de foco en la zona de El Sauce y Achuapa, cuando se produjo el brote en el que hubo más de 3000 personas hospitalizadas y 46 defunciones, éste incluyó además de las personas, a varias especies de animales domésticos entre ellos el perro, donde obtuvo una seroprevalencia de 44.6%. Los serovares aislados en perros fueron: *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. australis*, *L. ballum*, *L. bratislava*, *L. hardjobovis*, *L. pomona*, *L. pyrogenes*, *L. shermani* y *L. wolffi*.

En este estudio, Trevejo reporta en humanos el serovar *L. icterohaemorrhagiae* y además, de los casos confirmados positivos, un 54% de los pacientes fueron reactivos a *L. canicola*.

En un estudio que realizaron Rubel et al en 1997 Argentina, encontró una seroprevalencia de Leptospirosis canina de 57%, en perros de una zona suburbana. Los serovares aislados con mayor frecuencia fueron *L. canicola* y *L. pyrogenes*.

En México, Rivera et al 1999, encontró una seroprevalencia de 38.51%, los perros en este caso eran callejeros y de una zona urbana y los serovares encontradas: *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. castellanis* y *L. pyrogenes*.

En el año 2003, el CNDR-MINSA realizó otro estudio en El Sauce y Achuapa, en el que también incluyeron a varias especies domésticas, encontrando 16.4% de seropositividad en caninos y los serovares que se aislaron son: *L. canicola*, *L. lousiana*, *L. sarmin* y *L. manaho*.

De Sousa et al 2004, encontró una seroprevalencia de 20% en perros callejeros de una ciudad de Brasil, aislando los serovares *L. autumnales*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa* y *L. patoc*

Medina y Guerra, 2005, Venezuela, encontraron 65.9% de seroprevalencia en Leptospirosis canina, aislando los siguientes serovares: *L. autumnales*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa* y *L. patoc*.

Estudios realizados paralelamente al nuestro, han demostrado la presencia de *L. canicola* en otros animales domésticos: Vargas E. (2006) encontró que el 17.03% de sus equinos reactivos, lo eran a *L. canicola*; Urey y Castillo (2006) encontraron un 7% de cerdos también reactivos a *L. canicola*.

Los serovares: *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*, son comunes a los estudios de Trevejo, Rubel, Rivera, CNDR-MINSA (sólo *L. icterohaemorrhagiae*), Medina y Guerra y al nuestro. La diferencia en las seroprevalencias probablemente se deba a las variaciones climáticas y topográficas de cada región, diversidad de reservorio y diseño del estudio, por ejemplo: en el estudio de Trevejo sólo se tomaron muestras a 65 perros, el CNDR-MINSA sólo tomó 55 muestras, Medina y Guerra con una muestra de 44 animales.

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

7. CONCLUSIONES:

- La seroprevalencia encontrada en este estudio, de 41%, es mayor que la encontrada en el 2003 por el CNDR/MINSA (16.4%), en perros de la misma zona; pero es inferior a la que reportó Trevejo en el año 1995 (44.6%).
- Los serovares a los que reaccionaron, con mayor frecuencia, por medio del MAT cualitativo, en orden descendente, son: *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae* (M20) y *L. grippityphosa*.
- A través de un análisis estadístico (EPIDAT 3.1) comparamos la seroprevalencia esperada con seroprevalencia encontrada, y concluimos que no hay diferencia significativa.

8. RECOMENDACIONES:

- Realizar más estudios epidemiológicos cada año para tener datos sobre el comportamiento de la Leptospirosis en la región.
- Difundir información sobre la enfermedad para concienciar a la población sobre la gravedad de los síntomas, las pérdidas económicas y el rol de los caninos y demás animales domésticos y silvestres, en la transmisión de la Leptospirosis.
- Diseñar y ejecutar programas de vigilancia epidemiológica en todo el país, poniendo especial atención en las zonas vulnerables.
- Realizar estudios de caso y control para determinar si los perros actúan como transmisores de Leptospirosis a los humanos.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Adler, B and S. Faine, 1997. Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. *Infect. Immun.* 17:67-72.
2. Alonso-Andicoberry, C., García-Peña, F.J. y Ortega-Mora, L.M. 2001. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. (Revisión) Ciudad Universitarias/n, 28040-Madrid. Disponible en: cnia.inta.gov.ar/zoonosis/pdf%20Publ.y%20otr/Epidemiología,%20diagnóstico%20y%20control%20de%20la%20lep...
3. Beer, Joachim, 1981, Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Tomo II. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
4. Biberstein, Ernest L. y Zee, Yuan Chung, 1994. Tratado de Microbiología Veterinaria. Editorial Acribia S. A. Zaragoza, España.
5. Bohórquez Ríos, A. et al. 2002. Revista ACOVEZ, Colombia. Volumen 27 No. 1 Edición 90 - Junio de 2002. Disponible en: <http://encolombia.com/veterinaria/revacovez27102-leptospirosisi.htm>
6. Boza, Ricardo. 1999. Sobre la patogénesis de la Leptospirosis. Revista Costarricense de Ciencias Médicas. ISSN 0253-2948. v 20 n 1-2 Jun 1999. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0253-29481999000100011&script=sci_arttext
7. BRUNNER, R. et al; 2002, Vacunación de los animales domésticos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España.
8. Carlyle Jone, T., Hunt, Ronald D, and Kin, Norval W. 1997. *Veterinary Pathology*. 6^a edition. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Meryland USA.

9. Dasachy, Florence. 2006. Las Zoonosis. Editorial De Vecchi. Barcelona, Espana.
10. De Sousa, et al, 2004, Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. ISSN 1413-9596. Vol. 41, No2, Marzo/Abril 2004. Web:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962004000200009&lng=pt
11. Ettinger, Stephen J. y Feldman, Edgard C. 1997. Enfermedades del perro y el gato. Vol 1. Editorial Inter-médica, Buenos Aires Argentina, 1997.
12. 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.
13. Faine, S. et al. 1999. Leptospira and Leptospirosis, 2nd ed. Med. Sci. Melbourne, Australia.
14. Galli, M., R. Esposito, P. Crocchiolo, M. Chemotti, M. Gasparro and P.P. Dall'Aglio. 1995. Immune complex in leptospirosis infection 13:156.
15. García, A. 2004. Enfermedades Infecciosas: Leptospirosis canina. Visión general. Colombia. Disponible en:
www.dover.com.co/pdf/leptospirosis-canina.pdf
16. Greene, Craig. 1989. Enfermedades Infecciosas en perros y gatos. Intermédica.

17. 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.
18. Instituto Nacional de Estadística y Censo, III Censo Nacional Agropecuario, Cenagro 2001, León, volumen 6.
19. K. Sandow y W. Ramírez, LEPTOSPIROSIS, Revista Electrónica de Veterinaria (REDVET) Cuba, Vol. VI, N° 6, Junio 2005. Web:
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605.html>
20. Laguna Torres, V. 2000. Leptospirosis. Módulos Técnicos. Serie Documentos Monográficos N°2. Lima 2000. Web:
www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Módulo%20Técnico%202%20leptospirosis.PDF
21. Leipzig, Horst-Joachim. 1981. Clínica de las enfermedades del perro. Tomo II. Editorial Acribia – Zaragoza, España.
22. Levett, Paul N., 2001. Leptospirosis. American Society for Microbiology. Vol. 14, No. 2.
23. Marien, F., G. Baranton and P. Perolat. 1997. Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. Infect. Immun. 65: 729-738.
24. Marien, F., J. Truccolo, G. Baranton and P. Perolat. 2000. Identification of a 36-kDa fibronectin-binding protein expressed by a virulent variant of *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*. FEMS Microbiol. Lett 185: 17-22.

25. Marien, F., J. Truccolo, Y. Rougier, G. Baranton and P. Perolat. 1998. In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*. FEMS Microbiol. Lett. 169:95-102.
26. McDonough, P. L. 2001. Leptospirosis en caninos - estado actual. Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. Documento No. A0112.0701.ES.
Disponible en:
www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/mcdonough_es/ivis.pdf -
27. Medina, Z. y Guerra, M, 2005, Seroprevalencia de *Leptospira* spp. en perros callejeros de la parroquia Madre María de San José, municipio Girardot, estado Aragua. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias v.46 n.1 Maracay, Venezuela, ene. 2005.
http://www2.bvs.org.ve/scielo.php?pid=S0258-65762005000100001&script=sci_arttext&tlng=es
28. Montoya, A., CNDR/MINSA, Editorial, semana 42, del 17 al 23 de Octubre del 2004. Web:
<http://www.minsa.gob.ni/vigepi/html/boletin/2004/editorial42.html>
29. Pérez I. Enfermedades infecciosas y parasitarias de los animales domésticos. 2da ed. La Habana: Instituto Cubano del libro, 1986. p 109-11. Rosales OC. Circulación de patógenos en la granja. Porcira 1990; 160:31-4.
30. Programa de Zoonosis/MINSA, Situación epidemiológica de la Leptospirosis en Nicaragua. Semana epidemiológica N° 40, año 2003. Web:
<http://www.minsa.gob.ni/vigepi/html/boletin/2003/editorial40.html>

31. Ratnam, S., T. Sundararaj, S. Subramanian, N. Madanagopalan and V. Jayanthi. 1984. Humoral and cell-mediated immune responses to leptospiras in different human cases. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg* 78:539-542.
32. Reyes Cerros J. y Vallecillo R. 2004 Centro Nacional de Diagnostico y Referencia, MINSA, Área de Leptospiras.
33. Rivera Flores, A. et al, 1999, Seroprevalencia de Leptospirosis en perros callejeros del norte de la ciudad de México. *Revista Veterinaria México*, Vol. 30 Num. 1, Enero-Marzo 1999. Web:
34. Rubel, D. et al, 1992, *Leptospira interrogans* en una población canina del gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. *Revista Panamericana de Salud Pública*, Agosto 1997. Web:
<http://publications.paho.org/english/backissues/backissues.cfm?ProductID=214&CFID=1820730&CFTOKEN=2043#2e>
35. Rugman, F. P., G. Pinn, M. F. Palmer, M. Waite and C. R. Hay. 1991. Anticardiolipin antibodies in Leptospirosis. *J. Clin. Pathol.* 44: 517-519.
36. Thiermann, A.B. 1984. Leptospirosis: current developments and trends. *JAVMA* 184, 722-725.
www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Módulo%20Técnico%202%20leptospirosis.PDF
37. Tong, M. J., E. B. Resenberg, B. A. Votteri and C. C. Tsai. 1971. Immunological response in Leptospirosis. Report of three cases. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14:387-396.

38. Urey, Margarita y Castillo, Gladis, 2006. Tesis para optar al título de Licenciado en Medicina Veterinaria. Seroprevalencia de leptospirosis porcina y tipificación de los serovares circulantes, en Achuapa y El Sauce, departamento de León, Agosto - Octubre del 2006. UNAN-León, Nicaragua.

39. Vadillo Machota, Santiago, et al. 2002. Manual de Microbiología Veterinaria. Mc GRAW-HILL. INTERAMERICANA.

40. Vargas Espinoza, Darwin, 2006. Seroprevalencia de leptospirosis y tipificación de los serovares circulantes en equinos de El Sauce y Achuapa, Departamento León, 2006. UNAN-León, Nicaragua.

41. Viñas B., Luis, 1989. Manual de Diagnóstico Biopatológico canino. Editorial Continental, Barcelona, España.

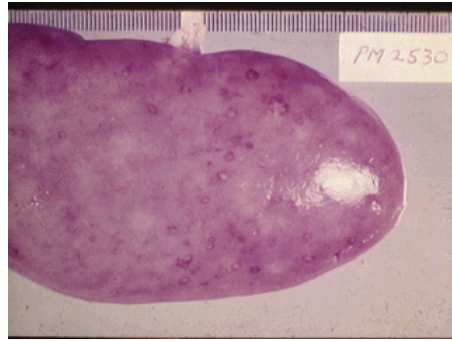
42. Yamashiro-Kanashiro, E. H., G. Benard, M. N. Sato, A. C. Seguro and A. J. S. Duarte. 1991. Cellular immune response analysis of patients with leptospirosis. Am J. Trop. Med. Hyg. 45:138-145.



ANEXOS

ALGUNOS SINTOMAS Y LESIONES

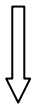
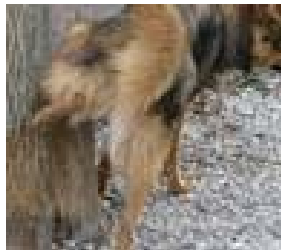




ANIMALES INFESTADOS

ANIMALES SUSCEPTIBLES

CONTAMINACION
de suelo, aguas y alimentos con orinas infestadas con *Leptospiras* sp.



MODELO ECOLOGICO DE LA TRANSMISION DE LA LEPTOSPIROSIS



Algunas aglutinaciones observadas

