

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA.
UNAN-LEON**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA.



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

Tema:

**SEROPREVALENCIA DE LA LEPTOSPIROSIS PORCINA Y
TIPIFICACIÓN DE LOS SEROVARES CIRCULANTES, EN ACHUAPA
Y SAUCE, DEPARTAMENTO DE LEÓN, AGOSTO - OCTUBRE 2006.**

Autoras:

Br. Gladys Lizeth Castillo Paguaga.

Br. Margarita Alejandra Urey Montoya.

Tutores:

Dra. Christiane Duttmann.

Dr. William Jirón.

Asesor:

Dr. Román Vallecillo.

Dr. Alberto Montoya.

León, Nicaragua Agosto del 2007.

RESUMEN.

La Leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial. En Nicaragua tiene gran relevancia a partir del año 1995 se dio el brote conocido como la fiebre de Achuapa. La leptospirosis afecta animales doméstico y silvestres que son el reservorio y fuente de infección para el humano. En la mayoría de las infecciones de leptospirosis porcina es subclínica. Actualmente no hay un estudio de prevalencia de la leptospirosis porcina, solo en humano. El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de leptospirosis porcina e identificar los serovares circulantes en los municipios de Achuapa y El Sauce del departamento de León en el periodo comprendido de agosto a octubre del año 2006. La presente investigación corresponde a un estudio epidemiológico descriptivo de corte transversal. Se seleccionaron 186 muestras en la población porcina, (Win Episcopy 2.0), para la detección de anticuerpos en el suero sanguíneo mediante la técnica del MAT (microaglutinación en tubos). El 38% (68/180) de las muestras fueron reactivas con títulos entre 1:100 y 1:3200. Además se reporta la presencia de anticuerpos anti *Leptospiras spp.* Los serovares: *L. Canicola*, *L. Grippityphosa*, *L. Hebdomadis*, *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Pomona*, *L. Pyrogenes*, *L. Samaranga*, *L. Louisiana* y *L. Bataviae*.

DEDICATORIA

A Dios por haberme regalado la vida, iluminarme en el camino de mis estudios y permitirme hasta donde he llegado.

A mis padres por haberme dado fortaleza, el apoyo moral, económico, espiritual y social.

A mi familia por que, me apoyaron de diferente manera hasta en cosas insignificante pero muy importante, en el transcurso de todos estos años.

En especial a la señora Matilde Diaz de Meléndez quien fue mi madrina y que a pesar de sus problemas de salud siempre estuvo pendiente de mi persona.

Las mascotas doverman (Escubi, Charli, Mayerlin, Shira, Tatu, Pricila, Boquer) por haber practicados en ellos durante mis estudios.

Gladys Lizeth Castillo Paguaga.

DEDICATORIA.

Dedico mi trabajo de investigación a Dios sobre todas las cosas, porque es nuestro creador, y nos dio sabiduría para realizar esta investigación.

A mi madre por brindarme su apoyo, comprensión y confianza.

A mis asesores Dr. Román Vallecillo y Dr. Agustín Maravilla por su ayuda brindada en el procesamiento de las muestra.

A MAGFOR, DANIDA, Minsa Central por se apoyo tanto económico como transporte y alojamiento.

Margarita Alejandra Urey Montoya.

AGRADECIMIENTO

Al señor Dios padre Hijo y Espíritu santo y a María inmaculada madre de Dios y de la iglesia por darme entendimiento en mis estudio, por ser tolerante con las demás personas, la salud, los padres y la familia que tengo, también por sin su ayuda no estuviera en donde estoy.

A mis padres, Gladis Paguaga y Carlos Castillo por tenerme paciencia, tolerancia, la persona que soy y sin su apoyo que ellos me han dado no hubiera culminado mis estudios.

A mis familiares por que de una o de otra manera me dieron su apoyo para terminar mis estudios y en especial le doy gracias a mí tía Guadalupe Baca Paguaga por estar siempre dispuesta a ayudarme en lo que ella pueda y ser paciente con migo.

A mis hermanas de Orden Franciscana Seglar por sus oraciones, la paciencia y la tolerancia que ellas han tenido con migo.

A mis amigos que siempre me apoyaron y confiaron en mi (Marcio Cortes, Alvin Noguera, Allan Aguilar, Margarita Urey y Evelick Meléndez).

A mis tutores Dra. Christiane Duttmann y Dr. William Jirón, y asesores Lic. Román Valecillo, Dr. Alberto Montoya y Lic. Agustín Maravilla por todo el apoyo que ellos me brindaron para realizar mi tesis, las enseñanzas que medieron.

A CNDR, MAGFOR y DANIDA por el apoyo que nos brindaron para poder realizar nuestro trabajo de investigación.

Gladys Lizeth Castillo Paguaga.

AGRADECIMIENTO

Doy gracias a Dios, porque ilumina nuestra mente y que gracias a su ayuda pudimos culminar nuestra investigación.

Agradezco a mi madre Francisca del Socorro Montoya, porque siempre me ha dado su apoyo y confianza para salir adelante.

A mis hermanos: Rosario, Jerónimo y Elizabeth. Por su apoyo incondicional.

A mis tutores Dra. Christiane Duttmann y Dr. William Jirón que con su ayuda, esmero y dedicación que hicieron posible la culminación de esta investigación.

A CNDR por el apoyo que nos brindaron para poder realizar nuestro trabajo de investigación.

A MAGFOR y DANIDA por la colaboración en la toma de muestra.

Margarita Alejandra Urey Montoya.

INDICE

Contenido	Pagina
1. Introducción	1
1.1. Planteamiento del problema	3
1.2. Antecedentes	4
1.3. Justificaciones	5
2. Objetivos	6
3. Marco teórico	7
3.1 Definición	7
3.2 ¿Qué es leptospirosis?	7
3.3 Sinonimias	7
3.4 Historia	8
3.5 Importancia Económica y Sanitaria	9
3.6 Clasificación Taxonómica y Especie de Leptospira	10
3.7 Etiología	12
3.7.1 Resistencia del agente Etiológico	13
3.8 Epidemiología	15
3.8.1 Distribución geográfica y prevalencia	15
3.8.2 Especie susceptible	17
3.8.3 Hospedador	17
3.8.4 Fuente de infección	19
3.8.5 Vías de Transmisión	20
3.9 Patogenia	21
3.10 Síntomas	22
3.11 Lesiones Anatomopatológicas	24
3.12 Diagnostico	25
3.13 Tratamiento	28
3.14 Control y Erradicación	28
4. Material y Métodos	30
4.1 Diseño Metodológico	30
4.2 Universo y Lugar del Estudio	30
4.3 Población de Estudio	30
4.4 Selección y Tamaño de la Muestra	30

4.5 Criterios Intrínsecos	31
4.6 Criterios Extrínsecos	31
4.7 Factores de Inclusión	31
4.8 Factores de Exclusión	31
4.9 Unida de Análisis y Toma de la Muestra	31
4.10 Materiales Utilizados	32
4.11 Técnica del MAT	33
5. Resultados	39
6. Discusión	42
7. Conclusiones	44
8. Recomendaciones	45
9. Bibliografía	46
10. Anexos	49

INDICE

Tablas	paginas
1. Especies de Leptospira	11
2. Reacciones Cruzadas	12
3. Títulos de serovares circulantes	41
4. Seroprevalencia porcina	49
5. Títulos de serovares circulantes	49
6. Cepario del CNDR	50
Gráficos	paginas
1. Seroprevalencia porcina	39
3. Serovares circulantes	40

1. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial. Fue conocida por primera vez en el humano a fines del siglo pasado en Alemania por Adolfo Weil. (Sandow y Ramírez). 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 la transmisión. (Palacio Concepción semana 40). En general, las leptospiras sobreviven mejor en suelos y aguas con pH neutro. Puede presentarse tanto en zonas rurales como urbanas y afecta a animales domésticos y silvestres de todas las edades, así como en las diferentes estaciones del año como consecuencia de las características del reservorio animal. (Palacio Concepción semana 42).

Se conocen 265 serovares de la bacteria *Leptospira*, animales y humanos; mientras que la especie saprofitas se encuentran por lo común en el agua y el suelo. (MINSA CNDR).

Las personas tienen el riesgo de enfermarse cuando tienen contacto con aguas, alimentos o suelos contaminados con la orina de animales infectados con leptospiras. Este microorganismo puede entrar en un individuo por contacto directo (heridas en la piel, tomar agua o ingerir alimentos contaminados, etc.) o indirecta al caminar descalzos en lugares donde orinaron animales infectados. (Palacio Concepción semana 42).

Después de penetrar la piel o las mucosas la leptospira hace una bacteriemia que inicialmente alcanza todas las partes del cuerpo, incluyendo el líquido cefalorraquídeo (LCR) y los ojos, y genera la producción de anticuerpos aglutinantes y el fenómeno de ozonización. Si esta respuesta no es suficiente para detener su progreso, la leptospira avanza en los tejidos. Ahí se multiplica en forma acelerada.

La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica, en Nicaragua tiene una gran relevancia, a partir de 1995 con el brote que se conoció como la fiebre de Achuapa. En el país la Leptospirosis se comporta como una enfermedad endémica, siendo observada en zonas urbanas, suburbanas y rurales. (Palacio Concepción semana 40). Los municipios de El Sauce y Achuapa, del departamento de León, son una zona endémica de la enfermedad.

1.1 PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la seroprevalencia de leptospirosis porcina y serovares circulantes en los municipios de El Sauce y Achuapa Departamento de León Agosto – Octubre del 2006?

1.2 ANTECEDENTES:

En octubre de 1995, en Achuapa, Nicaragua, se registraron 2000 casos y 40 defunciones en humanos que representaban una enfermedad febril hemorrágica; inicialmente se estableció un diagnóstico de dengue hemorrágico, pero las pruebas serológicas fueron negativas para esta enfermedad y posteriormente se confirmó el diagnóstico de Leptospirosis en los humanos. En el estudio realizado en Achuapa en Noviembre del 1995 y Abril del 1996, los investigadores de Cuba y Nicaragua Hernández D. et al. En el del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) encontraron en los porcinos los serogrupos: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. pomona*, obteniendo seroprevalencia de 44.6%.

Según el Dr. Cisnero M et al. (2001) la prevalencia de leptospirosis porcina en México, fue de 39.8% de animales seropositivos, encontrándose los serovares: Bratislava, Icterohaemorrhagiae cepa Palo Alto, portland vere cepa Sinaloa ACR, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Hardjo cepa H, Tarassovi, Panamá, Pomona y Hardjo, wolffi, shermani, Pyrogenes, Canicola, Hebdomadis. El propósito es determinar las serovariedades de *Leptospira interrogans* en un grupo de cerdos de diferentes granjas en México. Por la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco. (Cisnero)

En un estudio realizado por Ferraud D. et al. (2005) el estudio que se realizó fueron en dos granjas porcina en Cuba, se obtuvo una prevalencia de un 69.8% encontrándose los serovares *L. Tarassovi*, *L. Ballum*, *L. Pomona* y *L. Icterohaemorrhagiae*, en la primera granja y una prevalencia de un 68% con los serovares *L. Australis*, *L. Ballum* y *L. Pomona* en la segunda granja. Realizado en La Habana Cuba Universidad Agraria de la Habana, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. (Ferraud 2005)

1.3 JUSTIFICACIÓN:

Actualmente no existe un estudio realizado sobre la prevalencia de la leptospirosis porcina solo en humano. La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica, en Nicaragua tiene una gran relevancia, a partir del año 1995 en que se presentó el brote de lo que se conoció como la fiebre de Achuapa. (Palacio Concepción semana 40).

La leptospirosis afecta a numerosas especies animales, salvajes y domésticas, que son el reservorio y la fuente de infección para el humano. Los más afectados son: los roedores salvajes, perros, vacas, cerdos, caballos y ovejas. En ellos la infección es desde inaparente a severa y causa pérdidas económicas importantes.

Los animales infectados eliminan el germen con la orina, contaminando terrenos y aguas. Las leptospiras pueden permanecer durante largos períodos en sus túbulos renales, siendo excretados con la orina sin estar el animal enfermo. La mayor fuente de infección para el humano la constituye la exposición directa a orina de esos animales o el contacto con agua y/o suelo contaminados con tales orinas, ya sea a través de actividades ocupacionales o recreativas y por contacto con su mascota.

Este estudio es para conocer los serotipos que se encuentran presente en los cerdos, determinar la prevalencia de leptospirosis (El Sauce – Achuapa). Este servirá como herramienta básica para realizar otros estudios y elaborar un programa de vigilancia epidemiológica. Por que el cerdo actúa como hospedero de mantenimiento de las serovariedades de *Leptospira interrogans*, pertenecientes a los serogrupos Pomona, Australis y Tarassovi, así mismo, se le ha identificado como hospedero accidental de los serogrupos Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippityphosa y Sejroe.

2. OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar la seroprevalencia de leptospirosis porcina y serovares circulantes en los municipios de El Sauce y Achuapa (Departamento de León): agosto a octubre del 2006.

Objetivos Específicos

1. Identificar los reactores a leptospirosis en el ganado porcino en los municipios de Achuapa y El Sauce con MAT cualitativo.
2. Determinar los serovares circulantes de *leptospira* en el ganado porcino en los municipios de Achuapa y El Sauce con MAT cualitativo.
3. Determinar los títulos ante cada serovar por MAT cuantitativo.

3. MARCO TEORICO.

3.1. Definición:

La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, que es causada por espiroquetas del género *Leptospira*, que morfológicamente y fisiológicamente son iguales, pero en sus reacciones serológicas y su comportamiento epidemiológico son diferentes. Enfermedad infecciosa de cuadro polimórfico. (Feraud y Abeledo 2005).

3.2 ¿Qué es la leptopirosis?

La leptospirosis es una enfermedad febril aguda, que afecta al ganado, vacuno, porcino y equino. Así como a la especie canina e incluso puede afectar al humano. Como zoonosis es objeto de estudio y control por parte de las autoridades sanitarias, desarrollándose metodologías y técnicas para su diagnóstico acertado.

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica que representa un gran riesgo para la salud humana y en ciertos lugares del mundo genera grandes pérdidas en los sectores agropecuarios. Es una enfermedad reemergente de distribución mundial y con comportamiento endémico. La leptospirosis es una infección sistémica tanto en animales como el hombre, causada principalmente por varios serovares de *Leptospira interrogans*. (Almenteros 2004).

3.3 SINÓNIMIAS.

La Leptospirosis se conocen por otros nombres tales como: enfermedad de Weil (*L. Icterohaemorrhagiae*); Fiebre de los arrozales (*L. Bataviae*); enfermedad de los henequeneros; enfermedad de los porqueros (*L. Pomona*); enfermedad de los manipuladores de pescados, ictericia enzootica; 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. Autumnalis); 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, etc. Todas estas denominaciones han sido utilizadas para describir la enfermedad producida por leptospiras según sus características epidemiológicas, clínicas, territoriales, especies afectadas, estacionalidad, etc. (Sandow y Ramírez).

3.4. HISTORIA.

La leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa de amplia distribución mundial, clasificada como una antropozoonosis, su transmisión por lo general va de los animales al humano. Afecta a diferentes especies animales y al humano en forma accidental. Es causada por una espiroqueta patógena del género *Leptospira*, especie *interrogans*. (Alfaro 2004).

La leptospira se conoce desde 1886 en que fue reportada por primera vez por Adolfo Weil quien describió un síndrome íctero-hemorrágico acompañado de insuficiencia renal en Heidelberg entre trabajadores agrícolas alemanes. No obstante, un síndrome idéntico aparentemente fue descubierto varios años antes en trabajadores de alcantarillados. La sabiduría tardía o posterior consigna que la descripción de Leptospirosis icterica podría haber existido al principio del siglo XVIII, algunos años antes de la descripción de Weil. (Sandow y Ramirez).

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 y en 1916 aislaron por vez primera el agente, siendo nombrado spiroqueta icterohaemorrhagiae, y luego renombrado Leptospira en 1917. También en 1917, Noguchi aisló en ratas pero en Nueva York, EE.UU. y

se postuló su posible papel como transmisora de esta enfermedad al humano. (Sandow y Ramirez).

La etapa veterinaria se inicia a principios del siglo XX, con el reconocimiento en perros y el aislamiento del agente causal. Entre los años 1940 y 1950, la leptospirosis en los animales domésticos se estableció como la enfermedad de mayor significación en medicina veterinaria y en salud pública. (Sandow y Ramirez). Se descubrieron en el cerdo como fuente de contagio en Rusia, Australia y Suiza. Investigadores americanos relacionaron en los primeros años 50 las infecciones leptospiricas de la cerda con el aborto, aislando *L. pomona* de los fetos abortados. (Beer 2003).

3.5 Importancia Económica y Sanitaria.

La Leptospirosis considerada la epizootemia más difundida en el mundo, tiene tanto importancia económica como sanitaria. Es una enfermedad infecciosa que afecta a todas las especies animales, entre ellas al cerdo, ocasionando graves pérdidas económicas por su incidencia en el área reproductiva causando abortos, lechones nacidos muertos, lechones nacidos débiles y fallos reproductivos, siendo difícil su diagnóstico. (Morillo). A estas pérdidas, habría que añadir las originadas por desecho temprano y por aumento en la tasa de eliminación de animales por causas reproductivas. Se le añade un importante aspecto sanitario donde en el ser humano está considerada una infección accidental. Algunas prácticas laborales como los mineros, ganaderos, agricultores, deportistas acuáticos, trabajadores en mataderos, veterinarios etc. y ciertas actividades recreativas que implican contacto con aguas posiblemente contaminadas de *Leptospiras* pueden provocar enfermedad en ellos. (Sandow y Ramírez).

3.6 Clasificación Taxonómica y Especies de Leptospira.

Las Leptospiras pertenecen a familia Leptospiraceae, segunda familia del orden Spirochaetales. La familia Leptospiraceae está formada por dos generos, Leptospira y Leptonema En los últimos años y gracias a la utilización de nuevas herramientas y métodos de clasificación, se han reconocido varias especies del género Leptospira. (Sandow y Ramirez).

Los agentes causales de esta enfermedad son los microorganismos pertenecientes al género Leptospira, comprende siete especies L Interrogans, L. Noguchii, L. Weillii, L.Santorosai, L. Inadai, L. Borgpetersenii, L. alexanderi, L. meyeri, L. fainei y L. Kirschneries. Cada una de estas especies tiene un gran número de tipos serologicos denominados serovares lo cual constituye el Taxón básico. Las especies Leptospira se conocen 265 serovares, infecta a los animales y el humano; mientras que la especie saprofitas se encuentran por lo común en el agua y el suelo. (MINSA CNDR).

El Comité Internacional de Bacteriología de la Unión Internacional de Microbiología y el Subcomité de Taxonomía de Leptospira (WHO/FAO, 2001) determinaron que estas bacterias se encuentran ubicadas en:

Clasificación.

División: Procariontes

Clase: Schizomicete

Orden: Spirochaetales

Familia: Leptospiraceae

Género: Leptospira, Leptonema, Turneria y Otros.

Familia: Spirochaetaceae

Género: Cristispira, Spirochaeta, Brachyspira, Brevinema, Anguillita, Serpulina, Treponema, Borrelia. (Feraud 2005).

Tabla. 1. Especie Leptospira.

Patógenas	Saprophytas
L. interrogans	L. biflexa
L. borgpetersenii	L. wolbachii
L. noguchii	L. parva
L. santarosai	
L. alexanderi	
L. kirschneri	
L. meyeri	
L. fainei	
L. Weillii	
L. inadai	

*Poseen estatus patogénico no claro.

(Sandow y Ramirez)

Tabla.2. Reacción Cruzada Entre Algunos Serogrupos

CELLEDONI		PYROGENES
		CANICOLA
JAVANICA	SARMIN	ICTERHAEMORRHAGIE
PANAMA		AUTRALIS
SJASIMAN	LOUISIANA	AUTOMNALIS
SEJROE	MINI	HEBDOMADIS
POMONA		GRIPPOTYPHOSA
SHERMANI	TARASSOVI	BATAVIAE

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

3.7. ETIOLOGÍA.

El término "Leptospira" procede del griego leptos (fino) y spira (espiral). Las Leptospiras son espiroquetas aerobias obligadas, flexibles, muy finas, helicoidalmente enrolladas, y de gran movilidad, de 5 a 20µm de largo por 0,1 a 0,5µm de ancho, ambos extremos semicirculares de forma de gancho, aunque a veces uno de los dos extremos está doblado y el otro se mantiene recto o ambos rectos. Poseen un movimiento activo flexuoso de rotación, ondulatorio y translucidación que se produce en ausencia de flagelos externos y depende de dos flagelos piroplasmáticos, que están insertados en ambos extremos de la bacteria. Son agentes tan finos que pueden pasar filtros que retienen otras

bacterias (0,1- 0,45µm). Son microorganismos aerobios y quimioorganótrofos; utilizan como fuente de energía largas cadenas de alcoholes grasos, y no emplean hidratos de carbono ni aminoácidos como fuente de energía. (Vadillo). Las Leptospiras solo pueden ser visible por microscopía de campo oscuro o de contraste de fase, pero no por microscopía de luz de campo brillante. No se tiñan con facilidad con los colorantes de anilina aunque son gram negativo; mas pueden impregnarse por plata, por fluoresceína, peroxidasa conjugada más reactivos coloreados o por hibridación del ADN con reactivos coloreados biotina–avidit (DAB).

En medio de cultivo líquido, el movimiento de las Leptospiras es de rotación rápida sobre su eje longitudinal. En medios semisólidos, el movimiento es en serpiente y horadación y en medio sólidos reptan por la superficie. Estos agentes poseen actividad oxidasa, catalasa, peroxidasa y esterasa; en condiciones de laboratorio crecen en medio cultivos simples a un pH de 7,2 – 7,6 y una temperatura de 15 -18^o C. Utilizando los ácidos grasos de cadena larga. (Sandow y Ramírez).

3.7.1 Resistencia del agente Etiológico.

Las Leptospiras son microorganismos que sus supervivencias dependen ampliamente sobre variaciones del pH del suelo y las condiciones ambientales ya sea temperatura o humedad relativa. Particularmente, son muy sensibles a la desecación, luz solar directo, pH ácido y alcalino ya que un pH menor que 6 o mayor que 8 tiene carácter inhibitorio sobre el microorganismo. Una temperatura $\leq 13^{\circ} \text{C}$ o $\geq 35^{\circ} \text{C}$ provoca la muerte rápidamente. Además, existen distintas sustancias químicas de carácter leptospiricidas: 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 sensibles a la solución hipertónica de sal común (2,8%), bilis, putrefacción y a la mayoría de los antibióticos in vitro o in vivo como la penicilina, estreptomycin, aureomicina y los grupos macrólidos. Sensible también a una temperatura de menos 70^o C liquido N2.

Si la orina de por sí, tiene una reacción ácida las Leptospiras presentes en ellas, pronto sucumben. Esta probabilidad es la principal razón por la cual la orina humana no disemina la infección y la orina de ratas, mientras no sea diluida, no tiene mucho riesgo. Pero las leptospiras viven en orina débilmente básica como: del cerdo, vaca y equino durante diferente período, sin embargo, en orina ácida (carnívoros) mueren rápidamente.

Para la supervivencia en el medio ambiente necesita una humedad alta del suelo, una temperatura de 25° C, con agua de un pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de materia orgánica. En suelo con todas estas condiciones y saturado, pueden vivir hasta 183 días y suelo seco 30 minutos. En agua estéril pueden vivir hasta 3 meses o más, en aguas alcalinas en semanas, en lagunas varias semanas, en orina alcalina más de 16 días y en nitrógeno líquido 32 meses. También hay reportes de sobre vivencia en leche refrigerada por los menos 3 días y leche adulterada con agua puede sobrevivir hasta 60 días. En tejidos no contaminados y guardados a 4° C pueden sobrevivir a varias semanas, en sangre no coagulada y desfibrinada mantenida a temperatura ambiente (20–25° C) sobreviven durante semanas. En las congelaciones rápidas y a -70° C pueden mantenerse más de 5 años en cultivos, así como en sangre y tejidos contaminados. Se ha demostrado que las Leptospiras pueden sobrevivir: 9 días en músculo, 13 días en los riñones, 12 días en el hígado y 8 días en el bazo luego de la muerte del animal. La *L. pomona* y *L. canicola* superan los 10 días de supervivencia en orina de cerdo y aguas contaminadas, mientras en aguas naturales es superior a 20 días. (Sandow y Ramírez).

3.8 EPIDEMIOLOGÍA.

La Leptospirosis es considerada la zoonosis de gran distribución mundial. El estudio de la epidemiología es complejo debido al gran número de

factores que influyen en su presentación, lo cual dificulta la extrapolación entre las diferentes regiones geográficas y obliga el conocimiento individualizado de cada continente, país, región o zona. Las distintas cepas patógenas de *Leptospira* pueden afectar potencialmente a los mamíferos, donde algunos actuarán como hospederos de mantenimiento o accidental en función del serovar considerado. (Sandow y Ramírez).

La epizootiología de la leptospirosis porcina es muy complicada porque el cerdo puede ser infectado por cualquiera de los serovares patógenos que componen los diferentes serogrupos de la especie *interrogans*. Afortunadamente, estudios serológicos realizados por diferentes autores han demostrado que solamente un reducido grupo de serovares está presente en los brotes de leptospirosis porcina (Feraud 2005).

3.8.1 Distribución Geográfica y Prevalencia.

La Leptospirosis es una enfermedad cosmopolita. Teóricamente, cualquier mamífero puede infectarse por cualquier serovar; pero en realidad, solo algunos serovares pueden ser considerados como endémicos y/o enzoóticos en una región. A nivel internacional los países endémicos son: España, Barbados, Holanda, Francia, Russia, Perú, Argentina, Chile, Canadá, Eslovaquia, Escocia, Pakistán, Tailandia, Nigeria, Costa Rica, Alemania, Dinamarca, Italia, Cuba, Australia, Zaire, Yugoslavia, Irlanda del Norte, Bangla Desh, Gabon, Japón, Venezuela.

Epidemicos: Brasil, China, India, Puerto Rico y casos aislados Estados Unidos de las Américas. En este sentido, serovares como: pomona, icterohaemorrhagiae, canicola y grippotyphosa se consideran de distribución mundial. Pero van der Hoeden (1958) declaró que tanto la distribución como la incidencia de la enfermedad depende del tipo del suelo y su pH, la temperatura

y condición ambiental y de la capacidad de las aguas naturales de mantener a los microorganismos sin dañarlos. (Sandow y Ramirez).

En una encuesta realizada en 1997 por OPS en 11 países de la región (América Latina), (Brasil, Cuba, Ecuador, El Salvador, Honduras, México, Nicaragua, Paraguay, Panamá, Perú y Uruguay), Brasil representa el país que notificó el mayor número de casos, seguido de Cuba, Nicaragua y México. (OPS).

Prevalencia.

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

En el continente africano se han realizado varios estudios, de forma particular, Paparamborda, (2001) publicó una prevalencia 40 % en los cerdos. (Sandow y Ramirez).

En octubre de 1995, en Achuapa, Nicaragua, se registraron 2000 casos y 40 defunciones en humanos que representaban una enfermedad febril hemorrágica; inicialmente se estableció un diagnóstico de dengue hemorrágico, pero las pruebas serológicas fueron negativas para esta enfermedad y posteriormente se confirmó el diagnóstico de Leptospirosis. En el período posterior al huracán Mitch se registraron 523 casos sospechosos de Leptospirosis, con 7 personas muertas por esta causa, lo cual representa una tasa de letalidad de 1,3 % (Mitch, 1998).

3.8.2 Especies Susceptible.

Las especies de mayor importancia económica son: bovinos, equinos, cerdos, ovejas y cabras; también afecta en mayor o menor grado a otros animales domésticos y salvajes como: perros, gatos, venados, mofetas, mapiches, zurigüeyas, musarañas, nusos, canguros, mangostas, murciélagos, peces, reptiles, ranas, conejos,, zorros, erizos, chacales , nonatos, ratas y ratones, etc, y por último contribuye una zooantroponosis. (Sandow y Ramírez).

3.8.3 Hospedadores.

a) Hospedador de mantenimiento: Es aquel que asegura la perpetuación de una población determinada de parásitos sensus lato, sin la intervención de ningún hospedero accidental. Por lo tanto, la población de mantenimiento será aquella especie animal que actúa como un reservorio continuo de un serovar, en un ecosistema determinado. Una o varias especies de mamíferos domésticos o salvajes actúan de hospederos de mantenimiento de cada serovar o serogrupo de *Leptospira* patógena. La complejidad de la epidemiología de la Leptospirosis es basada sobre el gran número de especies de diversas familias de mamíferos (roedores, carnívoros, marsupiales, etc.), que tienen la capacidad de mantener una amplia variedad de serovares.

Los hospederos de mantenimiento se caracterizan por los siguientes elementos:

- Gran receptividad a la infección por el serovar frente al que mantiene como hospedaderos (dosis infectiva es menor).
- Relativa baja patogenicidad del microorganismo en el hospedero.
- Presencia 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.

La transmisión de la infección entre hospederos de mantenimiento se realiza independientemente de las condiciones climáticas y ambientales. Sin embargo, en el caso de la transmisión entre hospederos de mantenimiento y accidental o entre accidentales hace necesario la supervivencia del agente en el medio ambiente para poder efectuar la infección.

b) Hospedador accidental: Cualquier mamífero puede ser, potencialmente, hospedero accidental de las Leptospiras.

Las características de mayor importancia de un hospedero accidental durante la infección de leptospira son:

- La transmisión es intraespecie y esporádica
- Signos de forma aguda grave (hepatitis, crisis hemolítica).
- Duración de la leptospiruria es apenas semanas.
- Muestra para el diagnóstico es el animal enfermo.
- Bajo porcentaje de animales seropositivos. (Sandow y Ramírez).

3.8.4 Fuentes de Infección.

La principal fuente de contagio para el humano constituye, la orina de animales enfermos, reservorios naturales así como el contacto directo con estos animales. También las aguas contaminadas, leche cruda, descarga vaginal, feto de animales infectados y fetos abortos etc. Siendo considerada como enfermedad profesional, trabajadores de ferias de animales y de canal, arroceros, trabajadores de platanales y cortadores de caña de azúcar. Para los animales, constituye la orina de animales infectados, asintomáticos y portadores; también el agua, leche, forrajes, pastos, tejidos de animales, descargas posparto, saliva, semen, instrumentos quirúrgicos así como vectores siendo los roedores los más importantes por su condición de reservorio natural.

a) Agua: Para que ocurra la infección en el medio, las Leptospiras necesitan una supervivencia en este medio primero, la cual tiene una vinculación

tremenda con la humedad relativa alta y la temperatura a su punto óptimo en el lugar de aparición. La temperatura del agua tiene un efecto beneficioso, ya sea baja o alta. Las bajas disminuyen la multiplicación de los microorganismos, pero el tiempo de supervivencia aumenta y las altas temperaturas favorecen la multiplicación, pero con menos tiempo de supervivencia. Esto permite que las Leptospiras puedan sobrevivir y mantener sus capacidades infectantes en el agua durante 22 días y en el barro 5 – 6 días.

b) Orina: Muchas infecciones en última instancia se deben a la contaminación con la orina de los animales enfermos, portadores o reservorios; siendo el pH el factor determinante de la supervivencia de las Leptospiras en la orina. Ellas no pueden sobrevivir en pH ácido.

c) Tejido animal: El tiempo de supervivencia de las Leptospiras en los tejidos es dependiente del pH postmortem y el efecto antagónico que supone la contaminación con otras bacterias. Lo que avala la capacidad infectante de los tejidos del animal principalmente en los mataderos.

d) 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. (Sandow y Ramírez).

3.8.5 Vías de transmisión.

Las principales vías de transmisión se clasifican en: Directa e Indirecta.

a) Horizontal directa: Esta forma de transmisión es la más frecuente en los casos de serovares adoptados como:

➤ **Contacto directo:** Esta vía es la más estudiada además de tener diversas formas. La forma venérea fue tomada en consideración después que fue demostrada la presencia de *Leptospira* en el semen de un toro.

➤ **Núcleos goticulares:** Tienen importancia ya que las gotas de orina dispersan a varios metros del animal que orina, pudiendo penetrar las *Leptospiras* procedentes de animales con leptospirosis, tanto por inhalación como por vía conjuntival

b) Horizontal indirecto: Esta desempeña un papel fundamental en las infecciones accidentales ya que se produce tras la exposición al ambiente contaminado con material infectante.

➤ **Fomites:** El 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.

➤ **Vectores:** Diversos autores han evaluado la hipótesis de que los artrópodos podrían jugar un papel relevante en la transmisión mecánica del agente.

c) Vertical.

➤ **Transplacentaria:** El agente puede atravesar la placenta durante el período de leptospirosis, tal y como se ha demostrado tanto en el ganado bovino, el cerdo y en el ser humano. Un caso especial sería la posibilidad de la infección del feto en el momento del parto, si esto no ha ocurrido anteriormente durante la gestación.

➤ **Vía oral:** En humano, por la ingestión de alimentos contaminados con la orina de animales enfermos o de reservorios. Antes se consideraba como una

vía importante, pero hoy se le da poco valor como modo de transmisión. (Sandow y Ramírez).

3.9 PATOGENIA.

Las Leptospiras penetran en el organismo animal, mediante la ingestión de los alimentos contaminados o agua, o a través de las membranas mucosas de ojo, boca, fosas nasales, vagina y pene, o a través de la piel dañada o reblandecida por el agua, piel escoriada. El agente se difunde a partir del punto sin dejar lesión, invadiendo la torrente sanguíneo, multiplicándose en éste y en el parénquima hepático durante un período de incubación entre 2-30 días según sea el caso, circulando en la sangre provocando leptospiremia por al menos 7 días produciendo pirexia, eliminación de leptospiras en la leche, anorexia, daño funcional de algunos órganos (hígado, bazo o cerebro), especialmente en animales jóvenes (La aparición de anticuerpos específicos detectables aproximadamente a los 10 días de la infección junto a la acción leptospiricida de las beta-macroglobulinas del suero y la acción del complemento y la lisozima, hacen que desaparezcan las leptospiras en torrente sanguíneo) pero, se localizan en diferentes órganos, tales como: la cámara anterior del ojo, las meninges y el riñón donde los anticuerpos tienen poco acceso y en el útero grávido (esto hace que se produzca aborto). Las leptospiras se acantonan en el riñón, lugar de difícil accesos para los anticuerpos, la ubicación en los túbulos renales se ve facilitada por la producción de ureasa por parte de las Leptospiras. Posteriormente, se multiplican en la luz de los túbulos contorneados renales principalmente en las proximidades de la microvillosidades. El bovino puede tener una leptospiruria hasta 7 meses; equino de 2-3 meses, el cerdo hasta un año; perro hasta 6 meses o más. (Sandow y Ramírez).

3.10 SINTOMAS.

El período de incubación generalmente es de 2-30 días, que a veces es de 5-14, los síntomas son muy variables, dependiendo de la especie animal, el serovar infectante, la virulencia del germen y la inmunidad del hospedero. La mayoría de los casos es inaparente o subclínica. Presenta síntomas como: anorexia, perturbación del equilibrio, rara ictericia, hemoglobinuria, convulsión, trastornos gastrointestinales, parálisis progresiva, disminución del peso y producción láctea. (Sandow y Ramírez).

a) La forma aguda; En la forma aguda la infección puede ser inaparente o presentar reacciones febriles y anorexia durante 3 o 4 días o signos severos como: anorexia, trastornos gastrointestinales, meningitis, espasmos y trastornos nerviosos (marcha en círculos) y disminución marcada de peso, hay abortos, a finales de gestación o pueden presentarse neonatos débiles con ictericia y hemoglobinuria.

b) La forma crónica; es la de más connotación en esta especie por presentar: aborto, nacimiento de crías débiles, infertilidad casi siempre provocado por *L. pomona*.

Debido a la intensificación de las explotaciones porcinas se trata de formas subagudas o crónicas que dan lugar a:

- abortos con fetos sin lesiones
- nacidos muertos
- mortalidad neonatal elevada
- disminución del tamaño de la camada
- nacimiento de lechones que muestran retrasos en el crecimiento.

En lechones se observa un síndrome febril acompañado de meningoencefalitis. Los cerdos afectados están apagados, anoréxicos y pueden tener diarrea,

ictericia y hemoglobinuria, pudiendo haber alta mortalidad. Son raros los signos nerviosos. Puede encontrarse un ligero enrojecimiento de la piel en cerdos de cebo. En cerdas hay infertilidad y retornos al servicio en rebaños no inmunes. Hay un incremento de mortalidad en lechones recién nacidos y destetados. (Morillo 2007).

3.11 LESIONES ANATOPATOLÓGICAS:

Las lesiones que aparecen en la Leptospirosis no son patognomónicas, por lo que no puede basarse en ellas para el diagnóstico de la enfermedad. También las lesiones pocas observables depende del serovar implicado así como; los órganos y especie afectadas.

En la necropsia se observa acumulo de líquido serolo-gelatiliforo rojizo en el tejido subcutáneo, hígado hipertrófico y palidez hepática, o color amarillenta, vesícula biliar llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro, bazo de tamaño normal o ligero de color amarillento, lesiones muy variables desde lesiones blanco amarillento en la superficie o focos hemorrágicos en pulmón. (Sandow y Ramírez).

Las lesiones renales son el hallazgo más común. La lesión común es un foco blanco grisáceo de 1 a 3 mm. de diámetro en el córtex. Pueden estar rodeadas por un área congestiva. También puede haber petequias Los envoltorios fetales pueden estar edematosos o necrotizados.(Morillo 2007).

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 ictericas por toda la superficie, también hemorragia. La vejiga, llena de orina turbia o rosada, los ganglios tumefactos y las mucosas intestinales pueden estar inflamadas. También se puede encontrar ictericia, mastitis, fluido libre en cavidades corporales, lesiones petequiales dispersas, edema perirenal, nódulos linfáticos aumentados de tamaño, bilis de consistencia pastosa y color negrusco. (Sandow y Ramírez).

Meninges, la infección por leptospira se ha culpado en la etiología de la meningitis aséptica. Durante los primeros días se puede encontrar la leptospira en el LCR pero los signos meníngeos están ausentes, y se presentan en la segunda fase de la enfermedad cuando se han producido anticuerpos lo que significa irritación meníngea inmunológica 21,22. El LCR muestra una pleocitosis moderada de 50-200 células/ml y por rareza cifras más altas. Al principio puede haber predominio de segmentados, pero rápidamente pasa a células mononucleares. Las proteínas por lo general son menores de 120 mg/dl. La glucosa es normal pero puede estar disminuida.

3.12 DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico de los casos de Leptospirosis humana y animal puede ser complicado o difícil, debido, principalmente, a las características intrínsecas de las leptospiras y a la epidemiología de la pantema, es conveniente recabar información sobre una serie de datos que puedan orientar en el diagnóstico. Para ello, se debe combinar los siguientes: el diagnóstico epidemiológico, clínico y de laboratorio.

3.12.1 Diagnóstico Epidemiológico. Se debe tomar en cuenta los aspectos siguientes:

- Anamnesis (edad, sexo, especie animal, etc.)
- Antecedentes de la región en estudio (casos positivos de leptospiras)
- .Época del año en la que ha aparecido el brote, con especial atención a las climáticas: precipitación, temperatura, humedad relativa.

- Sintomatologías predominantes y características de los signos clínicos
- Presencia de otras especies domésticas ejemplo. ovejas, perros, cerdos etc.
- Control de animales silvestres portadores. (Sandow y Ramírez).

3.12.2 Diagnóstico Clínico. Tiene un carácter presuntivo y se realiza fundamentalmente a través de los signos y síntomas que presenten los animales.

3.12.3 Diagnóstico Indirecto (Bacteriológico).

Se puede sospechar de Leptospirosis porcina en base a los signos clínicos, patológicos y epidemiológicos, pero para realizar un diagnóstico definitivo se requiere de las pruebas de laboratorio, entre las principales:

Técnica Aglutinación Microscópica (MAT).

Para el diagnóstico serológico se ha utilizado la técnica de aglutinación microscópica (MAT). Es el método serológico de referencia a la hora de evaluar otras pruebas para el diagnóstico de Leptospirosis. Se emplea para detectar anticuerpos en sueros de sospechosos o enfermos (humanos y animales) donde el suero del paciente sospechoso o enfermo reacciona con antígenos vivos de leptospiras de 10 días de crecimiento en medio líquido de EMJH con enriquecimiento, y es el más utilizado cotidianamente. Además es la prueba oficial para la exportación e importación de animales. (Sandow y Ramírez).

Se puede considerar una prueba que ofrece una especificidad elevada, aunque tiene un inconveniente, como el hecho de ser específica de serotipo, lo que puede llegar a hacerla engorrosa, ya que se debe evaluar un elevado número de antígenos, dados los numerosos serotipos existentes y contemplados en este género. (Vadillo 2003).

Además del MAT se pueden realizar otras técnicas como: prueba de microaglutinación microscópica con antígeno muerto (MSAT), aglutinación macroscópica, prueba hemolítica, fijación de complemento, ensayo inmunoenzimático (ELISA) y PCR).

Prueba de Aglutinación Microscópica con Antígeno Muerto (MSAT): La aglutinación que se produce es semicuantitativa y puede leerse a simple vista. Esta reacción es menos específica que MAT, menor nivel de títulos obtenido, mayor reacción cruzada, los antígenos son estables a 4° C por lo menos un año, es especie específica y de la misma forma que MAT, no diferencia reacción entre anticuerpos de la infección reciente y tardía, pero tiene una buena reacción temprana de la enfermedad que MAT. (Sandow y Ramírez).

Fijación del Complemento (FC). Es una prueba género-específica que emplea como antígenos de *L. biflexa*, considera tan fiable como el MAT para la detección de animales con leptospirosis, pero, detecta infección reciente, es útil en el pesquaje de grandes cantidades de sueros ya que puede semiautomatizarse. (Sandow y Ramírez).

ELISA: Ella es capaz de detectar la IgM durante la primera semana de la enfermedad y la detección tardía de IgG que permite diferenciar infecciones recientes de pasadas. La detección de anticuerpos específicos IgM con una sola muestra es confirmatoria de una infección reciente por leptospiras. (Sandow y Ramírez). Aunque tiene algún inconveniente porque se puede producir reacciones cruzadas. (Sandow y Ramírez).

PCR: Actualmente está teniendo aceptación esta técnica, con la cual se pueden identificar leptospiras directamente a partir de muestras de orina o bien

aisladas previamente en medios de cultivos. Otra posibilidad diagnóstica es el empleo de sondas de ADN. (Vadillo 2003).

3.13 TRATAMIENTO.

El tratamiento clásico de las leptospirosis son las inyecciones parenterales con estreptomina a la dosis de 25 mg por Kg de peso vivo. (Morillo 2007)

Tetraciclina: 6,6 mg/kg./día/5días/IM

Oxytetraciclina: 800g/ tonelada de pienso de 8-11 días

Estreptomina: 40-50mg/kg./dic/4-6 días/IM

Oximidina: 20-30mg/kg./4-6días/IM. (Sandow y Ramírez).

3.14 Control y Erradicación.

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.

Las medidas higiénicas- sanitarias deben basarse en dos puntos esenciales: el control de hospedadores de mantenimiento silvestres y el control de hospedadores 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 de las medidas principales recomendadas por varios autores

son: ➤Educación y difusión a las poblaciones en especial las de alto riesgo sobre la forma de contagio y como evitar la enfermedad.

➤Higiene personal y del ambiente doméstico, se debe impedir el ingreso de animales al interior de los domicilios así como a los galpones de producción o almacenamiento de alimento se debe hacer hincapié en la higiene y desinfección en los locales de ordeño etc., con hipoclorito de sodio.

➤Buen drenaje o relleno de terrenos bajos o fácilmente inundables de residuos líquidos y agua pluviales.

➤Se debe prohibir tanto a la población humana como animal beber o bañarse en agua de ríos, charcos y lagunas posiblemente contaminados con el agente.

Aislamiento de los animales domésticos.

➤Tratamiento específico de personas y animales enfermos según los esquemas terapéuticos.

➤Realizar estudios epidemiológicos para tener noción sobre prevalencia de la enfermedad en la especie así como para saber que serogrupo o serovar está circulando. (Sandow y Ramírez).

Inmunización.

Tras la infección, inicialmente se produce una elevación de las IgM, que alcanzan niveles detectables a los pocos días de la desaparición del periodo febril que acontecen durante la fase de bacteriemia, es decir a los 2-5 días de la aparición de los signos de la enfermedad aguda. Los anticuerpos IgM dificultan la multiplicación de las leptospiras, pero no las destruyen, disminuyen poco después de la aparición de las IgM, comienzan a detectarse las IgG específicos, que producen la lisis de las leptospiras. Estos anticuerpos persisten durante años en el. Las IgM alcanzan su pico máximo a las 3- 4 semanas y las IgG a las 4- 12 semanas tras la infección. (Sandow y Ramírez).

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Diseño metodológico:

La presente investigación es un estudio descriptivo de corte transversal sobre la seroprevalencia de leptospirosis en el ganado porcino y serovares circulante en municipios de El Sauce y Achuapa del departamento de León.

4.2 Universo y lugar del estudio:

Este estudio se llevo acabo en las comunidades de El Sauce (Petaquillas, Valle Salares, El Salitre, Valle San Antonio, Hato Viejo, El Tempisque, Cinicera, Río Grande, La Pilas, Aguas Frío, Palma y Nascacole) y Achuapa (calera, el Barro, Wisquili, Caraos y Monte frío) (fuente con fecha III censo Nacional agropecuario Cenagro 2001). Selección de las comunidades fue por conveniencia; se escogieron las comunidades a donde se presentaron casos positivos de leptospirosis en humanos en 2006.

4.3 Población de estudio: Porcinos que pertenezcan a los municipios de El Sauce y Achuapa. En el Departamento de León la población porcina total es de 25528. El Sauce la población es de 695 y Achuapa es de 1918, estimando una población de 2500 animales del ganado porcino.(Cenagro)

4.4 Selección y tamaño de muestra:

El calculo de la muestra se determino con Win Episcopo 2.0 obteniendo una muestra 186 porcino, de una población porcina aproximadamente de 2500 animales. Con una prevalencia esperada de un 30%, nivel de confianza de 95% y un error aceptado de 6%.

Se les tomaran muestras a un cinco por ciento de los cerdos si el número será mayor de diez en las casas y fueron escogidos aleatoriamente y en el caso contrario a todos los que hay en cada casa.

4.5 Criterios intrínsecos: La mayoría de los cerdos que pertenecen a los Municipios de El Sauce y Achuapa son el 93% de raza criolla, un 7% de razas

como yorkshire y landrace. Se tomo muestra de cerdo desde un mes de nacido.

4.6 Criterios extrínsecos: En las comunidades la crianza de los cerdos es de traspatio, la cantidad de cerdos que tiene una persona es al menos 10 cerdos, así como solo puede obtener un cerdo, estos son criados en chiquero, las condiciones infraestructurales como sanitaria son deficiente, los que están suelto andan por todos lados incluso se mantienen en la cocina y en charco.

4.7 Factores de inclusión:

Porcinos mayores de un mes de comunidades con casos positivos de leptospirosis en humanos.

4.8 Factores de exclusión:

Animales de personas no de cuerdo con el estudio o que no quisieron que se les tomaran muestra a sus animales.

4.9 Unidad de análisis y Toma de la muestra:

Son las muestras de sangre que se extrajeron de los cerdos de los municipios de El Sauce y Achuapa del departamento de León. Se tomaron las muestras del animal en pie de las venas yugular de 3 – 5 ml de sangre. Con jeringas de 3 – 5ml con agujas de 21 ½. Luego se depositaron en un tubo de ensayo debidamente etiquetada, estas se transportaron a temperatura ambiente hasta DANIDA en El Sauce, donde se centrifugaron para la obtención del suero. Las muestras se mantuvieron en refrigeración y enviadas al laboratorio en termo con bastante hielo o termo refrigerante al CNDR para su posterior análisis.

4.10 Materiales utilizados:

1. Tubos de ensayos de 16x100 mm. con tapón de hule para la recolección de muestras de sangre.
2. Gradillas.
3. Gabachas desechables.
4. Guantes de látex.
5. Bolsas plásticas negras.
6. Jeringas estériles de 3 y 5 ml.
7. Agujas.
8. Marcadores.
9. Mecates.
10. Alcohol 70%.
11. Algodón.
12. Masking tape.
13. Tabla.
14. Libreta.
15. Lapicero
16. Cinta para rotular.
17. Jabón para lavarse las manos.
18. Termo con hielo o termo refrigerante.
19. Hoja de registro.
20. Gabacha blanca.
21. Centrifuga.
22. Cajas para puntas.
23. Piseta (alcohol, fenol, PBS, agua destilada).
24. Viales.
25. Elermeller.
26. Viquer.
27. Descartes (grandes y pequeños).
28. Probetas de 2000ml, 1000ml, 500ml y 100ml).
29. Palcas flexibles 96 pocillo, fondo en U sin tapa no estéril. Becton Dicranson.
30. Pipetas (5-50 μ , 0.5-10 μ , 50-200 μ , 100-1000 μ , 100-1000 μ). Biohit y Human.

31. Pipetas multicanal (50-300 μ , 400-2000 μ , 5-50 μ). Fisherbrand y Bonchmate.
32. Lápiz punta fina.
33. Papel de aluminio.
34. Papel absorbente.
35. Balanza electrónica.
36. PH chimetro.
37. Microcopio de campos oscuro.
38. Portaobjeto.
39. Bordetex.
40. Agua destilada.
41. PBS.

4.11 Técnica del MAT. Esta se realiza de forma cualitativa y cuantitativa. La cualitativa se realiza de la siguiente forma:

4.11.1 MAT cualitativo.

1. Rotular los tubos con el número de muestra que le corresponde y de igual manera se rotulan los tubos de ensayo que se diluirán los antígenos.
2. Diluir los sueros a estudiar 1:50. 1960 μ l de PBS y 40 μ l de suero completando 2ml y diluir los antígenos en 3ml de PBS 1 ml de antígeno.
3. Se marcan las placas flexibles de 96 pocillos, fondo en U sin tapa no estéril, con la numeración de muestra y de antígeno correspondiente.
4. Agregar 50 μ l de suero diluido en PBS en el número de pozo correspondiente de la muestra, esto se hace con todo el suero diluido, hasta que este lista la placa.
5. Agregar 50 μ l de antígeno en los pozos correspondiente a él, la primera línea de pozos se deposita 50 μ l de PBS y 50 μ l de antígeno correspondiente al pozo.
6. Incubar por 2 horas en una temperatura de 30 °C.
7. Agregar 10 μ l de la muestra que se encuentran en los pozos de la placa y se depositan en un porta objeto.

8. Observa en el microscopio de campo oscuro, se lee en el lente de 20x, si hay aglutinaciones o no.

4.11.2 MAT cuantitativo.

1. Rotular los tubos con el número de muestra que le corresponde y de igual manera se rotulan los tubos de ensayo 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. Rotula las placas con el número de muestra a un lado y al otro lado el número de antígeno que reaccionó en el cualitativo.
4. Agregar 50 μl de PBS en 1^{er} pocillo haciendo de izquierda a derecha.
5. Agregar 50 μl de suero diluido en, el 2^{do} y el 3^{er} pocillo.
6. Agregar 50 μl de PBS, en el 3^{er}, 4^{to}, 5^{to}, 6^{to} y 7^{mo} pocillo.
7. Realiza a partir del 3^{er} pocillo las diluciones con las puntas hasta que queden las diluciones a partir del 3^{er} pocillo 1/100, el 4^{to} 1/200, 5^{to} 1/400, el 6^{to} 1/400, 7^{to} 1/800, etc.
8. Agregar 50 μl de antígeno correspondiente en los pocillos.
9. Agregar 10 μl de la muestra que se encuentran en los pozos de la placa y se depositan en un porta objeto.
10. Observa en el microscopio de campo oscuro, se lee en el lente de 20x, si hay aglutinaciones o no. (CNDP).

Los antígenos que se utilizan se realizan pase cada 7 días pueden hacerse hasta cada 15 días pero lo óptimo son a los 7 días, los antígenos son inoculados en medios de cultivos EMJH.

4.11.3 El medio de cultivo EMJH (Ellinghausen, McCulleugh, Johnson y Harris).

Este medio debe prepararse mezclando 1 volumen de AFAS (Albumin Fatt y Acid Supplement) y 9 volumen de Medio Basal.

1. El agua destilada que se utilizará debe ser estéril (autoclave) para el AFAS, porque al filtrar el agua estéril la leptospira puede pasar por el filtro.

Requerimientos.

- 5 frascos estéril de 5litro.
- 1 frasco de 3litro.
- 1 cilindro de medida de 2litro.
- 1 cilindro de medida de 1litro.
- Pipetas pasteur.

Solución accionaría. La cantidad de solución accionaría para 20litro de medio EMJH.

Solución ácido graso albúmina- solución accionaría.

Preparación del medio. Disolver 200gramos de suero de bovino albúmina (BSA) en 1200ml de agua destilada estéril (frasco) removiendo suavemente con magnético (evitar espuma), dependiendo del lote de BSA puede tomarse varias horas.

Tomar toda solución accionaría necesaria del frizer.

Agregar: -30ml de cloruro de magnesio/cloruro de calcio, 20ml de sulfato de zinc., 2ml de de sulfato de cobre, 1gramo de sulfato ferroso, 0.8gramo de pirovatosodico, 20ml vitamina B₁₂, 20ml de glicerol ,250ml tween, Añadir 2litro de agua destilada. Ajustar el pH hasta 7.4 – 7.6 con NaOH (tenga cuidado al enjuagar el electrodo del pH) el uso de agua destilada estéril evitar leptospira en el agua (autoclave).

Medio basal.

Disolver en 2 litros de agua destilada (frasco de 5litro), 20gramos de NaHPO₄, 6gramos de KH₂PO₄, 20gramos de N a Cl.

Agregar: 20ml de cloruro de amonio, 20ml de vitamina B₁, 4 litro de agua destilada en un frasco aparte. Dividir los 4litros en 4 frascos de 5litros, cada frasco contiene 1litro de solución. Agregar otros 4litros de agua destilada en un frasco. Ajustar pH, en autoclave durante 30 minutos a 121 ° C.

Completando el medio.

Medio basal	9 parte =
18litros	
Albúmina suplemento de acido graso	1 parte =
2litros	
	Total =
20litros.	

Filtración.

La filtración ha realizado el throrug millipore o filtro del seitz, nosotros usamos los millipore se filtran al poseedor tipo 316, 142 mm, en la combinación con 20 litro que distribuye el vaso de presión. En la pantalla de apoyo nosotros pusimos 0.22 μ tipo aswp 14200 millipore (el lado vítreo del filtro) seguido por un tipo de gasa AP 3212400 y 0.45 μ m HAWP tipo 14200 filtro (Millipore). Los dos tipo de filtro AP 2512450 se le puso, donde después de que todos los filtros son los wetted con el agua destilada, y el sistema del filtro se esteriliza / la autoclave. La opción de filtros depende evidentemente del medio y cantidad para filtrarse.

Cuando el BSA se disuelve agregue las cantidades siguientes de las soluciones accionarías en este orden.

Thiamine 10ml

CaCl₂ 10ml

MgCl₂ 10ml

ZnSO₄ 10ml

MnSO₄ 1ml

FeSO₄ 100ml

Vitamina B₁₂ 10ml

Tween 80 90ml

Tween 40 35ml

Revuelva durante por lo menos 1 hora o hasta que este totalmente disuelto.

Ajuste el ph a 7.4 usando 10% NaOH y haga a 1 litro con agua.

El filtro esteriliza asépticamente a través de un 0.22µm filtro & distribuya 100ml cantidades en los tejidos cultura calidad frascos plásticos. Guarde a las 20° C hasta requerirse. Puede durar en el estante es 6 meses.

Medio basal.

Prepare las soluciones accionarias siguientes.

Glycerol 10ml se agrega a 90ml agua, el cloruro del amonio (NH₄ Cl) 25g en 100ml agua, 998ml de agua en un frasco 3 litro cónico agregue a lo siguiente, 10.g fosfato de sodio (NaH₂ PO₄), 3g el fosfato del monopotacio (KH₂PO₄), 1g de cloruro de sodio (NaCl), 1ml de glycerol y 1ml de cloruro de amonio.

Revuelva completamente hasta que este disuelto. Ajuste el ph a 7.4 con 10% NaOH. Quite 114ml para M1, 124ml para M2, 154ml para el moking 5-fu solución de la acción.

Agregue 1.5g BBL purificó el agar.

La autoclave a PSI para 20minuto, ponga baño de agua amaría hasta que logre la temperatura de 56° C.

Estos 29 serovares se utilizaran en las primeras muestras, después se decidió que solo se utilizarían 12 serovares entre los cuales tenemos: Canicola, Grippotyphosa, Herbdomadis, Icterohaemorrhagiae (RGA), Icterohaemorrhagiae (M20), Pomona, Pyrogenes, Sejroe, Samaranga, Icterohaemorrhagiae (wijnberg), Icterohaemorrhagiae (kantorrowies) Y Lousiana. Se tomo esta decisión por estas son las que se presentan mas en esta zona y afectan los animales, después. Estos serovares corresponden a la lista de cepas de referencia enviados por el INCIENCIA Costa Rica Vía Holanda. (R. A. Hartskeerl 2002)

5. RESULTADOS.

De las 180 muestras tomadas en los porcinos se encontraron que 68 animales son positivos a *Leptospira spp* y 112 animales resultaron negativas, la seroprevalencia de leptospirosis porcina de la zona es de un 38%.

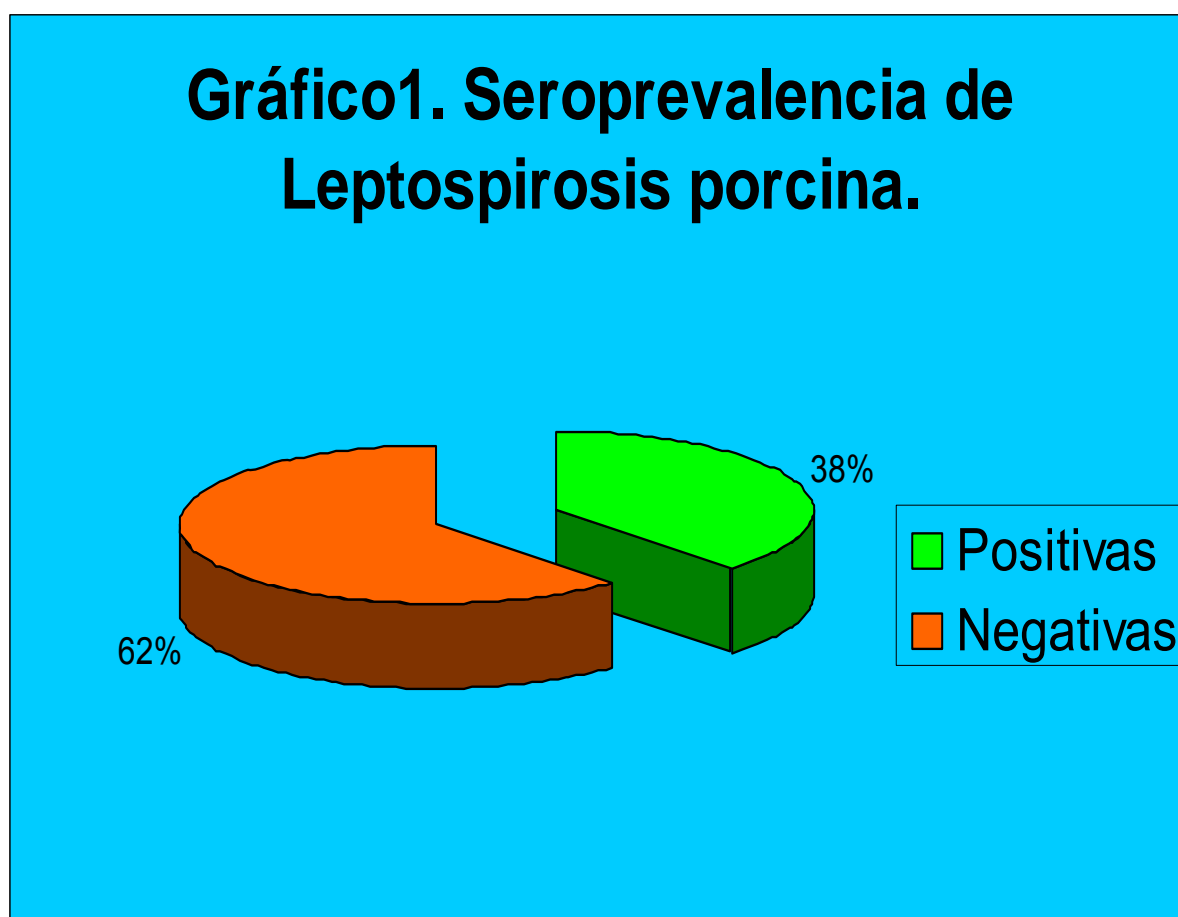


Grafico N° 1. Seroprevalencia de leptospirosis porcina en El Sauce y Achuapa obtenido por medio del MAT cualitativo.

De las 68 muestras de cerdos que resultaron positivas, reaccionaron a los serovares *L. hebdomadis*, *L. grippotyphosa*, *L. bataviae*, *L. pacto*, *L. canicola*,

L. pyrogenes, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae y L. lousiana, teniendo títulos en 1:100 a 1:3200, los tres últimos serovares fueron mas representativos.

Gráfica. 2
Serovares circulantes.

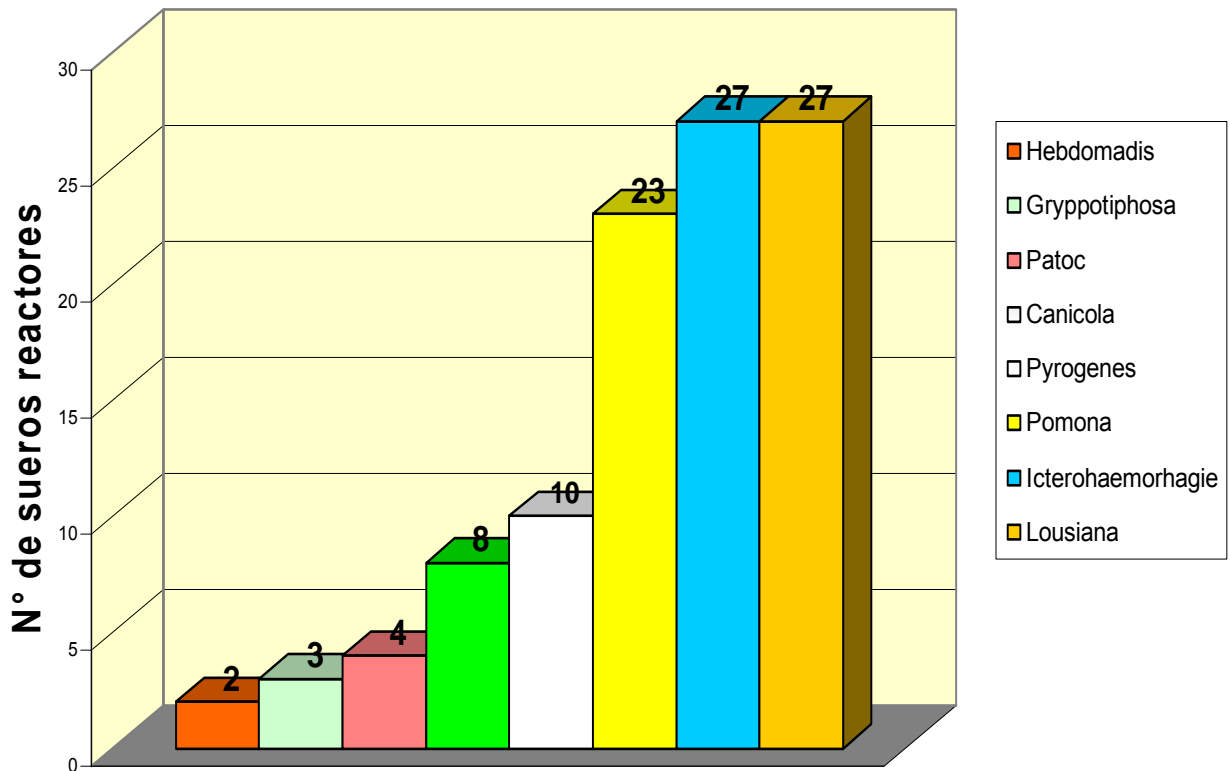


Grafico Nº 2. Serovares encontrados en los porcinos en los municipios de El Sauce y Achuapa a través de la técnica de MAT cualitativo.

De los 68 reactivos 22 cerdos presentaron 2 o más serovares, presentando títulos en diferentes rangos o diluciones; 1/100 (8), 1/200 (5), 1/400 (1), 1/800 (5), 1/1600 (2), 1/3200 (3).

Tabla. 3 Títulos de serovares circulantes.

Serovares	Diluciones					
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200
Icterohaemorrhagiae	23	2		1		1
Lousiana	19	6		1	1	
Pomona	13	2		3	3	2
Pyrogenes	7	2	1			
Canicola	6			3		
Grippotyphosa	4					1
Hebdomadis	2			1		
Patoc	2	1				

Tabla. 3 Títulos en que reaccionaron los serovares en MAT cuantitativo.

6. DISUSIÓN.

En el estudio realizado en Achuapa en Noviembre del 1995 y Abril del 1996, los investigadores de Cuba y Nicaragua Hernández D. et al. en el del Centro Nacional de Diagnostico y Referencia (CNDR) encontraron en los porcinos los serogrupos: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. pomona*, obteniendo seroprevalencia de 44.6%, mientras en el estudio realizado en el 2006 en el mismo lugar los serovares fueron *L. bataviae*, *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hebdomadis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. pyrogenes*, *L. patoc* y *L. lousiana*, obteniendo seroprevalencia de 38% que es inferior que en 1995/96 porque en este tiempo se realizó un control de foco y actualmente un estudio epidemiológico integral que demuestra la amplia variedad en los serovares en la especie porcina.

En México en 2001. Dr. Miguel Angel Cisnero Puebla et al. (Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco), se encontraron en los porcinos los serogrupos bratislava, icterohaemorrhagiae cepa Palo Alto, portland vere cepa Sinaloa ACR, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa , hardjo cepa H, tarassovi, Panamá, pomona y hardjo, wolffi, shermani, pyrogenes, canicola, hebdomadis, obteniendo una seroprevalencia 39.8. La diferencia que existe en este estudio con el nuestro puede deberse a las condiciones geográficas del lugar, factores ambientales condiciones climáticas de la zona en estudio, la interacción entre los animales y los seres humanos y los hospedadores de mantenimiento y accidentales son diferentes en cada región.

En Cuba en 2005, Ferraud D. et al. (Universidad Agraria de la Habana, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria) encontraron los serovares *L. tarassovi*, *L. ballum*, *L. Pomona*, *L. australis* y *L. icterohaemorrhagiae*, presentándose en nuestro estudio en común los serovares, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona* y la

diferencia de 31% en la seroprevalencia. Los obtenidos en el presente estudio determina que los serovares de mayor prevalencia fueron los serovares *L. pomona*, *L. lousiana* Y *L. icterohaemorrhagiae* a diferencia de los serovares encontrados Ferraud que fue el serovar *L. tarassovi*.

Hay que tomar en cuenta que el estudio realizado en Cuba 2005 y México 2001, la población de estudio fueron porcinos de granjas, mientras nuestro estudio la población fue de porcinos de crianza de traspatio.

7. CONCLUSIONES.

Aunque el estudio realizado no fue durante un foco de leptospirosis la seroprevalencia de 38% indica un alto porcentaje de animales que están y/o estuvieron en contacto con la bacteria confirmando la situación endémica de la región.

Este tipo de estudio nos permite identificar la aparición de nuevos serovares en la población porcina y el cambio de frecuencia de la aparición de los ya existentes.

Los serogrupos de leptospira detectados con mas frecuencia en las muestras de porcinos, mediante la prueba del MAT fueron: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. lousiana*, *L. pomona* y *L. pyrogenes*, siendo *L. lousiana* y *L. pyrogenes* serovares que no se presentaron en 1995/96 en la especie porcina.

4 animales resultaron con títulos altos de 1/3200.

8 animales presentan títulos altos ante el serovar *L. pomona*.

Los resultados obtenidos demuestran una seroprevalencia de leptospirosis porcina, que puede tener un fuerte impacto en la salud de la población humana de los municipios de Achuapa y El Sauce.

8. RECOMENDACIONES.

Realizar nuevos estudios que nos podría indicar la fuente de trasmisión rastreando los nuevos serovares apareciendo en la zona y tener noción sobre prevalencia de la enfermedad en la especies así como para saber que serogrupo o serovar esta circulando.

Educación y difusión de información adecuada sobre la forma de contagio y como evitar la enfermedad a las poblaciones; en especial las personas que están en alto riesgo de infectarse y dar a conocer la participación que tienen los porcinos en la transmisión de leptospirosis.

Higiene personal y del ambiente doméstico; se debe impedir el ingreso de animales al interior de los domicilios así como a los galpones de producción o almacenamiento de alimento.

Buen drenaje o relleno de terrenos bajos o fácilmente inúndales de residuos líquidos y agua pluviales y aislamiento de los animales domésticos infectados.

Establecer coordinación con las autoridades del MAG-FOR en su comunidad, para el control de los animales que estén ENFE

9. Bibliografía.

- Alfaro C. Y. Aranguren y A. Clavijo. 2004. Epidemiología y Diagnóstico de la Leptospirosis como Fundamentos para el Diseño de Estrategias de Control Revista Digital CENIAP HOY Número 6, septiembre-diciembre 2004. Maracay, Aragua, Venezuela. URL:

www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/alfaro_c/arti/alfaro_c.htm

- Almenteros Carlos, MVZ, Arrieta German, 2004. Seroprevalencia de leptospirosis porcina en el Departamento de Córdoba, Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Instituto de investigaciones Biológicas del Trópico, Montería (Córdoba).

- Beer Joachim. 1981. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos, editorial acribia Zaragoza España. Tomo: II, Capítulo: 58, Horsch F.

- Cisneros P. Miguel A., Moles C. Luís P., Gavadón R. Dolores, 1995 – 2000 Serología Diagnóstica de Leptospirosis porcina en México, Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias – Microbiología, México.

- Feraud T. Dania, Abeledo G. María A. 2005 .Primer reporte en Cuba de *Leptospira interrogans serovar Tarassovi* y caracterización clínica epizootológica en focos de Leptospirosis porcina, Universidad Agraria de la Habana. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana. Cuba.

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/dfero>

- Hernández D. e Investigadores Cubanos, Informe final del trabajo realizado de *Leptospira* de 28 de Noviembre de 1995 al 28 de Abril del 1996, CNDR (Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia) Nicaragua.

- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censo), III Censo Nacional Agropecuario, Cenagro 2001, León, volumen 6

- Leptospirosis OPS.

- Morillo Alujas Alberto, Almajano Hernández Jaime y Oliveros Use José Antonio, 2007. Leptospirosis: Caso clínico y revisión bibliográfica.

www.exopol.commail.

- Palacios Concepción, Complejo Nacional de Salud, Situación Epidemiológica de la Leptospirosis en Nicaragua, semana Epidemiológica N° 40, de Programa Nacional de Zoonosis.

- Programa Nacional de Zoonosis, Semana Epidemiológica N° 42 2003. Situación epidemiológica de leptospirosis en Nicaragua. Complejo Nacional de Salud Dra. Concepción Palacios.

- R. A. Hartskeerl, Dr. H. L. Smits, et al, 2002. International Course on Laboratory Methods for the diagnosis of leptospirosis, WHO/FAO Collaborating Centre for reference and Research on Leptospirosis.

- Sandoval Kujoti, Ramírez S Waldo, Centro de Estudios Prevención y Mitigación de Desastres, Facultad de Medicina Veterinaria de Granama, Cuba

- Straw Barbara E., D'Alaire Sylvie, Mengaelig William L. 2000, Enfermedades del Cerdo 8° edición Inter médica editorial, Buenos Aires, Republica de Argentina.

- Vadillo M Santiago ,2003. Manual de microbiología Veterinaria. McGRAW – HILL interamericana, Madrid España.

- Vallecillo Román, Montoya Alberto, 2006. Leptospirosis, Ministerio de Salud, Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia, Dra. Concepción Palacios.

- http://Documents_and_settings/Administradorpr/leptospirosis.htm. (programa zoonosis CNDR).

- <http://epi.minsal.cl/ep/html/enfr/leptospirosis.html.62k>.

- <http://epi.minsal.cl/epi/html/leptospira.htm>.

- <http://www.bvs.sld.cu/revistas/med/vol35-3-96/med09396.htm>

- <Http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd.35>

-<http://www.infecto.edu.uy/revisióntemas/tema25/leptospirosis.htm-36k.leptospirosis>

17-

<http://www.ops.org.ni/desastre/d.civil/1998/mitch/opsnic/leptospirosisnew.html>.

ANEXOS.

Tabla. 4 Porcentaje de reactividad según MAT. (Seroprevalencia).

Muestras	Animales	Porcentaje
Positivas	68	38
Negativas	112	62
Total	180	100

Tabla.5 Serovares circulante y títulos.

Serovares	Nº animales	Títulos	%
Hebdomadis	2		1.8
Grippotyphosa	3	1:100-1:3200	2.8
Bataviae	3		2.8
Patoc	4	1:100-1:800	3.7
Canicola	8	1:100-1:800	7.4
Pyrogenes	10	1:100-1:400	9.3
Pomona	23	1:100-1:3200	21.4
Icterohaemorrhagie	27	1:100-1:3200	25.2
Lousiana	27	1:100-1:1600	25.2

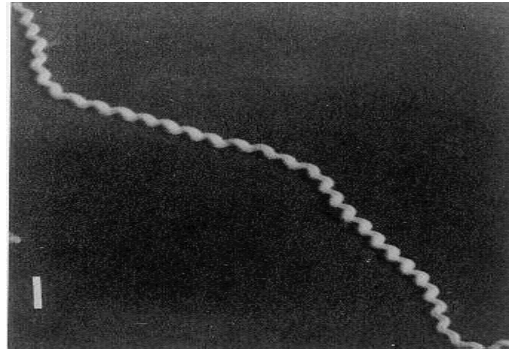
Serogrupo	Serovar	Stains
Australis	austramaliz	Ballico
Austramalis	asutralis	Automomnalis Akiyami
Ballum	Castellonis	Castellon 3
Bataviae	bataviae	Swart
Canicola	canicola	CND Utrech. IV
Cynopteri	cynopteri	3522 C
Grippotyphosa	grippotyphosa	MOSKVA V
Herbdomadis	hebdomadis	Hebdomadis
Icterohaemorrhagiae	icterohaemorrhagiae	RGA
Icterohaemorrhagia	cterohaemorrhagia	M20
Javanica	javanica	Veldrad Batavia 46
Panama	panama	C2 214
Pomona	pomona	Pomona
Pyrogenes	pyrogenes	Salinen
Sejroe	hardjo	Hardjoprajitmo
Sejroe	Sejroe	M 84
Sejroe	Wilfi	3705
Tarassovi	tarassovi	Perpelitsin
Samaranga	patoc	Patoc 1
Icterohaemorrhagiae	copenhani	Wijnberg
Icterohaemorrhagiae	icterohaemorrhagiae	
<u>Cepas de referencia de Cuba</u>		
Celledoni	celledoni	Celledoni
Shermani	shermani	Shermani
Djasamin	djasamin	Djasamin
Mini	mini	Sari
Lousiana	lousiana	LSU 1945
Ranaru	rear	ICF
Manhao	qingshui	L05
Sarmin	sarmin	Sarmin

Fotos de como son las Leptospira

Nombre a su forma de espiral

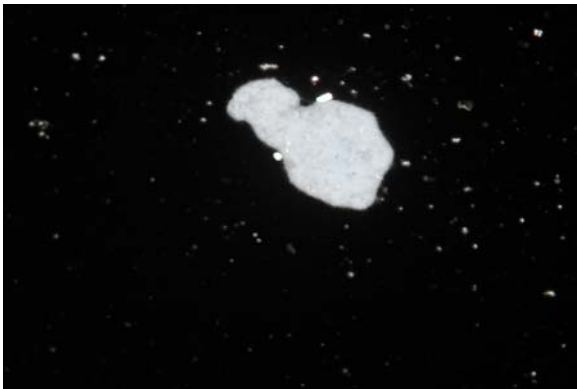


Leptospira interrogans



icterohaemorrhagiae.

Técnica del MAT



Aglutinación.

Aglutinación.

