

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua**

**UNAN-LEON**

**Facultad de Medicina Veterinaria.**



**Aislamiento y Seroprevalencia de *Leptospira spp* en  
bovinos del Municipio de Achuapa, Departamento de  
León, Julio a Octubre del 2009.**

Previo para optar al Título de Lic. en Medicina Veterinaria

**Tutor:**

- **MSc. José Luis Bonilla, DMV; MSC.**

**Elaborado por:**

**Br. Jorge Luis Quintana Lira**

León, 15 de Febrero del año 2013

## INDICE

<b><u>CONTENIDO</u></b>	<b><u>PAGINA</u></b>
<b>1. INTRODUCCION</b>	<b>4</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>6</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>8</b>
<b>JUSTIFICACION</b>	<b>9</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>10</b>
<b>MARCO TEORICO</b>	
<b>2. MARCO TEORICO</b>	<b>12</b>
<b>2.1 BACTERIOLOGIA</b>	<b>13</b>
<b>2.1.1 TAXONOMIA Y CLASIFICACION</b>	<b>13</b>
<b>2.1.2 CLASIFICACION TAXONOMICA</b>	<b>14</b>
<b>2.1.3 CLASIFICACION SEROLOGICA</b>	<b>14</b>
<b>2.1.4 ETIOLOGIA</b>	<b>17</b>
<b>2.1.5 RESISTENCIA DEL AGENTE ETIOLÓGICO</b>	<b>18</b>
<b>2.2 EPIDEMIOLOGIA</b>	<b>20</b>
<b>2.3 ESPECIES SUSCEPTIBLES</b>	<b>20</b>
<b>2.3.1 HOSPEDADORES DE MANTENIMIENTO</b>	<b>20</b>
<b>2.3.1 HOSPEDADORES ACCIDENTALES</b>	<b>22</b>
<b>2.4 FUENTES DE INFECCION</b>	<b>22</b>
<b>2.5 FACTORES ASOCIADOS A LA INFECCION</b>	<b>25</b>
<b>2.6 VIAS DE TRANSMISION</b>	<b>27</b>
<b>2.7 PATOGENIA</b>	<b>28</b>
<b>2.8 SINTOMATOLOGIA</b>	<b>30</b>
<b>2.9 LESIONES ANATOMOPATOLOGICAS</b>	<b>32</b>
<b>2.10 DIAGNOSTICO</b>	<b>33</b>
<b>2.10.1 DESVENTAJAS DEL MAT</b>	<b>35</b>
<b>2.10.2 VENTAJAS DEL MAT</b>	<b>35</b>
<b>2.10.3 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL</b>	<b>36</b>
<b>2.11 PROFILAXIS Y TRATAMIENTO</b>	<b>36</b>

2.11.1 PROFILAXIS	36
2.11.2 INMUNOPROFILAXIS	36
2.11.3 PROFILAXIS HIGIÉNICO-SANITARIO	38
2.12 TRATAMIENTO EN BOVINOS	39
2.13 DOSIFICACION	39
3. DISEÑO METODOLOGICO	41
3.1. Lugar de Estudio	41
3.2. Universo del estudio	41
3.3. Población de Estudio	41
3.4. Criterios intrínsecos	41
3.5. Criterios extrínsecos	41
3.6. Factores de inclusión	42
3.7. Factores de exclusión	42
3.8. Selección y recolección de la muestra	42
3.9 Unidad de análisis	43
4. MATERIALES UTILIZADOS	43
4.1 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL MAT	45
5. RESULTADO	47
6. DISCUCIONES	49
7. CONCLUSIONES	51
8. RECOMENDACIONES	52
ANEXOS	53
9. GLOSARIO	54
10. SINONIMIAS	55
11. FOTOGRAFIAS DE LEPTOSPIROSIS	56
12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA	62

## 1. INTRODUCCION

Nicaragua es un país endémico a leptospirosis, El departamento de León en los municipios de El Sauce y Achuapa se reportaron centenares de casos de una enfermedad febril hemorrágica en donde ocho pacientes murieron, las comunidades afectadas habían experimentado lluvias muy fuertes durante dos semanas, previo a que los casos fueron observados; aunque el dengue estaba ocurriendo en otras partes de Nicaragua al mismo tiempo, esta enfermedad fue excluida por pruebas de laboratorio y ausencia del vector (*Aedes aegypti*) en el área local.<sup>20</sup> Para finales de octubre los centros de control y prevención de enfermedades en los Estados Unidos habían confirmado que el dengue, otros arbovirus y los virus de fiebres hemorrágicas como causas de la problemática sanitaria de la zona, y habían identificado leptospira por inmunohistoquímica en tejidos de 4 de los pacientes que fueron casos fatales, a mediados de noviembre el MINSA reportó que 2,480 personas habían estado enfermas, de las cuales 750 fueron hospitalizadas y 16 fallecieron a causa de la enfermedad.<sup>20</sup>

Tres años después en ocasión del huracán Mitch, volvió a repetirse en Nicaragua y otros países vecinos la enfermedad de leptospirosis afectando a seres humanos y animales de distintas especies (equinos, caninos, bovinos, porcinos).<sup>20</sup> Esta enfermedad es causada por *Leptospira interrogans* que agrupa más de 240 serovares que son patógenos para los humanos y animales. En el ambiente también se encuentran otras especies que no causan enfermedad en los humanos, es *Leptospira biflexa* que agrupa más de 60 serovariedades.<sup>22</sup> Dentro de cepas patógenas, se dividen en sus diferencias antigénicas en serovares, siendo el serovar el taxón básico; los serovares relacionados antigénicamente se clasifican dentro de un mismo serogrupo,<sup>20</sup> frecuentemente las infecciones se producen por un número limitado de serovares endémicos de una región o país y su presencia está íntimamente ligada a factores ecológicos y medioambientales.<sup>20</sup>

La leptospirosis es una enfermedad de epidemiología compleja, en el ganado bovino puede cursar con diferentes cuadros clínicos, que pueden ir desde un cuadro

agudo, híper-agudo con fiebre, hematuria, meningitis e incluso mortalidad a un cuadro crónico cuya única sintomatología aparente es el fallo reproductivo<sup>20</sup>.

La leptospirosis produce pérdidas económicas de manera primaria por sus efectos sobre la reproducción, aparecen mortinatos, abortos y/o nacimientos de animales débiles e infertilidad; <sup>20</sup> Resulta difícil estimar las pérdidas, en gran parte por las dificultades inherentes al diagnóstico de la enfermedad.<sup>31</sup>

También puede ser considerada importante el "Síndrome de caída de la leche" o agalactia producida por estos microorganismos.<sup>32</sup> A esto habría que añadir las originadas por desecho temprano y por aumento en la tasa de eliminación de animales por causas reproductivas.

La Leptospirosis es una zoonosis<sup>6</sup> por los efectos sobre la producción animal, se le añade un importante aspecto sanitario donde en el ser humano está considerada una infección accidental.<sup>61</sup>

Las personas tienen el riesgo de adquirir la enfermedad por contacto directo con aguas, alimentos, suelos contaminados con la orina de animales infectados con leptospira o indirecto al caminar descalzos en lugares donde orinaron animales infectados (heridas en la piel), en algunas prácticas laborales como minería, trabajo en arrozales, agricultura y ganadería (veterinarios, ganaderos, trabajadores de mataderos), y en actividades recreativas que implican contacto con aguas posiblemente contaminadas (baños en medios naturales, deportes acuáticos, etc.), suponen los riesgos de contagio más importantes<sup>20</sup>

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, 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.<sup>6</sup>

## ANTECEDENTES.

La leptospirosis es una enfermedad infecto – contagiosa de carácter zoonótico, de distribución mundial, producida por cepas patógenas del género leptospira, incluida en las especies *L. interrogans* las cuales poseen las mismas características morfológicas y fisiológicamente uniforme, pero que serológica y epidemiológicamente son muy diversas. Ya por el año 1800 Larrey observó una enfermedad en el hombre caracterizada por fiebre, ictericia y hemorragias petequiales. Adolfo Weil en 1886 diferenció esta enfermedad de otras similares, la describió en ese entonces como un síndrome febril icterohemorrágico acompañado de insuficiencia renal por la nefritis estableciendo como una entidad separada la designada "ictericia infecciosa". En 1887 Goldschmidt fue el primero en usar el término "enfermedad de Weil".<sup>34</sup>

En 1898 se propagó en la especie canina epizooticamente en Alemania donde se llamó al principio "enfermedad de Stuttgart".<sup>35</sup> La primera leptospira patógena fue observada por Stimson en New Orleans en el Año 1907 en cortes de riñón de humano que se creía había muerto de fiebre amarilla, el organismo lo llamó *Espirochaeta interrogans*.

La causa de la enfermedad de Weil según comprobaron en 1914 Inada e Ido en Japón es un microorganismo al que llamaron *Leptospira icterohaemorrhagiae*.<sup>35</sup> esto lo reportaron Inada et al. En 1916 al afirmar haber observado espiroquetas en el tejido hepático de cobayos inoculados con sangre de humanos que padecían la enfermedad de Weil.<sup>34</sup> En 1917 Coyrmon y Durant vieron que los cachorros podían ser infectados con las espiroquetas que producían la ictericia típica humana. Ulenrhuth y Fromme en 1918 identificaron como leptospirosis la ictericia infecciosa del perro cuando demostraron que el proceso era originado por el mismo tipo de leptospira que el descrito por Inada e Ido en el hombre.<sup>36</sup> estos investigadores alemanes la llamaron *Spirochaeta icterogenes* y fueron los primeros en Europa en observar las leptospira a campo oscuro y por fijación y coloración de Giemsa y Levaditi.<sup>34</sup> En 1931 Klarenbeek y Schüffner admitieron que un considerable

porcentaje de leptospirosis caninas era producida por otra especie llamada *Leptospira canicola*, esta fue aislada por Mayer et al. en 1937 en San Francisco.<sup>35</sup>

Desde que Mikhin y Azhinov en 1935 comunicaron la presencia de la enfermedad en los bovinos se afirmaron las sospechas que el proceso se hallaba extendido por todo el mundo. Además se demostró que en otros mamíferos se producen enfermedades parecidas. Los trabajos de investigación en este sentido permitieron comprobar la existencia de diferentes tipos de leptospira, así como llegar al conocimiento de las características epidemiológicas de la leptospirosis de cada especie animal y del hombre.<sup>36</sup>

En Nicaragua, durante Octubre y Noviembre de 1995 se notificó un brote en los municipios de El Sauce y Achuapa. El Ministerio de Salud (MINSAL) inició una investigación epidemiológica y laboratorial en colaboración con el Centro para la Prevención y Control de las Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos. Este brote se asoció a contacto directo con agua y suelo contaminado con orina infectada en el período de invierno. Se realizó un estudio de caso y control donde recolectaron 199 muestras de animales domésticos, de las cuales 53 fueron de bovinos, dando 16/53 (30.2%) de las muestras títulos  $\geq 1:400$  o más serovares de leptospira. Los serovares que con mayor frecuencia se encontraron fueron ballum "S102" (8/53: 15.1%), canícola "Hond-Utrecht IV" (7/53: 13.2%) y wolffi (4/52: 7.5)<sup>24</sup>

En México se realizó un estudio retrospectivo de seroprevalencia para diagnóstico de leptospirosis bovina tomando en cuenta las regiones ecológicas y aportaron lo siguiente: en la **región árida y semiárida** la frecuencia fue 37,8% y las serovariedades de mayor prevalencia fueron cepa H-89 (hardjo) wolffi y tarassovi. **Trópico seco** con una frecuencia de 45.9% las serovariedades con mayor prevalencia fueron Wolffi y tarassovi. **Clima templado**, la frecuencia fue promedio de leptospirosis fue de 39.4% las serovariedades con mayor frecuencia fueron la cepa palo alto (*interohaenorrhagiae*) cepa Sinaloa ACR (*portland-vere*), Bratislava, pyrogenes, pomona, cepa H-89 (*hardjoprajitno*), hardjo, wolffi y tarassovi

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Se aislará *Leptospira spp* en bovinos de diferentes edades cercanos a casos de humanos positivos y cuál será la seroprevalencia las comarcas en estudio del Municipio de Achuapa, Departamento de León, en el período de julio a octubre del año 2009?



## JUSTIFICACIÓN

El interés del trabajo investigativo se debe a que leptospira es una enfermedad de carácter zoonótico y ha venido afectando la salud y la economía de los pobladores Nicaragüenses en las diferentes regiones y con mayor afectación en algunas zonas por sus características geográficas.

El estudio pretende identificar y aislar *Leptospira spp* en bovinos de diferentes edades alrededor de casos positivos presentados en humanos.

Desde su primer reconocimiento en el año 1995 en Nicaragua; el Municipio de Achuapa, del Departamento de León, se han venido presentado brotes pero en menor escala; en el 2007 se presentaron 48 casos positivos de leptospira en humanos y en el 2010 solo se presentaron 5 casos (Datos facilitados por El MINSA en el Informe comparativo de la situación epidemiológica en el Municipio de Achuapa 2007-2010), esto debido a la concientización de los pobladores, en referencia al origen de la enfermedad, causas, consecuencia, formas de prevenirla y de igual manera por la ayuda de los diferentes organismos e instituciones nacionales (MINSA, ALCALDIA, ONG, entre otras) y extranjeras (ONG), que apoyan de forma directa e indirectamente en la prevención de la enfermedad.

Se enfocó en la especie bovina, porque estas, son las que están en mayor contacto con la sociedad específica de la zona (zona ganadera y productora de Leche), y más en la comunidad de estudio en donde los brotes han venido presentando un historial reincidente. (Achuapa)

La importancia de que se realice este estudio desde el punto de vista de salud pública, medicina veterinaria y económica, es porque somos un país endémico a leptospirosis debido a las condiciones ambientales, geográficas y de vida de los habitantes de Achuapa

## OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

Detectar la presencia de *Leptospira spp* en bovinos alrededor de casos positivos reportados en humanos presentados en años anteriores hasta el 2009 en el Municipio de Achuapa de León

### **Objetivos específicos:**

- ❖ Aislar *Leptospira spp* a partir de muestras de orina de bovinos utilizando el medio EMJH
  
- ❖ Detectar seroreactores mediante la técnica del MAT en la población de estudio

## 1. MARCO TEÓRICO

Leptospirosis es una enfermedad relativamente común de los seres humanos, animales domésticos y salvajes; en el ganado se manifiesta por la nefritis intersticial, anemia, mastitis y el aborto en la mayoría de las especies, *Leptospira spp.* son los agentes causales.<sup>6</sup>

Esta enfermedad es una zoonosis cosmopolita que ha adquirido mucha importancia en los últimos años, ya que origina daños a la salud humana y la economía mundial.

Desde hace más de dos siglos que se conoce esta enfermedad, aproximadamente fue reportada por primera vez en el ser humano 1886-1888 por Adolfo Weil en Heidelberg quien la describió en ese entonces como un síndrome febril icterohemorrágico acompañado de insuficiencia renal por la nefritis y en los equinos fue descrita por vez primera en la Unión Soviética, pero los primeros en aislar el agente causal a partir de caballos con ictericia fueron Lubaschenko y Nowikowa en 1946.<sup>35-36</sup>

## 2.1 BACTERIOLOGÍA

### 2.1.1 TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN

En la edición del "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" 1984, se reconoce como único género dentro de la familia Leptospireaceae al género *Leptospira*; dentro del cual se incluyen tres especies: *Leptospira interrogans*, *Leptospira biflexa* y *Leptospira illini*, esta última considerada de 'estado taxonómica incierta' aislada de un buey en Illione, EE.UU.<sup>38</sup> En la última edición del "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" 1994, ya se recoge como género independiente el *Leptonema*, cuya especie tipo (y única especie del género) sería *Leptonema illini*. De esta forma, la familia Leptospireaceae está formada por dos géneros, *Leptospira* y *Leptonema*.<sup>37-38</sup> En los últimos años y gracias a la utilización de nuevas herramientas y métodos de clasificación, se han reconocido varias especies del género *Leptospira*.<sup>39</sup>

Las *Leptospira* pertenecen a familia Leptospiraceae, segunda familia del orden Spirochaetales.<sup>40-41</sup> 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 inada*; 6. *Leptospira borgpetersenii*; 7. *Leptospira kirschneries*. Y **saprophytas**: 1. *Leptospira biflexa*; 2. *Leptospira meyeri*; 3. *Leptospira parva*; 4. *Leptospira wolbachii*.

En cuanto a denominación de *leptospira* se refiere son bacterias Gram. (-) y por consiguiente son aerobios obligados, tipo ADN, con flexibilidad la que le permite mucho movimiento, helicoidales, no toleran la desecación ni la exposición de forma directa a los rayos solares, no resiste pH ácidos o muy alcalinos, tampoco temperaturas extremas por lo que para su cultivación y crecimiento se necesita tener las condiciones adecuadas y los nutrientes necesarios para que ella se pueda desarrollar con éxito.<sup>8</sup>

En la conferencia dictada por el Dr. Jorge Mazzonelli, experto del Centro Panamericano de Zoonosis de la OPS durante el tercer encuentro de leptospirosis animal y humana (1987) en Matanzas planteó sobre la parte de taxonomía que, la unidad taxonómica básica (taxón Básico) anteriormente llamado serotipo actualmente se le llama serovar, es una denominación intrasubespecífica, es decir, que es incorrecto referirse a *Leptospira pomona* porque se le asigna una categoría de especie a una sub.-específica, lo correcto es *Leptospira interrogans serovar pomona*. Mientras el serovar es el taxón base, el serogrupo es un ordenamiento que solo tiene fin didáctico, es decir que en la clasificación real no aparece, solo existe el serovar, agrupándose en los serogrupo, *leptospira* con similitud antigénica entre ellas.

## 2.1.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y ESPECIES DE LEPTOSPIRA.

Taxonomía de Leptospira	
<b>División</b>	Procariontes
<b>Clase</b>	Schizomicete
<b>Orden</b>	Spirochaetales
<b>Familia</b>	Leptospiraceae
<b>Género</b>	Leptospira; Leptonema; Turneria
<b>Especie</b>	Patógenas y Saprofitas
Otros	
<b>Familia</b>	Spirochaetaceae
<b>Género</b>	Cristispira; Spirochaeta; Brachyspira; Brevinema; Anguilina; Serpulina; Treponema; Borrelia

(TM. J. Reyes, TS. R. Vallecillo; 2004)

## 2.1.3 CLASIFICACIÓN SEROLÓGICA

Antes del año 1987, el género de leptospira se dividía en dos especies, *L. interrogans* que agrupa a todas las leptospira patógenas y las de vida parasitaria, la *L. biflexa* engloba a las saprofitas que han sido aisladas del medio ambiente.<sup>6</sup>

Como antígenos para esta prueba se utilizan los cultivos vivos de leptospira de diferentes serovares serológicos.

**Tabla 2 Clasificación Serológica**

SEROGRUPO	SEROVAR	STRAINS
1. Australis	Australis	Ballico
2. Austramaliz	Austramaliz	Automomnalis Akiyami A
3. Ballum	Castellonis	Castellon 3
4. Bataviae	Bataviae	Swart
5. Canicola	Canicola	Hond Utrech. IV
6. Cynopteri	Cynopteri	3522 C
7. Grippotyphosa	grippotyphosa	MOSKVAV
8. Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis

9. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	RGA
10. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	M20
11. <i>Javanica</i>	<i>javanica</i>	Veldrad Batavia 46
12. <b>Panamá</b>	<b>Panamá</b>	<b>C2214</b>
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>	M84
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>
<b><u>Cepas de referencia de Cuba</u></b>		
22. <i>Celledoni</i>	<i>celledoni</i>	<i>Celledoni</i>
23. <i>Shermani</i>	<i>shermani</i>	<i>Shermani</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. <b>Manhao</b>	<b>gingshui</b>	<b>L05</b>
29. <i>Sarmin</i>	<i>sarmin</i>	<i>Sarmin</i>

(Cepario del CNDR, MINSA; 2006).

Al no constar con estudios previos sobre los serogrupo frecuentes que circulan en la zona, se deberá trabajar con los 29 serogrupo.

Estas cepas serán de referencia con certificado acreditativo mantenidas por resiembra periódica cada 10-15 días.

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

Dentro de cada especie de leptospira se incluyen uno o más serovares que están diferenciado entre si por su composición antigénica, pero por razones prácticas, los serovares relacionados antigénicamente se clasifican bajo el mismo serogrupo, cabe destacar que también hay reacción cruzada entre algunos serogrupos<sup>32</sup>.

#### **2.1.4 ETIOLOGÍA**

Etimología: La palabra leptospira procede de dos voces griegas: lepto- estrecho o delgado; espira- espiral.<sup>42</sup>

Las leptospira son espiroquetas, la flexibilidad y movilidad que poseen es gracias a sus flagelo periplasmático en forma de anzuelo que se encuentran insertados en ambos extremos de la bacteria, estos anzuelos le permiten realizar un movimiento activo, de rotación sobre su eje, flexión, traslación, propulsión y ondulatorios activos<sup>17</sup>.

Las bacterias son helicoidalmente enrolladas, muy finas que incluso pueden pasar filtros que otras bacterias no son capaces de pasar, miden 10–20 micrómetro de largo y 0.1–0.5 micrómetro de ancho. Las leptospira solo pueden observarse a través de microscopia de campo oscuro o de contraste de fase, pero no puede ser observada por microscopia de campo brillante. No se tiñen con facilidad con los colorantes de anilina aunque son GRAM (-), pero si pueden impregnarse con plata, fluoresceína, peroxidasa más reactivos coloreados o por hibridación del ADN con biotina – avidin<sup>32</sup>.

Al observar las leptospira al microscopio de campo oscuro se nota que están construidas por una membrana externa o envoltura de lípidos, proteína y lipopolisacáridos; esta envoltura es muy importante en cuanto a antigénicidad se refiere, ya que rodea la pared celular de peptidoglucano, dos flagelos periplasmáticos (filamentos axiales), los que se sitúan entre la membrana externa y la pared celular se encuentran fijos en cada extremo de la bacteria, los extremos libres se extienden hacia la parte media y no se superponen, un cilindro protoplasmático de forma helicoidal con el contenido celular, material nuclear, ribosomas, mesosomas y cuerpos de inclusión celular. Los cuerpos basales flagelares se asemejan a los de las bacterias GRAM (-) a excepción de *L. illini* que posee una ubicación incierta por ser similar a las GRAM (+), también el cuerpo basal del flagelo periplasmático y un mechón de túbulos citoplasmático que se encuentran presentes en treponemas, pero no en borrelia<sup>32</sup>.

El agente causal de leptospira posee actividad a las enzimas oxidasa, catalasa, peroxidasa y esterasa; en condiciones de laboratorio crecen en medios de cultivos simples con pH de 7.2 – 7.6 y a temperatura de 15 – 18 °C también se utilizan los ácidos grasos de cadena larga como fuente de carbono y las sales de amonio para proporcionar aminoácidos que son metabolizados por  $\beta$  oxidación, además los medios se enriquecen con la agregación de vitaminas del tipo B<sub>2</sub> y B<sub>12</sub> las que estimulan el crecimiento de la bacteria. Las bacterias necesitan también fósforo y algunos iones metálicos durante los periodos de incubación que es entre 4 – 14 días, pero para determinados serovares este periodo puede ser superior a cuatro semanas. El piruvato puede estimular el inicio del crecimiento de algunos serovares con lo cual se puede acortar el periodo de incubación<sup>6</sup>.

Los medios de cultivos que se utilizan pueden ser de tres formas: líquidos, sólidos y semisólidos. En los medios de cultivo de tipo líquido el movimiento es de rotación rápida sobre su eje longitudinal; en los medios de cultivo semisólidos el movimiento es en serpentina y horadación, pero en medios sólidos solo reptan por la superficie<sup>32</sup>. Los medios sólidos se utilizan con menor frecuencia; en la mayoría de las veces los medios líquidos son utilizados para el mantenimiento de serovares utilizados en las pruebas serológicas y los medios de cultivo semisólidos son los que



resultan muy adecuados para el mantenimiento de serovares de referencia. Tanto los medios líquidos, como semisólidos son útiles para el aislamiento a partir de muestras sospechosas. Los medios para el cultivo de cepas se clasifican de acuerdo a los componentes que lo integran como son: con suero de conejo, con Tween y seroalbumina bovina, Ellinghausen-McCulleugh-Johnson-Harris EMJH y sin proteínas.<sup>6</sup>

### **2.1.5 RESISTENCIA DEL AGENTE ETIOLÓGICO**

Las leptospira son microorganismos unicelulares que para sobrevivir necesitan condiciones adecuadas del suelo en cuanto al pH y las condiciones ambientales (temperatura, humedad relativa), ya que estas bacterias son muy sensibles a la desecación, rayos solares directos, pH ácido y alcalino, porque al encontrarse con pH menor a 6 o mayor a 8 les inhibe su crecimiento y por tanto su desarrollo. Una temperatura menor a 13 °C o mayor a 35 °C causa la muerte de forma muy rápida, las sustancias químicas con las que podemos matar o inactivar a las leptospira son: fenol al 5%, alcohol al 70%, formol al 2%, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, sosa cáustica al 2%, en aproximadamente 5 minutos, solución de ácido sulfúrico al 0.05%, , en 5 minutos, también son muy sensibles a la solución hipertónica de sal común 2.8%, bilis, putrefacción, y a la mayoría de antibióticos in Vitro o in vivo tales como: penicilina, estreptomycin, aureomicina y al grupo de los macrólidos.<sup>35-36</sup> nitrógeno líquido a temperatura de menos 70 °C.<sup>43</sup>

Cabe destacar que las leptospira en la orina que tiene reacciones ácida mueren rápidamente, es por esta sencilla razón de que en la orina de los seres humanos no se disemina la infección mientras no sea diluida, pero no así en la orina débilmente básica como la de: suino, equinos y bovinos que eliminan durante periodos largo la bacteria, en la orina ácida muere rápidamente como es el caso de los carnívoros<sup>32</sup>.

Las leptospira para poder sobrevivir en el medio ambiente necesitan que este posea las siguientes condiciones: humedad alta, temperatura de 25 – 28 °C, pH neutro o ligeramente alcalino, presencia de materia orgánica, bajo estas condiciones

y con un suelo saturado las leptospira son capaces de sobrevivir hasta 183 días en suelo, en el caso de suelos secos solo sobreviven 30 minutos. En el agua estéril sobreviven hasta 3 meses o más, en aguas alcalinas 1–2 semanas, en la orina alcalina sobrevive 16 días o más, han sido reportado algunos casos de supervivencia de leptospira en leche refrigerada 3 días o menos, leche adulterada con agua hasta 60 días. En los tejidos no contaminados y guardados a 4 °C sobreviven 3-4 semanas, en sangre no coagulada y desfibrinada mantenida a 20–25 °C viven de 3–6 semanas. En medios de cultivos, sangre y tejidos contaminados que hayan sido congelados rápidamente a –70 °C se mantienen 5 años o más, también esta demostrado que las bacterias de leptospira son capaces de sobrevivir en músculo 13 días, 12 días en riñón y hígado, 8 días en el bazo tras la muerte del animal<sup>32</sup>.

## **2.2 EPIDEMIOLOGÍA**

A como sabemos que la leptospirosis es considerada la Zooantroponosis que posee distribución mundial, por lo que el estudio epidemiológico es muy complejo, ya que hay un sinnúmero de factores que influyen en la presentación de esta enfermedad por lo que se hace difícil el poder extrapolar entre diferentes regiones geográficas, por lo que nos hemos visto obligado a tener conocimiento de los factores ambientales, condiciones climáticas de la zona en estudio, interacción entre ser humano – animales – medio ambiente. Las distintas cepas patógenas pueden afectar a los mamíferos, pero algunos actuaran solo como hospedador de mantenimiento o accidental en función del serovar considerado.<sup>44</sup>

## **2.3 ESPECIES SUSCEPTIBLES**

Blenden (1976) y Oliva et al. (1984), plantean que la gama de especies susceptibles a la leptospirosis o portadoras de leptospira parecen interminables. Casi todas las especies que se ponen a prueba están infectadas dependiendo el nivel de infección del tipo de medio ambiente. El hombre la padece, pero por lo general no es reservorio.

Abdusalam (1976), plantea también que se han aislado leptospira huéspedes no mamíferos como pájaros, reptiles, peces y anfibios.

También se presenta en las especies de compañía como lo demuestra Cornide et al. (1985), en un estudio diagnóstico de la leptospirosis en caninos en la provincia de Guantánamo donde se investigaron 424 ejemplares enfrentados a 14 antígenos vivos presentando reacción positiva 120.

En sentido general, las especies de mayor importancia económica (bovinos, equinos, ovejas, cabras y cerdos) se afectan en menor o mayor grado.<sup>45</sup>

### **2.3.1 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 capaz de ser reservorio de varios serovares y diferentes especies animales pueden serlo de un mismo serovar.<sup>44</sup>

Según conceptúa Malajov y Alejin (1989), el reservorio (agente principal) de las leptospira patógenas en la naturaleza es la especie o conjunto de especies de mamíferos en los cuales existe en una determinada etapa de su evolución la parasitación con *L. Interrogans*; siendo los hospederos secundarios los que no desempeñan un papel sustancial en la conservación de las leptospira en la naturaleza.

Los reservorios sirven para mantener un foco de infección; los huéspedes accidentales (animales y hombres que se infectan y muchas veces se enferman con una leptospirosis corta) no son necesarios para mantener la continua existencia de leptospira aunque su papel de diseminador de una zona a otra no es despreciable.<sup>42</sup> Cuanto más densa población de reservorios es más posible la infección, a veces formando pequeños islotes de infección en pequeños hábitats. El promedio

de vida del reservorio es un factor que puede extender su papel o limitarlo, tanto más larga la vida del animal más oportunidad de infectar el medio ambiente.

Blanden (1976), establece una diferencia entre los términos huésped y reservorio, ambos de importancia vital en esta enfermedad. Un animal huésped es un animal infectado con determinado agente. Cuando la relación huésped-agente ofrece una salida a este último (orina en la leptospirosis) el huésped se convierte en reservorio. El reservorio, por lo tanto, es una entidad epidemiológica de gran importancia en el ciclo de transmisión de la infección.

La leptospirosis es una zoonosis cuya ocurrencia depende de los reservorios y factores ambientales. En Panamá se demostró que la población de bovinos se encontraba expuesta a la infección por leptospira, donde los serovares más frecuentes fueron: bataviae, wolffi, hardjo, autumnanis, Bratislava y shermani.

Las reservas de leptospira entre los roedores (*Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*) donde se lograron aislar 7 cepas de leptospira correspondientes a los serogrupo icterohaemorrhagiae, hebdomadis y canícula; realizándose las pruebas de patogenicidad correspondientes resultando dos cepas altamente patógenas.<sup>81</sup> Por todo esto se concluyó que en condiciones naturales los roedores son en la mayoría de los casos agentes de leptospira patógenas por lo que en Cuba es indispensable considerarlos como principal fuente de infección de esta enfermedad. Silva et al. (1982), investigaron la presencia de la leptospira en murciélagos de Cuba, investigando 564 ejemplares del orden Chiroptera, 59 sueros (26 %) reaccionaron positivamente ante 14 serogrupo de *L. interrogans* reportándose la circulación del agente causal de la leptospirosis entre los murciélagos de Cuba.

### **2.3.2 HOSPEDADORES ACCIDENTALES**

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

- La transmisión se da entre individuos de una misma especie y de forma esporádica.

- Los signos clínicos que se presentan son de forma aguda a grave (hepatitis, crisis hemolítica).
- Leptospirosis solo dura algunas 2- 3 semanas.
- Las muestras para un diagnóstico claro es el animal enfermo.
- Bajo porcentaje de animales seropositivos<sup>32</sup>.

## 2.4 FUENTES DE INFECCIÓN

La forma de contaminación a los seres humanos es por contacto directo con animales enfermos o de forma indirecta por contacto con orina de animales enfermos, también por ingesta de alimentos y aguas contaminada, leche cruda, descarga vaginal, fetos abortados. A las personas que se desempeñan como veterinarios, trabajadores de mataderos, médicos de inspección de carne, granjeros, trabajadores de control de roedores son las personas que están más expuestas a contraer la enfermedad o infestarse por la estrecha relación y convivencia con animales enfermos. Los seres humanos que 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<sup>17</sup>.

Los animales sanos son infestados por medio del contacto directo con animales enfermos. Otra fuente de contaminación, pero indirecta la constituyen la orina de animales enfermos, el agua, leche, forrajes, pastos, tejidos de animales, descargas posparto, saliva, semen, instrumentos quirúrgicos, así como vectores siendo los roedores (ratas y ratones), los más importantes por la condición de ser reservorios de esta enfermedad de forma natural<sup>32</sup>.

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

**AGUA:** Las leptospira son capaces de mantenerse en el medio siempre y cuando este posea las condiciones adecuadas de supervivencia, es por eso que debe haber entre el medio y estos microorganismos una buena vinculación, ya que al propiciarle una humedad relativamente alta y una temperatura a su punto optimo tendrán un efecto beneficioso para la bacteria, porque si la temperatura del agua es baja disminuirá la multiplicación, pero alargara el tiempo de supervivencia, en cambio si la temperatura es alta propicia la multiplicación y acorta el tiempo de supervivencia. Las leptospira son capaces de sobrevivir y mantener su capacidad infectante en el agua durante 22 días, es por estas razones de que los brotes son frecuentes en épocas lluviosas a como suponemos que es lo que ocurrió en 1995 en el Sauce y Achuapa, también cabe destacar que hubo una nueva reactivación en 1998 por el huracán Mitch. Estas bacterias no son capaces de sobrevivir en todas las aguas, sino que dependen del tipo de pH y la salinidad.

**ORINA:** 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 Leptospira en la orina.<sup>49</sup> Ellas no pueden sobrevivir en pH ácido, por eso, algunos autores plantean que la orina del hombre y la de los ratones y ratas no son fuentes de excelencia para la infección al no ser que sean diluida por agua.<sup>50</sup> La orina de los bovinos se considera como la de mayor excelencia para una fuente de infección ya que su orina es de pH alcalino lo que favorece la supervivencia del germen y en 1 ml de orina puede contener hasta 100 millones de microorganismos de Leptospira. Además, la orina de muchos animales presenta aglutininas y lisinas específicas, cuya presencia causan una disminución en el tiempo y del número de microorganismos.<sup>33</sup>

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

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

**DESCARGAS POSPARTO:** Ha quedado demostrado que las descargas pos-aborto se convierten en fuente de contaminación, ya que las leptospira son capaces de mantener su capacidad infectante 8 días después de haber pasado el proceso de post infección<sup>32</sup>.

**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 contamina mecánicamente, podría ser una forma más.<sup>46</sup>

## **2.5 FACTORES ASOCIADOS A LA INFECCIÓN SON:**

### **DEPENDIENTES DEL AGENTE ETIOLÓGICO**

**A) Resistencia a condiciones medioambientales:** la supervivencia del agente depende de la existencia de una humedad relativa alta, temperatura óptima entre 24-25 °C, pH neutro o ligeramente alcalino y presencia de materia orgánica.<sup>50</sup> Siendo estas condiciones indispensables para la existencia de la infección en una región geográfica. Por ello, las áreas con lagunas, riachuelos (bebederos en general) donde se congregan un gran número de animales, son las que más frecuentemente están implicadas en los focos de Leptospirosis.<sup>30-31</sup> En este sentido, existen diferencias entre serogrupo o serovares como pomona que es más capaz de sobrevivir mejor en zonas áridas que hardjo.<sup>47</sup>

Estos factores ambientales propicia la existencia de una cierta estacionalidad en la presencia de la enfermedad, siendo más frecuente en otoño en países

templados y en invierno en los países tropicales y subtropicales; épocas ambas de lluvias.<sup>48</sup>

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

## **DEPENDIENTE DEL HOSPEDADOR**

**A). EDAD:** Los estudios realizado por Ellis y Michna, (1976) revelaron un 40 % de seropositividad con anticuerpos leptospirales en terneros hasta un año de edad y 72 % en los adultos de hasta tres años de edad, donde ésta ha sido relacionada con el estado de portador renal en la última; mientras los animales pequeños se caracterizan por eliminar mayor cantidad de *Leptospira* en su orina. En bovino, la morbilidad se calcula hasta 75 % en los adultos y hasta 100 % en los terneros, donde en este último la letalidad es de 5 %.<sup>51</sup> En los seres humanos la presentación se frecuente en las edades entre 20-40 años,<sup>52</sup> otros pronostican entre 20- 49 años<sup>53</sup>. En humano la mayoría de los autores platean que entre 90-95 % de los casos de Leptospirosis corresponde a la forma anictérica<sup>53</sup> y de 5-10 % representa la forma icterica (Síndrome de Weil)<sup>54</sup>

**B). GESTACIÓN:** el aborto se produce en los últimos estadios de gestación entre el 6–9 mes, por lo que muchas veces se supone y se confunde con brucelosis, la infección parece producirse varias semanas antes, ya que el periodo de incubación en el caso de aborto suele ser largo, además que el aborto es casi siempre causado por serovares accidentales y se debe al un aumento en la temperatura de la hembra gestante.<sup>30</sup>

**C).ESTADO INMUNITARIO:** En sentido general, un animal expuesto previamente, es refractario a la reinfección de este mismo serovar aunque los niveles de anticuerpos en sangre hayan bajado.<sup>32</sup> También tiene relación



con el nivel de inmunoglobulina (*Ig A e Ig G*) ya que aumento de estos en la orina hace disminuir la cantidad de *Leptospira* que se elimina en ella.<sup>55</sup>

**D). FACTORES GENETICOS** algunas cepas de ratones parecen tener más resistencia a la infección siendo la letalidad baja en este grupo y la protección que se desarrolla es más duradera. También esta conclusión fue hecha en terneros de diferentes grupos donde algunos mostraron signos benignos transitorios mientras hubo letalidad en los otros.<sup>50</sup>

## **DEPENDIENTE DEL MEDIO**

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

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

**c).APTITUD Y MANEJO:** En la explotación ganadera, se plantea que por la separación temprana de los terneros de sus madres en la industria lechera hace que en estos animales la Leptospirosis sea más frecuente que en los de carne, una vez introducida en la explotación, convierten en alto factor de riesgo para ellos. Además el sistema intensivo que se practica favorece la transmisión entre ellos por el hacinamiento.<sup>48</sup>

## **2.6 VIAS DE TRANSMISION**

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

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

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

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

- A. Fómites: 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.<sup>49</sup> y el contacto con órganos de animales enfermos en el matadero.<sup>56</sup> Los pastos contaminados juegan un papel importante para la transmisión intra e Inter.-especie.<sup>57</sup>
- B. Vectores: Diversos autores han evaluado la hipótesis de que los artrópodos podrían jugar un papel relevante en la transmisión mecánica del agente.<sup>49</sup>

### **VERTICAL.**

- A. **Transplacentaria:** El agente puede atravesar la placenta durante el período de leptospiremia<sup>57</sup>, tal y como se ha demostrado tanto en el ganado bovino, el cerdo y en el ser humano.<sup>58</sup> 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.<sup>33</sup>
- B. **Galactófora:** Puesto que la infección por *L. hardjo* y *L. pomona* pueden producir una mastitis clínica, los microorganismos presentes en la glándula mamaria podrían ser excretada con la leche e infectar al ternero por vía oral.<sup>57</sup> En caso de ser humano, esta forma de transmisión es poco estudiado, pero sí hay informes al respecto.<sup>59</sup>

- C. **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.<sup>52</sup>

## 2.7 PATOGENÍA

Las *Leptospira* son muy invasivas debido a la producción de enzimas o a factores mecánicos, como la motilidad por excavación y a su tropismo orgánico. Ambas causas se han sugerido como mecanismos por los que éstas alcanzan sitios normalmente protegidos del organismo, como el líquido cefalorraquídeo (LCR) y el ojo. La capacidad lesional de estos gérmenes puede ser debida a factores tóxicos (hemosilina, fibrolisinas, lipasas) y endotoxinas (catalasa, hialuronidasa).<sup>60</sup>

Las *Leptospira* penetran en el organismo animal o humano, 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 (erosiones y magulladuras) o piel intacta, pero reblandecida por el agua, piel escoriada.<sup>61</sup> 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,<sup>63-31-32</sup> se caracteriza por fiebre, anorexia, disnea y postración es en este instante en que las leptospira alcanzan el torrente circulatorio es como logra llegar a los órganos internos: hígado, riñón, útero grávido, vagina, ovarios, oviductos, membranas fetales, glándula mamaria, en el macho los testículos, epidídimo y vesícula seminal donde ocurre daño tisular más o menos severo, pero está en dependencia del serovar involucrado. Debido a que llega a glándulas mamaria la eliminación de leptospira se puede dar por la leche y se puede presentar daño funcional de algunos órganos (hígado, bazo o cerebro)<sup>31-32</sup> especialmente en animales jóvenes.<sup>32</sup>

La aparición de anticuerpos específicos detectables aproximadamente a los 10 días de la infección<sup>32</sup> junto a la acción leptospiricida de las beta-macroglobulinas

del suero y la acción del complemento (fagocitosis) y la lisozima,<sup>63</sup> hacen que desaparezcan las leptospira en torrente sanguíneo<sup>32-49</sup> 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).

Los signos de la enfermedad aguda generalmente coinciden con la fase de leptospiremia,<sup>33</sup> donde estos pueden atribuirse a la existencia de determinados factores de patogenicidad bacteriana, como las hemosilina y las lipasas<sup>63</sup> siendo la primera causa de la anemia.<sup>63</sup> Estos factores son más frecuentes en determinados serovares como: *pomona* o *grippotyphosa*.<sup>63</sup> Más tarde, se le suma la acción de los anticuerpos situados en la superficie eritrocitaria que sensibilizan al eritrocito, causando su rotura-anemia.<sup>63</sup> Durante esta fase (leptospiremia) ocurre una reacción inflamatoria en la mama (mastitis). La hemólisis producida por la hemosilina y por el daño hepato-celular se le atribuye a las causas isquemias y toxicas –ictericia.<sup>63</sup>

Tras esta fase, las leptospira 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 Leptospira.<sup>65</sup> Posteriormente, se multiplicaran en la luz de los túbulos contorneados renales,<sup>49-63</sup> principalmente en las proximidades de la microvillocidades,<sup>63</sup> donde la nefritis está provocada por el daño capilar y la producción de determinadas endotoxinas y hemosilinas, que terminan por producir anoxia y nefrosis hemoglobinuria, por la posible isquemia debida a la agregación intravascular de hemoglobina que obstruiría los capilares y también por la presencia de mononucleares infiltrados por una reacción auto inmune,<sup>66</sup> lo que da lugar a la tercera fase (leptospiruria) que puede tener carácter continuo o intermitente y de duración variable según la especie afectada.<sup>67</sup> 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; roedores toda la vida.<sup>68</sup>

La localización de agentes patógenas en el hígado y humor acuoso complica el cuadro y el desenvolvimiento clínicos pudiendo sobrevenir la muerte por insuficiencia hepática o uremia. También el aborto es causa de la fiebre y la reacción sistémica general, por el paso de hemofilina y otras toxinas a través de la placenta destruyendo los eritrocitos fetales y los cambios degenerativos microscópicos en la placenta interfieren en el intercambio fisiológico entre la madre y el feto, pudiendo originar la muerte fetal.<sup>69</sup>

Siempre hay que tener en cuenta que, en algunos casos, la aparición del aborto es muy posterior al momento de la infección<sup>63</sup>

## **2.8 SINTOMATOLOGÍA**

El período de incubación generalmente es de 2-30 días, que a veces es de 5-14, los síntomas son muy variables (van Thiel, 1948), dependiendo de la especie animal, el serovar infectante, la virulencia del germen y la inmunidad del hospedero<sup>46</sup>

**En bovinos se presentan de la siguiente manera:**

**Frustrada:** Cursa con hemoglobinuria, sin ictericia y cura posteriormente.

**Sobreaguda:** Se caracteriza por la aparición repentina de fiebre alta, hemoglobinuria, ictericia,<sup>68</sup> disnea por congestión pulmonar,<sup>68</sup> anorexia, altos niveles de urea en sangre y de albúmina y bilirrubina en orina.<sup>49-68</sup> Generalmente, acaba con la muerte del animal en 3-5 días, siendo los terneros los más afectados; aunque en hembras preñadas provoca aborto por la pirexia y la desaparición prácticamente de la producción láctea (síndrome de la caída de la leche).<sup>49</sup> Los serovares que más causan esta forma son: *L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. autumnalis*, por lo que nunca se producen el portador crónica; por ser clasificado como serovares no adaptados.<sup>70</sup>

**Aguda:** Es frecuente en los terneros, casi siempre mortal. Presenta: anorexia, laxitud, fiebre, 40,5-41,5 °C. , posteriormente se presenta la hemoglobinuria, ictericia, septicemia, hemorragias petequiales en todas las membranas mucosas, anemia. <sup>13</sup> Al principio, se puede presentar diarrea, en algunos casos sanguinolentas y/o amarillentas y con olor fétido, pero más tarde puede haber estreñimiento. <sup>71</sup> Rara vez afecta a los adultos.

**Subaguda:** Lo mismo que la forma aguda pero de menos severidad, puede ser subclínica excepto en los animales gestantes y/o en lactación, en los que pueden aparecer abortos y síndrome de la caída de la leche<sup>49</sup> y a veces la leche parece el calostro, o contener coágulos de sangre y el recuento de sus células blancas son muy altos. A la palpación las ubres blandas y los cuatro cuartos afectados pueden parecer normales. También aparece ictericia o no, disminución de la rumia, fiebre (39-40,5 °C) y anorexia.<sup>33</sup> En algunos casos, también se ha observado meningitis y dermatitis necrótica.<sup>31</sup> El aborto puede ocurrir de 3-4 semanas después de la infección.

**Forma crónica:** Casi siempre está relacionado con *L. hardjo* y en algunos casos *L. pomona* sin manifestación clínica. <sup>72</sup> Caracterizada por la aparición de abortos, retención de placenta, mortinatos, nacimientos de animales débiles. <sup>49</sup> El aborto puede ocurrir en esta última etapa de la gestación entre 6-9 meses y el animal elimina el germen por la orina durante un largo período. <sup>73</sup> También el animal puede mostrar incoordinación, salivación y rigidez muscular.

## 2.9 LESIONES ANATOMOPATOLOGICAS

Las lesiones que aparecen en la Leptospirosis no son patognomónicas, por lo que no puede basarse en ellas para el diagnóstico de la enfermedad. <sup>74</sup>

Según el serovar de leptospira y el huésped afectado las lesiones pueden variar en intensidad y extensión.

Haciendo una descripción muy general plantearemos lo más característico: en la forma aguda son constantes la anemia, ictericia, hemoglobinuria, hemorragias submucosas y subserosas, necrosis de la piel; de los ollares, de la cavidad nasal y bucal.<sup>75</sup>

En la necropsia se observa acumulo de líquido serolo-gelatiliforo rojizo en el tejido subcutáneo, El hígado puede estar aumentado de tamaño y friable, con pequeñas áreas de necrosis focal y palidez hepática, o color amarillenta, vesícula biliar llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro,<sup>76</sup> bazo de tamaño normal o ligero de color amarillento,<sup>76</sup> lesiones muy variables desde lesiones blanco amarillento en la superficie. En los pulmones puede haber edema y enfisema y focos hemorrágicos,<sup>76</sup> el músculo cardíaco degenerado y en algunos puntos hay hemorragias. Los riñones muestran su lesión más significativa en forma de infartos rojos o blancos que causan un moteado de la corteza. En casos fulminantes se observan petequias en el epicardio y ganglios linfáticos.<sup>13</sup> En las nefritis intersticiales progresivas se caracterizan por zonas elevadas, blanquecinas y de pequeño tamaño en la corteza renal. Histopatológicamente se comprueba nefritis intersticial difusa o focal, necrosis hepática centrolobulillar y en algunos casos lesiones en meninges y cerebro. Pueden apreciarse las leptospira en cortes de riñón.<sup>72</sup> También se pueden encontrar edematosos de color rojizo o pardo oscuro con nefritis intersticial, lesiones necróticas e ictericas por toda la superficie, también hemorragia.<sup>76</sup> En los casos crónicos la corteza renal presenta gran cantidad de focos fibróticos blancos.<sup>84</sup> En la mucosa del abomaso pueden encontrarse úlceras y hemorragias. La vejiga, llena de orina turbia o rosada, los ganglios tumefactos y las mucosas intestinales pueden estar inflamadas.<sup>73</sup> En los fetos abortados se observan congestión generalizada y deposiciones líquida.<sup>33</sup>

## **2.10 DIAGNÓSTICO**

El diagnostico de esta enfermedad no es nada sencillo, a pesar de que existen en la actualidad una serie de pruebas laboratoriales disponibles. El diagnostico se vuelve difícil por las características intrínseca de las leptospira y a la

epidemiología. Las pautas a tomar para llevar a cabo un diagnóstico claro, bueno y preciso se deberá hacer tomando en cuenta la epidemiología, sintomatología clínica y el diagnóstico de laboratorio. Aunque en si el diagnóstico debería basarse en el aislamiento, cultivo e identificación de la bacteria, pero las exigencias de estos microorganismos tales como crecimiento lento y difícil no nos permiten aplicar estas técnicas diagnósticas por lo que se opta llevar a cabo estudios epidemiológicos como este donde el objetivo es la obtención de un resultado de Seroprevalencia y tipificación de serovares circulantes.

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

- ❖ Antecedentes de la región en estudio (casos positivos de leptospira).
- ❖ Factores climáticos (precipitación pluvial, temperatura, humedad relativa, desastres naturales).
- ❖ 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.<sup>82</sup>

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

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

- Técnicas indirectas que nos permiten detectar anticuerpos a leptospira: MAT; - Fijación del Complemento; ELISA; Hemoaglutinación Indirecta; PCR.
- Técnicas directas que están encaminadas a detectar leptospira o sus antígenos y ácidos nucleicos en las distintas muestras: Observación en microscopio de campo oscuros; Tinción Argénica; Técnica de tinción Inmunohistoquímica (Inmunofluorescencia, Inmunoperoxidasa, Marcado de partículas de oro); Técnica de detección y estudio de ácido nucleico, Aislamiento.



En caso de muestras procedentes de fetos, las técnicas directas están más indicadas que las indirectas, ya que el diagnóstico individual cobra mayor importancia. Para las muestras procedentes de animales adultos, las técnicas indirectas se utilizan más frecuentemente pues son más sencillas de realizar y su costo es menor.<sup>33</sup> Los animales vivos, se enviará sangre y leche en fase aguda de la enfermedad y orina en la crónica. De los fetos, los órganos de elección son: hígado, riñón, cerebro, glándula adrenal y pulmón, así como cualquier fluido interno.<sup>33</sup> Los animales muertos y sacrificados, las muestras que se deben enviar son: cerebro, médula espinal, LCR y ojo cuando hay síntomas nerviosos, y la mayoría de los órganos parenquimatosos en los casos que cursan con ictericia (hígado, riñón, bazo etc.)<sup>73</sup> y la vejiga y su contenido, humor acuoso, aborto y contenido estomacal.<sup>46</sup>

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

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

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

### **2.10.1 DESVENTAJAS DEL MAT**

- No distingue anticuerpos vacúnales de los de infección.
- Resulta difícil su estandarización porque su valoración es subjetiva.
- Requiere el mantenimiento de cultivos de leptospira.
- No siempre detecta a los animales infectados, en especial cuando el serovar implicado *L. hardjo* que presenta poca antigénicidad.

### **2.10.2 VENTAJAS DEL MAT**

- Sencilla de realizar.
- Poco costosa

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

Otras de las utilidades que tiene la técnica del MAT es que además de detectar anticuerpos antileptospira en el suero, identificar los aislamientos, clasificar las cepas y servir de base para evaluar otros métodos serológicos.<sup>30</sup>

### **2.10.3 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL**

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

En Bovinos se deben diferenciar con cuadros que cursan con: hemoglobulinuria, hematuria, hemólisis, aborto, Mamitis y disminución de la producción láctea como: Anaplasmosis, Babesiosis, Pasteurellosis, Brucelosis, Listeriosis, Vibriosis, Trichomoniasis, Toxoplasmosis, IHBB., intoxicación por cobre y "rapum", hemoglobulinuria posparto<sup>72</sup> y trastornos alimentarios.

## **2.11 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.<sup>50</sup>

### **2.11.1 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<sup>14</sup>

### **2.11.2 INMUNOPROFILAXIS**

Dentro de la inmunoprofilaxis se puede considerar tanto la vacunación como la inmunización pasiva con suero hiperinmune.<sup>49</sup>

La vacunación es una práctica muy extendida en muchos países,<sup>31</sup> para algunos autores, la mejor herramienta de control.<sup>33</sup> Sin embargo, presenta una serie de inconveniencias en *primer* lugar:

Las vacunas comerciales son bacterinas<sup>33</sup> y no proporcionan inmunidad cruzada entre serovares distintos y sola permiten una protección limitada frente a cepas distintas de un mismo serovar. Los serovares y las cepas varían entre países, por lo que la protección ofrecida por las vacunas elaboradas con cepas de otro país o región, en otras regiones puede ser poca eficaz.<sup>31</sup>

*En segundo lugar*, diversos estudios sobre las vacunas existentes, han demostrado que tanto monovalente, bi y hasta pentavalente, no evitan la infección, la migración al útero y oviducto ni la persistencia de la infección renal y por consiguiente, tampoco evitan la leptospiruria ni el nacimiento de algunas crías débiles y mortinatos.<sup>59</sup>

A pesar de estas limitaciones, la vacunación sigue siendo parte importante del sistema control en los rebaños.<sup>78</sup>

Little et al., (1992) demostraron que un programa de vacunación de todo un rebaño (bovino) durante cinco años, es posible el control de las infecciones por *L. hardjo* y su eliminación del rebaño. También, se considera que el calendario de vacunación debe ser al principio del período seco y en el parto, puede disminuir las pérdidas económicas por abortos.<sup>78</sup>

Primo vacunación: se vacunan todos los animales del rebaño, machos, hembras y terneros. Segunda dosis a los 21 días de la primero. Revacunación en forma anual o semestral de acuerdo al productor.

Machos: vacunar antes de entrar al servicio para proteger al rodeo.

Hembras: vacunar antes del servicio y previo al parto.

Terneros: vacunar a los 2 meses de edad y luego revacunar en dependencia del productor.<sup>6</sup>

La otra variante es la vacunación total del rebaño y luego tratar con dihidroestreptomocina 2 mg/kg. a todas las vacas preñadas.<sup>79</sup>

### 2.11.3 PROFILAXIS HIGIÉNICO-SANITARIO

La profilaxis higiénico-sanitario 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.<sup>33</sup> Las medidas higiénicas- sanitarias deben basarse en dos puntos esenciales: el control de hospedadores de mantenimiento silvestres y el control de hospedadores domésticos.<sup>33</sup> 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.<sup>80</sup>

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.
- Protección individual de los trabajadores como: ganaderos, trabajadores de alcantarillados, obreros agrícolas veterinarios, arrozales, cañeros etc. mediante el uso de calzado y vestimentas apropiadas (botas, delantales guantes, antiparras, tapaboca) según la tarea que se desempeñen.
- 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.
- Disposición, colecta y eliminación de los residuos (recipientes apropiados, colecta permanente y coordinada con la población, relleno sanitario correcto y en condiciones).
- Control ecológico de la población animal salvaje.

- Aislamiento de los animales domésticos.
- Tratamiento específico de personas y animales enfermos según los esquemas terapéuticos.
- Drenaje, canalización de cursos o espejos de agua que tienden a provocar inundaciones o que representen posible focos de esta enfermedad.
- Realizar estudios epidemiológicos para tener noción sobre prevalencia de la enfermedad en la especie así como para saber que serogrupo o serovar esta circulando.
- Desratización general de la explotación y construcción de edificio ‘ a prueba de roedores’.
- Reducir el pastoreo conjunto con otras especies domésticas y con otros rebaños.
- Mantener una política de ciclo cerrado y en su defecto someter a la cuarentena estricta a los animales de reposición que entran nuevos en la explotación.
- No separar las crías de las madres después de parto (bovino).
- Evitar el uso de machos enfermos para la monta directa.
- Las mascotas deben vacunarse anualmente.
- Realizar informe anual sobre la situación de la enfermedad en el territorio.<sup>6</sup>

## **2.12 TRATAMIENTO EN BOVINOS**

El objetivo primordial para el tratamiento contra la infección por Leptospirosis, es controlar la infección antes del daño irreparable que puede ocurrir en el hígado y riñón. Prácticamente todos los antimicrobianos tienen efecto sobre la infección por leptospira, excepto de las sulfonamidas y el cloranfenicol en animales.<sup>50</sup> Los antibióticos más recomendados son: dihidroestreptomicina, penicilina, estreptomicina, oxitetraciclina, tetraciclina, etc.<sup>49</sup>

Además de los antibióticos, en dependencia de la gravedad y sintomatología se admite la aplicación de: transfusión sanguínea, analgésicos, sueros hiperinmune y gammaglobulinas.

En bovino, un trabajo relativamente reciente propone la amoxicilina como opción a la dihidroestreptomicina en el tratamiento de ganado infectado con *L. hardjo*.

## 2.13 DOSIFICACION

Dihidroestreptomicina: 25mg/kg./5 días /IM.

Estreptomicina: 12-25mg/kg./ dos veces al día por 3 días / IM.

Estreptomicina: 25mg/Kg. una sola vez durante la fase de leptospiruria.

Clorhidrato de tetraciclina: 11mg/kg./5 días

Tetraciclina: 15-25 ml/kg./4 días / IM.

Oximicina: 100g/5 días / IM.

Transfusión sanguínea 5-10 L/450kg en caso de anemia hemolítica.

### **3. DISEÑO METODOLÓGICO**

El presente trabajo investigativo se llevó a cabo en Achuapa por presentar esta zona brotes recurrentes de leptospirosis en humanos y en estudios de identificación de leptospira en animales también han salido reactores positivos en diferentes especies, por ende se asoció ambos resultados y se tomaron muestras en bovinos en donde se había encontrado casos positivos en años anteriores de leptospirosis en humanos

#### **3.1. Lugar de Estudio**

El presente estudio se llevó a cabo en las siguientes comunidades: Wisquili, Río arriba, La Calera, Achuapa, Ojo de agua (Municipio de Achuapa Departamento de León).

#### **3.2. Universo del estudio**

Todos los Bovinos de las comunidades bajo estudio del municipio de Achuapa del departamento de León.

#### **3.3. Población de Estudio**

Todos los bovinos que se encontraron alrededor de ocho casos positivos reportados en humanos presentados en años anteriores hasta el 2009 en el municipio de Achuapa de León

#### **3.4. Criterios intrínsecos**

En las comunidades de Achuapa los bovinos en su mayoría son criollos, los demás son un cruce de Pardo – Brahaman, se alimentan de diferentes tipos de pastos como Taiwán, caña de azúcar, jaragua, rastrojo entre otros, su fuente de agua son las quebradas, ojo de agua y ríos.

#### **3.5. Criterios extrínsecos**

Las comunidades de Achuapa son rurales y su ganadería actualmente cuenta con sistemas productivos artesanales e intensiva, en donde no presentan buenas prácticas pecuarias por lo que sus métodos de crianzas son rústicos en



donde llevan a tomar agua al ganado a las quebradas por no poseer pilas en corrales.

### **3.6. Factores de inclusión**

Bovinos de todas las edades localizados en diferentes comunidades en estudio que conviven con casos positivos de leptospirosis en humanos presentados o identificados en años anteriores.

### **3.7. Factores de exclusión**

Bovinos de la comunidad de Achuapa en donde no se identificaron casos sospechosos o confirmados por el CNDR positivos de leptospira en humanos en años anteriores

### **3.8. Selección y recolección de la muestra**

La selección de la muestra fue de 23 bovinos de diferentes edades, los cuales se encontraron en cuatro fincas de productores o familiares de estos afectados por leptospirosis en años anteriores al periodo de estudio en el municipio de Achuapa, la recolección de la muestra se hará en una sola toma y en un solo día

Se tomaron muestra de orina en un tubo de ensayo plástico esterilizado, la muestra seleccionada en este caso fue la misma población a la que se le tomo muestra sanguínea.

También se tomaron muestras de sangre de la siguiente manera:  
Se sujetaron a los bovinos de una manga o prensa y seguidamente se procedió a tomar sangre directamente de la vena yugular utilizando un vacutainer o agujas descartables estériles calibre 18G y recopilada en tubos de ensayo o en tubos al vacío de 16x100mm sin anticoagulante o una jeringa de 10 ml estéril, la cantidad estimada a tomar fue de 3-5 ml de sangre. Las muestras tomadas e identificadas fueron colocadas en gradillas y almacenadas en un termo con hielo para su posterior traslado al laboratorio, en donde fueron centrifugadas para la separación del suero donde se extraerá y se colocara en microviales de 1.5 ml, estos se mantuvieron en refrigeración a temperatura de 0-4°C hasta su análisis. En caso en que las muestras se necesiten almacenar por varios días se congelarán a una temperatura de -20°C.

### **3.9 Unidad de análisis**

De 23 bovinos muestreados, se tomo siete muestras de orinas para el aislamiento de la bacteria en medio EMJH y también se obtuvieron 23 sueros sanguíneos.

#### 4. MATERIALES UTILIZADOS

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

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

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

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

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

**El MAT cualitativo** es el que nos determina los serovares que están en el suero del animal afectado.

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

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

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

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

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

## Resultados

Se aisló *Leptospira spp* a partir de muestras de orinas de bovino utilizando medio de cultivo EMJH y se encontró el 43% (3/7) de casos positivos. Se tomaron siete muestras de los 23 animales muestreados de los cuales en tres casos se aisló *Leptospira spp* y solamente dos de estos no tuvieron reacciones serológica

Del total de muestras serológicas recolectadas (23) se obtuvo un 26.08% (6/23) de seroreactores a leptospirosis, este resultado se obtuvo mediante la técnica de diagnostico MAT cuantitativo, a una dilución de 1/400 y 1/800. Los serovares encontrados fueron tres diferentes y las diluciones que reaccionaron cada una son: **1)** L. panamá en dilución de 1/400, **2)** L. Manhao en dilución 1/800 y 1/400, **y 3)** L. Cynopteri en dilución 1/800. (Se expone en fig. No 4)

### Interpretación de resultados:

Como prueba en un animal aislado, la MAT es muy útil en el diagnóstico de la infección aguda; tiene valor diagnóstico la demostración de un aumento de cuatro veces en los títulos de anticuerpos en muestras de pares de sueros procedentes de animales enfermos agudos y convalecientes. Además, un diagnóstico de leptospirosis puede basarse en el hallazgo de títulos muy elevados en un animal con un cuadro clínico bien definido. La prueba tiene limitaciones en la diagnosis de la infección crónica en animales individuales, tanto en el diagnóstico de abortos (83) como en la identificación de portadores renales o genitales (84). Esto es particularmente cierto en las infecciones por leptospira adaptadas al hospedador, como por ejemplo en la infección de ganado vacuno por el serotipo Hardjo. Cuando se toma como significativo un título de 1/100 o superior, la sensibilidad de la prueba solo es del 41%, e incluso cuando el título significativo mínimo se reduce a 1/10, la sensibilidad de la prueba solo es del 67% (84). Sirve de diagnóstico la demostración de anticuerpos en la sangre fetal pero los títulos son con frecuencia muy bajos, por ejemplo 1/10, y se requiere un procedimiento modificado de la prueba en la mayoría de los laboratorios.

Puesto que la leptospirosis es un problema de rebaño, la MAT tiene un uso mucho mayor como una prueba de rebaño. Para obtener información útil, Cole et al. (85)

**Capítulo 2.1.9. — Leptospirosis 6 Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008**

por lo que se recomienda testear al menos dos muestras del suero del paciente con un intervalo de unos 15 días entre ambas.

- Un suero reactivo en dilución 1/50 o mayor se considera positivo.
  - Un título de al menos 1:200 para un solo serovar luego del establecimiento de los síntomas, o títulos de 1:100 para varios serovares son sugestivos de Leptospirosis requiriéndose sucesivas muestras para su confirmación.
  - Títulos mayores de 1/200 para uno o más serovares, o la seroconversión ya mencionada constituyen diagnóstico confirmatorio.
  - Una reacción negativa en una sola muestra no descarta una posible infección
- a) La muestra de suero puede haber sido tomada prematuramente, antes de cumplirse al menos una semana de evolución desde el inicio de la enfermedad.
- b) Más raramente, el paciente puede estar infectado por un serovar ausente en la batería de antígenos utilizados y la respuesta inmune no ser suficientemente intensa todavía como para producir reacciones cruzadas detectables con otros serovares.
- Las reacciones cruzadas son sin embargo muy frecuentes, y los tests serológicos no son apropiados para identificar en forma precisa el serovar involucrado en una infección. No creemos por ej. que la frecuente reactividad de los serovares Panamá, Manhao y Cynopteri en los sueros de nuestros pacientes infectados se deba siempre a infecciones por los mismos, sino a gran reactividad cruzada y consecuente gran utilidad diagnóstica de estas cepas.
  - Los niveles de anticuerpos descienden en 4 a 10 meses, pero títulos bajos a uno o varios serovares pueden permanecer por varios años luego de la infección aguda.

Al final del estudio se detecto la presencia de *Leptospira spp* en bovinos alrededor de casos positivos reportados en humanos presentados en años anteriores hasta el 2009 en el municipio de Achuapa de León

Figura 1

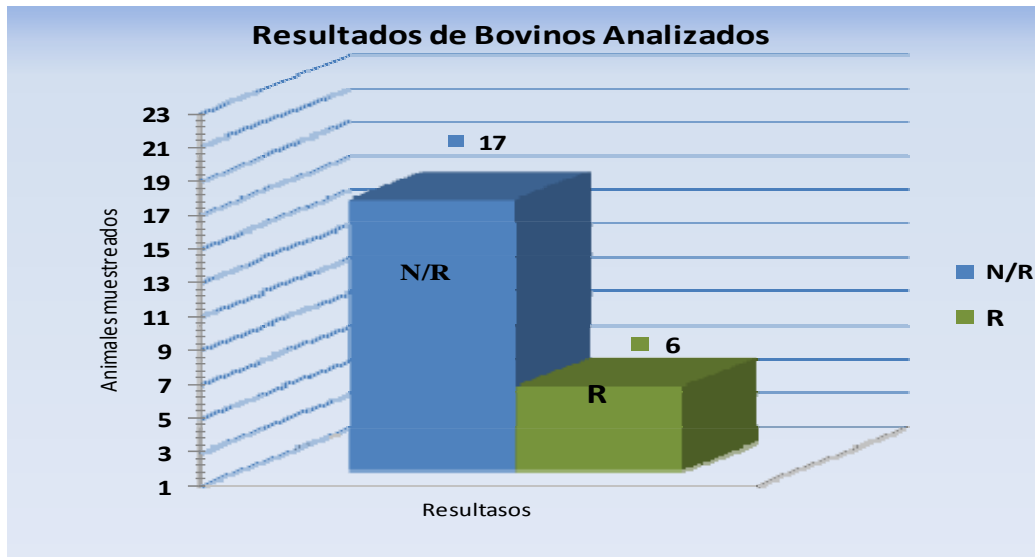


Figura 1. Nota: muestras de sangre, N/R: no reactores. R: reactores.

Figura 2



De las tres comunidades muestreadas la más afectada es la de Wisquili en donde se presentaron el mayor número de reactores



Figura 3

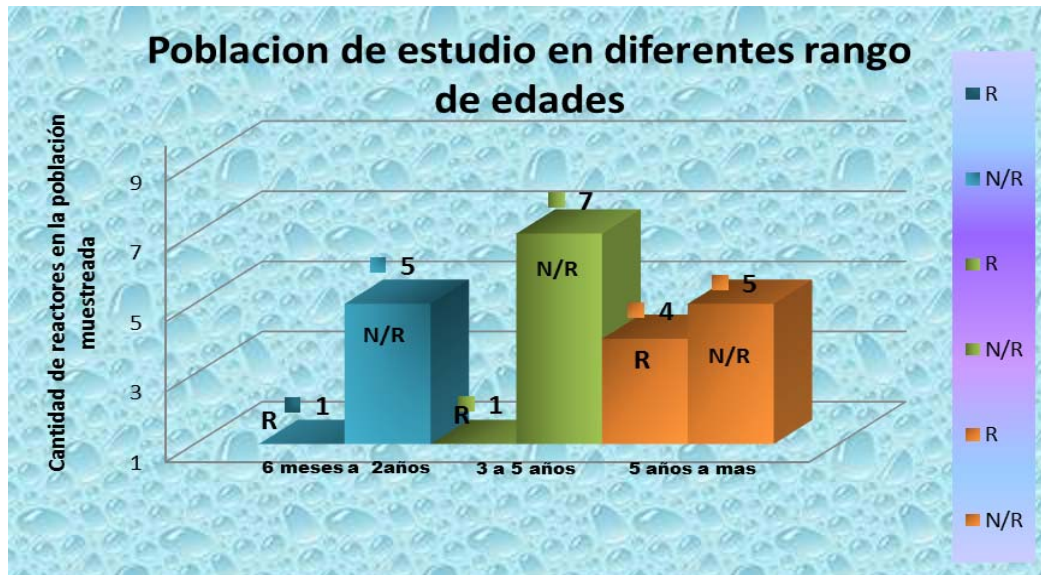
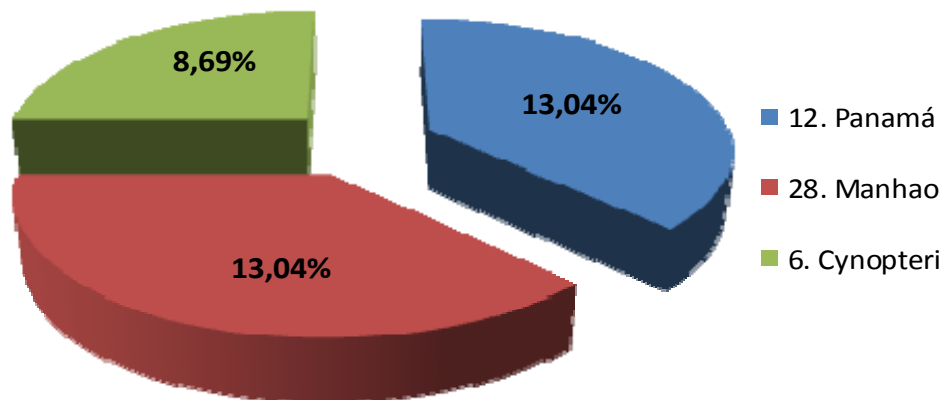


Figura 4

### Serovares Encontradas de Leptospira



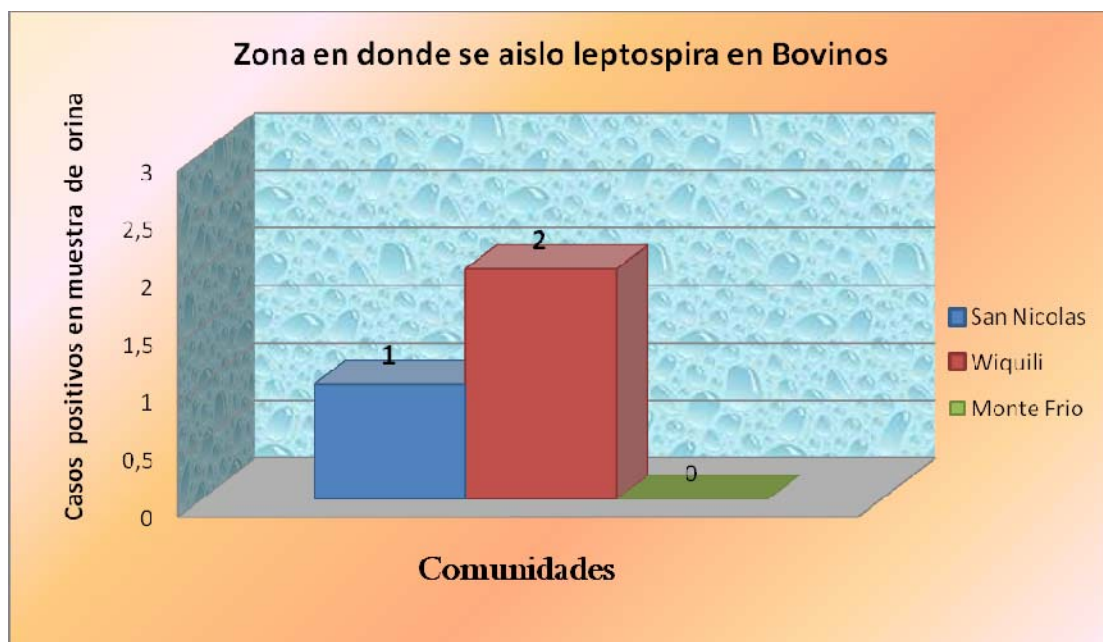
Serovares y las diluciones que reaccionaron cada una: **1)** L. panamá en dilución de 1/400, **2)** L. Manhao en dilución 1/800 y 1/400, **y 3)** L. Cynopteri en dilución 1/800.

Figura 5



43% (3/7) de casos positivos

Figura 6



## 6. Discusión.

En Nicaragua, durante Octubre y Noviembre de 1995 se notificó un brote en los municipios de El Sauce y Achuapa. El ministerio de Salud (MINSAL) inició una investigación epidemiológica y laboratorial en colaboración con el centro para la prevención y control de las enfermedades (CDC) de los Estados Unidos. Este brote se asoció a contacto directo con agua y suelo contaminado con orina, infectada en el periodo de invierno. Se realizó un estudio de caso y control donde recolectaron 199 muestras de animales domésticos, de las cuales 53 fueron de bovinos, dando 16/53 (30.2%) de las muestras títulos  $\geq 400$  a uno más serovares de leptospira. Los serovares que con mayor frecuencia se encontraron fueron: ballum "S102" (8/53 : 15.1%), canícola "Hond-Utrecht IV" (7/53 : 13.2%) y wolffi (4/52 : 7.5) este estudio tiene varias diferencias con el nuestro, los serovares que encontramos fueron: panamá "C2214" (3/23 : 13%), Manhao "L05" (3/23 : 13%) y Cynopteri "3522C" (2/23 : 8.7%). Nuestros seroreactores son relativamente más altos debido a que en la población anterior de estudio implica las comunidades del Sauce y Achuapa y en nuestro estudio corresponde solamente a la comunidad de Achuapa.

Trejejo et al 1995, también realizó su estudio de control de foco en la zona de El sauce y Achuapa, cuando se dio el brote en el que se afectaron más de 3000 personas y hubieron alrededor de 40 defunciones, este incluyó además de las personas, a varias especies de animales domésticos entre ellos bovinos, equinos, caninos y porcinos donde obtuvo una prevalencia de 56.5%. Los serovares aislados en **bovinos fueron**: L. ballum, L. Bratislava, L. canícola, L. hardjobovis, L. pomona, L. pyrogenes, L. shermani, L. sejroe wolffi y L. interohaenorrhagiae. En nuestro estudio la razón es de 26.08%, la diferencia encontrada tiene mucho que ver con la población en estudio en ambos casos, pero también no coincidimos con los serovares encontrados en donde los nuestros fueron: **1)** L. panamá en dilución de 1/400, **2)** L. Manhao en dilución 1/800 y 1/400, **y 3)** L. Cynopteri en dilución 1/800.

En México se realizó un estudio retrospectivo de seroprevalencia para diagnóstico de leptospirosis bovina tomando en cuenta las regiones ecológicas y aportaron lo siguiente: en la **región árida y semiárida** la frecuencia fue 37,8% y las serovariedades de mayor prevalencia fueron cepa H-89 (hardjo) wolffi y terassovi.

**Trópico seco** con una frecuencia de 45.9% las serovariedades con mayor prevalencia fueron Wolffi y tarassovi. **Clima templado**, la frecuencia fue promedio de leptospirosis fue de 39.4% las serovariedades con mayor frecuencia fueron la cepa palo alto (*interohaenorrhagiae*) cepa Sinaloa ACR (portland-vere), Bratislava, pyrogenes, pomona, cepa H-89 (*hardjoprajitno*), hardjo, wolffi y tarassovi.

En nuestro estudio coincide por la zona en donde se llevó a cabo el estudio siendo esta del trópico seco en cuanto nuestro porcentaje encontrado sigue siendo bajo con un 26.08% y podría estar influyendo la población total en estudio, y las serovariedades encontradas no tiene ninguna relación con este, probablemente por las condiciones ecológicas y las practicas zoológicas no sean semejante implicando esto, los factores asociados a la infección descrito en el punto 2.5 de nuestro trabajo.

## 7. CONCLUSION.

- Se logro aislar la leptospira en tres casos a partir de muestras de orinas de bovino utilizando medio de cultivo EMJH, representando el 43% (3/7) de la población muestreada en el municipio de Achuapa, departamento de León de los casos aislados solo uno tiene reacción serológica positiva.
- Existen un porcentaje relativamente bajo de reactores, en las muestras estudiadas del 26.08% (6/23) mediante la técnica del MAT cualitativa. Aquí están incluidos toda la población muestreada tanto para la prueba serológica como para las muestras para el aislamiento bacteriológico en medio de cultivo EMJH.

## **8. RECOMENDACIONES**

1. Llevar a cabo más estudios de este tipo cada año para tener un monitoreo constantes de esta enfermedad, sobre todo en las zonas vulnerables a que se den nuevos brotes epidémicos de leptospirosis.
2. Concientizar a la población en riesgo (zonas rurales) de lo grave que es esta enfermedad sobre todo cuando hay brotes epidémicos.
3. Dar a conocer la participación que tienen los bovinos en la transmisión de leptospirosis.
4. Sensibilizar a los pobladores de efectuar buenas prácticas pecuarias
5. Elaborar programas de vigilancia epidemiológica en todo el país, pero haciendo énfasis en las zonas más vulnerables.
6. Por el carácter zoonótica de la patología y el contacto directo con la especie en estudio (bovino), es necesario identificar los focos y darle el tratamiento correspondiente.

# ANEXOS

## 9 Glosario

- OIE: Oficina Internacional de Epizootias
- WHO/: Organización mundial de la salud (OMS) (World Health Organization)
- CDC: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades ( Por su acrónimo en ingles, Center for Disease control and prevention)
- SILAIS: Sistemas locales de atención integral en salud
- OPS: Organización Panamericana de la Salud
- CNDR: Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia
- MAT: Técnica de micro aglutinación
- MINSA: Ministerio de Educación
- ONG: Organismo no gubernamentales
- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- EMJH: Ellinghausen-McCulleugh-Johnson-Harris (medio de cultivo)
- IG: Inmunoglobulinas
- LCR: Líquido cefalorraquídeo
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (del inglés **P**olymerase **C**hain **R**eaction)
- ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assa*)
- PBS: Fosfato buffer salino

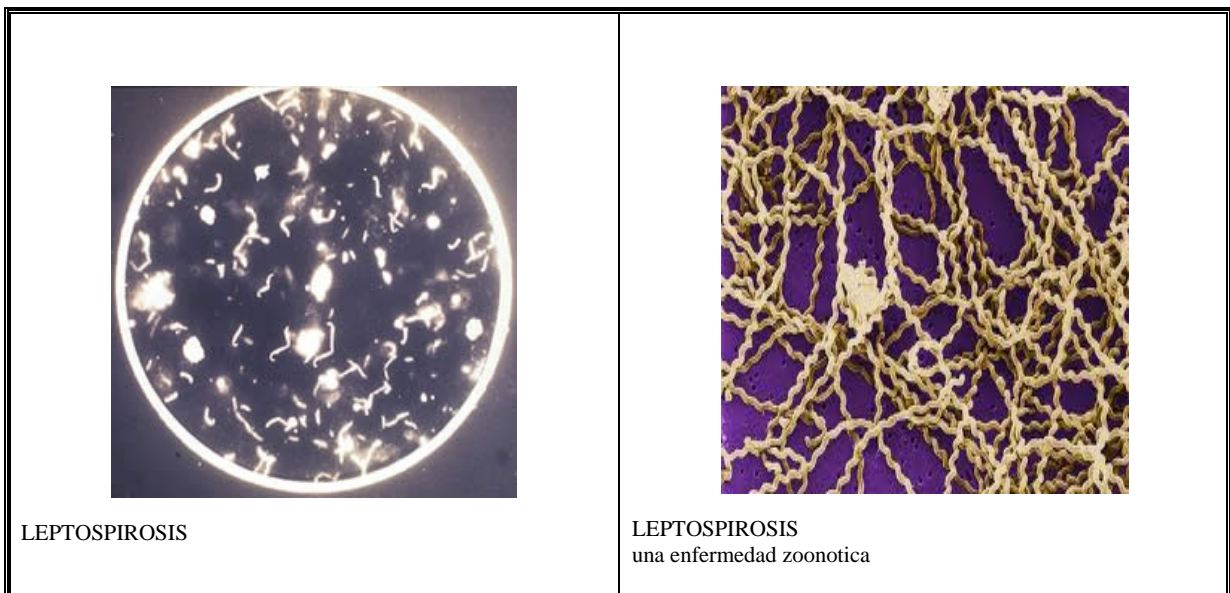


## 10 SINONIMIAS

Como se sabe a través de los años que han transcurrido desde el descubrimiento de la leptospirosis, ha adquirido una infinidad de 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 enzótica; enfermedad de Stuttgart (*L. canicola* en Europa); ictericia hemorrágica; ictericia infecciosa; agua roja; fiebre de los 7 días (*L. hebdomadis* en Japón); fiebre otoñal japonesa (*L. autumnales*); fiebre de los ratones; tifus canino, fiebre de cieno; fiebre de los pantanos (*L. grippotyphosa* en los trópicos); fiebre del agua; fiebre de los cosechadores; fiebre de los campos; ictero-hemoglobinuria de los bóvidos; oftalmía periódica del caballo; etc. Todas estas denominaciones han sido utilizadas para describir la enfermedad causada por leptospira y obedece a características epidemiológicas, clínicas, territoriales, especies afectadas, estacionalidad del año<sup>7</sup>.

## 11 FOTOGRAFIAS DE LEPTOSPIROSIS

Figura 1



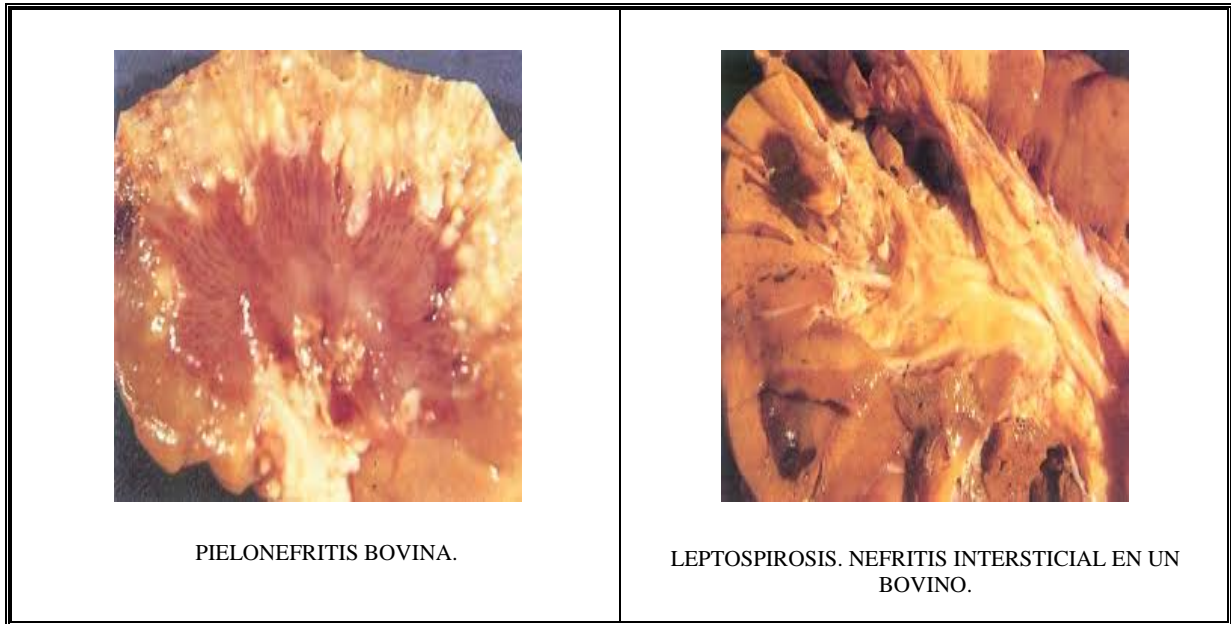
<http://salud.cibercuba.com/node/731>

Figura 2



<http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/insumosagropecuarios/ganaderos/laboratorio-vet/boehringer/bovinos/inf-leptospirosis.htm>

**Figura 3**



<http://www.fao.org/docrep/003/t0756e/T0756E03.htm>

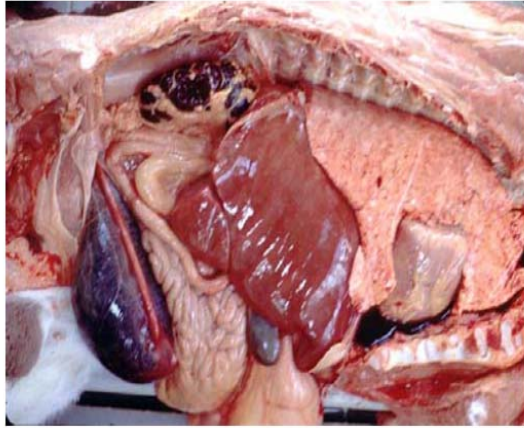
**Figura 4**



Atlas fotográfico exopol

<http://www.exopol.com/atlas/busca2.php>

**Figura 5**



Lesiones en órganos de becerro en hígado, vejiga y riñón.



Placenta con necrosis en cotiledones

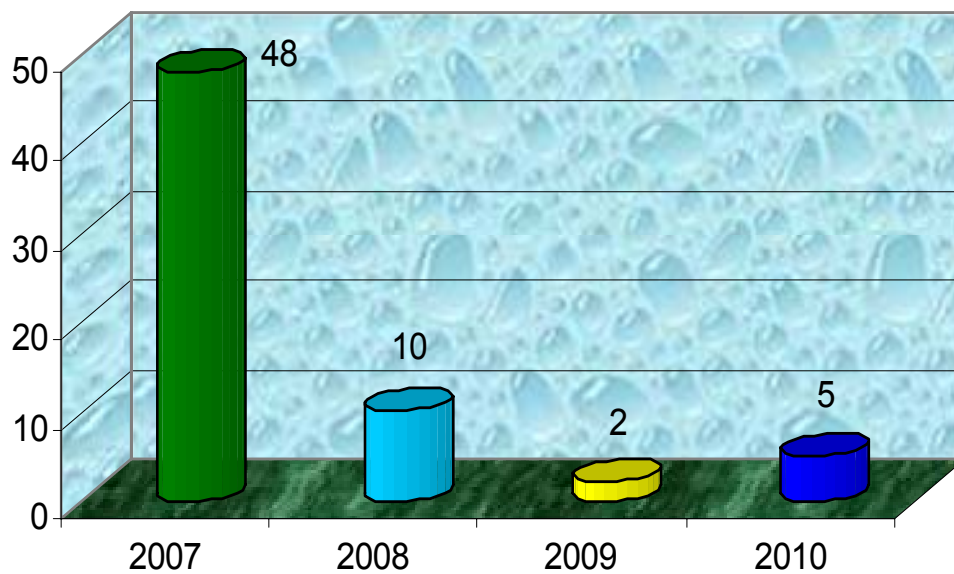
.Fuente de imágenes: JM King: Cornell I Veterinary Medicine. Necropsy show and tell.[www.vet.cornel.edu/nst/](http://www.vet.cornel.edu/nst/)

Atlas fotográfico exopol

<http://www.exopol.com/atlas/busca2.php>

Caso Positivo Leptosirosis  
Del Año 2007 a la Semana # 29 2  
Municipio Achuapa

Casos Positivos de Leptospira



El Comportamiento de los casos Positivos de Leptosirosis en el municipio desde el año 2007 a la semana epidemiológica 29

Ha sido la siguiente:

Durante año 2007 se registran 48 casos para una tasa de 3.1 por cada mil habitantes, en año 2008 se registran 10 casos para una tasa de 0.6 por mil habitantes en año 2009 se registran 2 casos para una tasa de 0.1 por mil habitantes.

En el periodo de Enero al 25 de Julio del año 2010 que corresponde a la semana epidemiológica # 29 se registran 5 casos para una tasa de 0.3 por mil habitantes, del total de casos del año 2010.

1 Persona para un promedio del 20% fue trasladado al HEODRA siendo una Mujer embarazada la que tenia 38 semanas de gestación pariendo en esta misma institución, naciendo su Bebe sin Ninguna Complicación, del total de casos registrado 2010, el 75% son del área rural y el sexo más afectado es el femenino

igualmente con el 75% de los casos registrados, al 100% de casos se ha realizado control de foco realizando actividades siguientes:

<b>Actividades realizadas</b>	<b>Personas atendidas</b>
Medicación a Personas	750
Tratamiento Profiláctico	725
Tratamiento Completo	25
Tratamiento Completo Doxiciclina	15
Tratamiento Completo Amoxicilina Cap	6
Tratamiento Completo Amoxicilina Fco	4
Profiláctico Doxiciclina	637
Profiláctico Amoxicilina Capsula	48
Profiláctico Amoxicilina Fco	40
Embarazadas Medicadas Profilácticos	5
Personas Ingresada Observación C/S	15
Traslados Realizados al HEODRA	1
<b>Total</b>	<b>2,271</b>

Informe Comparativo De La Situación Epidemiológica En El Municipio De Achuapa. 2007-2010.

Dra.: Zeleyda María Hernández

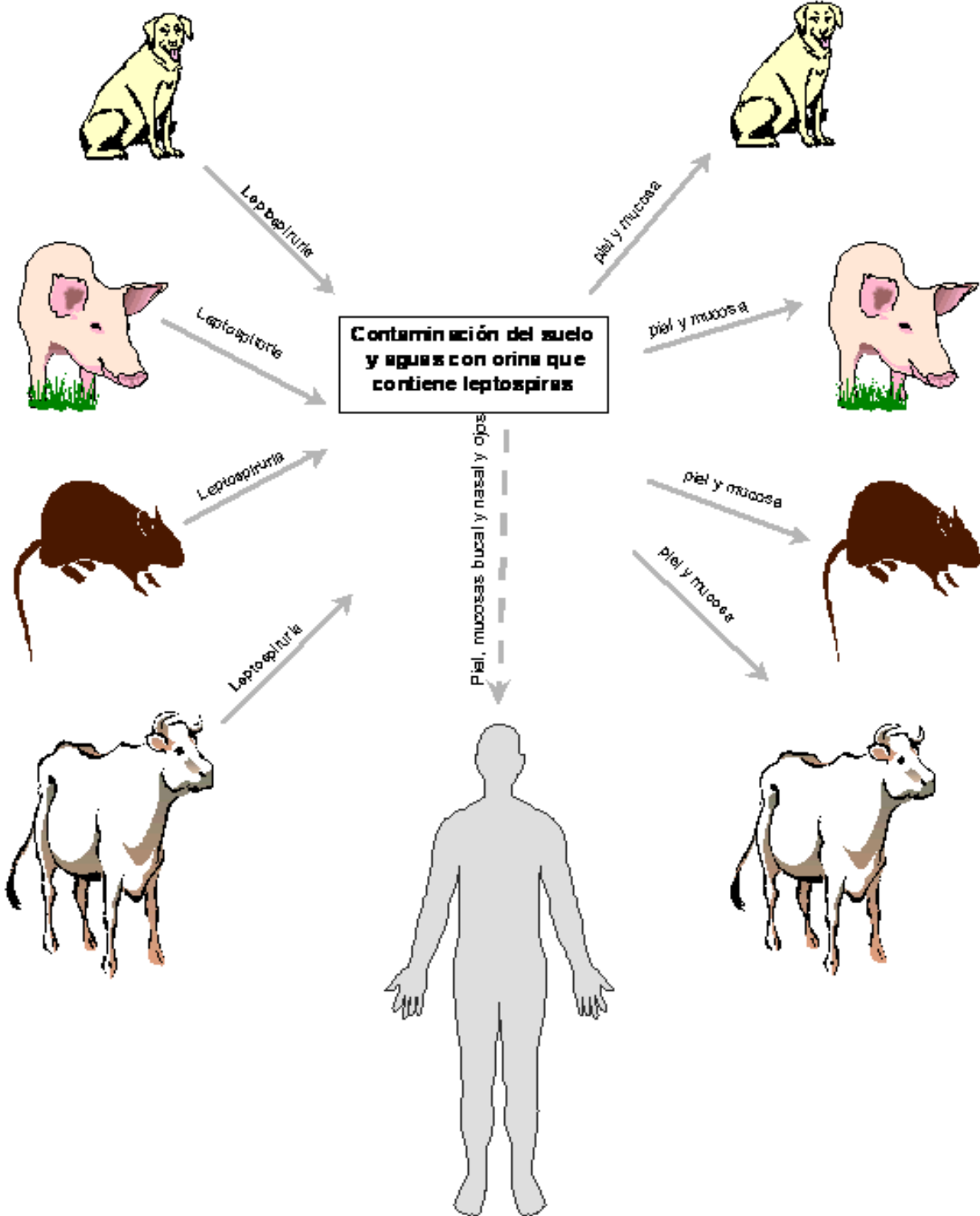
---

Delegada del poder ciudadano  
MINSa – ACHUAPA

# Ciclo de transmisión de leptospirosis

Animales infectados

Animales susceptibles





## 12. REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS

1. Acha N. P. y Szyfres B. 2001. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y Los Animales, 3rd Edición, OPS/OMS.
2. Aguirre J. y Torres W. 2005. Tesis Para Optar al Título de Licenciado en Medicina Veterinaria.
3. Beer J. 1981. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos, Tomo: II, Capitulo: 58, Horsch F.
4. Bernal J. 2003. Leptospirosis. Medicina Veterinaria Área de Divulgación Científica. Facultad de Ciencia Veterinaria. UNLP. Disponible en: <http://www.cdc.gov>.
5. Biberstein E. L. Tratado de Microbiología Veterinaria; Capitulo 32: Leptospirosis.
6. Faine S. 1982. Guidelines for the Control of Leptospirosis. WHO Offset Publication 67 World Health Organizations, Geneva Switzerland 96 Faine S. and Stallman N. D., Amended descriptions of the Genus Leptospira.
7. García Suárez R. Zoonosis: Manual de Procedimientos Para el Diagnostico de Leptospirosis, Capítulo III: Leptospirosis.
8. Hartskeerl R. A; Smits H. L; Korver H. Goris M. G. A; Terpstra W. J; 2002. International Course on Laboratory Methods for the Diagnosis of Leptospira.
9. Hickey W. P. 2002. Leptospirosis. Disponible en: <http://www.emedicine.com./article/220563-overview>



10. Hudson B. D. 2000. Leptospirosis of Domestic Animal. Boletín Epidemiológico 21(2)  
<http://www.ianr.edu/pubs/animaldisease/g417.html>.  
[www.vet.uga.edu/vpp/clerk/noel/index.php](http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/noel/index.php)
11. Labiofam. 1997. Vademécum de Medicamentos Veterinarios.
12. Lilenbaum W. 2006. Leptospirosis on Animal Reproductions: IV. Serological Findings in Mares from Six Farms in Rio de Janeiro, Brazil.
13. Merck. 2005. Manual de Veterinaria. 5ta ed. Barcelona, España. Ed. Océano Grupo, Pág.: 532-533.
14. Mitch Huracane. 1998. Disponible en: who 1982  
<http://www.Who.int/emc/outbreak3/4news/n1998/de/n02dec1998.html>.
15. O.M.S. 2001. El Control de las Enfermedades Transmisibles. 17 edición. Publicación Científica y Técnica # 581, OPS.
16. O.M.S. 1998. Zoonotic Diseases. Disponible en:  
<http://www.int/cds/vph/pofile.html>.
17. Reyes Cerros J. y Vallecillo R. 2004 Centro Nacional de Diagnostico y Referencia, MINSA, Área de Leptospira.
18. Centro de Estudios Prevención y Mitigación de Desastres; Facultad de Medicina Veterinaria Universidad de Granma. Revista Electrónica Veterinaria, REDVET. ISSN 1695-7504. Disponible en:  
<http://www.veterinaria.org.revistas/redvet>.
19. Szyfres B. 1976. La Leptospirosis Como Problema de la Salud Humana y Animal en América y del Caribe. Public. Cien #316. OPS.

20. Trevejo R; Ashford D; Reyes C; Robert J; Weyant R. 1995. Epidemic Leptospirosis Associated with Pulmonary Hemorrhage-Nicaragua. JID 1998, 178 Noviembre.
21. C. Alonso-Andicoberry, F.J. García-Peña 2, L.M. Ortega-Mora, Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040-Madrid.2 Dpto. de Bacteriología, Laboratorio Central de Veterinaria de Algete, Madrid. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina  
<http://www.inia.es/iaspa/2001/vol16-2/alons.PDF>
22. **Kujoti Sandow, Waldo Ramírez Sánchez.** Centro de Estudios Prevención y Mitigación de Desastres Fac. Med. Vet. Universidad de Granma. Carretera de Manzanillo km.17 1/2, Paralejo, Bayamo. Granma, Cuba  
<http://www.monografias.com/trabajos17/leptospirosis/leptospirosis.shtml#bibli>  
o
23. CESPEDES Z, Manuel, GLENNY A, Martha, FELICES A, Vidal *et al.* **Prueba de Elisa indirecta para la detección de anticuerpos IgM para el diagnóstico de Leptospirosis humana.** *Rev. Perú. med. exp. salud pública.* [online]. ene./mar 2002, vol.19, no.1 [citado 16 Febrero 2007], p.24-27. Disponible en la World
24. Leptospirosis por la Dra. Adelina Braselli  
<http://www.infecto.edu.uy/revisiontemas/tema25/leptospirosis.htm>
25. Leptospirosis in Taiwán, 2001–2006, Leptospirosis in India and the rest of the world The Journal of Infectious Diseases 1998; 178: 1457-63).
26. Prevalencia serológica de leptospirosis en ganado doble propósito del noreste de Monagas, Venezuela, Coromoto Alfaro<sup>1</sup> Yudy Aranguren<sup>2</sup> Antonia Clavijo y Carlos Díaz  
<sup>1</sup>[http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zt2202/art/alfaro\\_c.htm](http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zt2202/art/alfaro_c.htm)

27. **Manual on meat inspection for developing countries**, Capitulo 3. Enfermedades Especifica de Ganado, FAO Corporate Document Repository <http://www.fao.org/docrep/003/t0756e/T0756E03.htm>
28. Leptospirosis: caso clínico y revision bibliográfica, Alberto Morillo Alujas, Jaime Almajano Hernández, José Antonio Oliveros Use. Tests and Trials S. [Lhttp://www.engormix.com/s\\_articles\\_view.asp?art=934&AREA=POR-165](http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?art=934&AREA=POR-165)
29. Estudio serológico de leptospirosis bovina en México, Universidad Autónoma Metropolitana, México, Prof. Luis Pedro Moles Cervantes, Prof. Miguel Ángel Cisneros Puebla, Prof. Dolores Gavaldón Rosas, Prof. Nora Rojas Serranía y Prof. Jorge Isaac Torres Barranca [http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol54\\_1\\_02/mtr06102.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol54_1_02/mtr06102.htm)
30. (K.Sandoval y E. Ramírez, 2005)... Tesis Para Optar al Título de Licenciado en Medicina Veterinaria.
31. Thiermann, A.B. 1984. Leptospirosis: current developments and trends. JAVMA 184,722-725.
32. Ellis, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 10 (3): 463-478, 1994.
33. Ellis, W.A.; Mc Donald, A.W.; Yan, K.T. Prevalence of Leptospira spp in findings with 3 forms in equine leptospiral abortions. Equine. Vet. J. 2b (2): 105-108, 1994.
34. Figueroa, M. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centro América. Editorial Universal Estatal a distancia San José, Costa Rica. 173-194, 1984.  
<http://www.monografias.com/trabajos19/leptospira-interrogans/leptospira-interrogans.shtml#ixzz2LdxBEyr9>
35. Merchant, I.A.; Packer, R.A. Bacteriología y Virología veterinarias, 1973.  
<http://www.monografias.com/trabajos19/leptospira-interrogans/leptospira-interrogans.shtml#ixzz2LdxBEyr9>
36. Menninger, R.; Mocsy, J. Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. Tomo I, 11ª Edición Alemana. 301-315, 1978.  
<http://www.monografias.com/trabajos19/leptospira-interrogans/leptospira-interrogans.shtml#ixzz2LdvlqPwJ>

37. Houvin-Hougen, K. 1979. Leptospiraceae, a new family to include *Leptospira* Noguchi 1917 and *Leptonema* gen. nov. *Int.J.Syst. Bacteriol*, 29:245-251.
38. Johnson, R. C. and. Faine, S 1984a. *Leptospira*, 62-67. En: N. R. Krieg, and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
39. Holt, J.G., Hrieg N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams & Wilkins, Ed., Baltimore, USA. 9th edición. 27-37.
40. Canale-Parola E., 1984. Order I. Spirochaetales Buchanan 1917, 163a. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol I. Krieg N.R. y Holt J.G. (Eds.) Williams & Wilkins, Ed. Baltimore, USA. 38-39.
41. Hartskeerl, R., Smith, H., Korver, H., Goris, M. and Terstra, W. 2000. *International Course on Laboratory Methods for diagnosis of Leptospirosis*. Royal Institute. Amsterdam, Holland.
42. González G., J. A., Tamayo, S. y Machado, A. 1990. *Leptospirosis*. Ed. Centro de información y Documentación Agropecuaria. La Habana.
43. Marga Goris, 2004. *Microbiology of Leptospire*. "Leptospirosis Habana- 2004" II taller internacional y II reunión científica. Cuba, Mayo.
44. World Health Organization .1999. **Leptospirosis** worldwide, 1999. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 74:237-242[[Medline](#)]
45. Bofill, P., Rivas, A., Ramírez, W. Montañéz, J., Martínez, A., Quincoses, T., Reinaldo, L. y Fuentes, E. 1996. *Manual de Enfermedades Infecciosas*. Tomo # 1. Talleres Gráficos de la Dirección de Publicaciones y Materiales Educativos del Instituto Politécnico Nacional, México, 139-187.
46. Bofill, P., Rivas, A., Ramírez, W. Montañéz, J., Martínez, A., Quincoses, T., Reinaldo, L. y Fuentes, E. 1996. *Manual de Enfermedades Infecciosas*. Tomo # 1. Talleres Gráficos de la Dirección de Publicaciones y Materiales Educativos del Instituto Politécnico Nacional, México, 139-187.
47. Elder, J. K., McLeon, G.M., Duncalfe, F., Ward, W.H. and Leutton, R.D. 1986. *Epidemiological studies on the ecology of Leptospira interrogans serovars Pomona and hardjo in Queensland*. *Prev. Vet. Med.*, 3:501-521.
48. **LEPTOSPIROSIS. Kujoti Sandow. Waldo Ramírez Sánchez**, Centro de Estudios Prevención y Mitigación de Desastres Fac. Med. Vet. Universidad de Granma. Carretera de Manzanillo km.17 1/2, Paralejo, Bayamo. Granma, Cuba.  
<http://www.monografias.com/trabajos17/leptospirosis/leptospirosis.shtml#biblio>
49. Michna S.W.1970. *Leptospirosis*. *Vet. Rec.* 86, 484-496

50. Van der Hoeden J. (1958). Epizootiology of Leptospirosis. Adv. Vet. Sci. 4, 278-339.
51. Fernández, L. J., De La Peña, M. A. y Reyes, V. V. 1991 Detección de antígenos contra *Leptospiras interrogans* en bovinos de hatos lecheros en el valle de Atlixco, Puebla mediante la prueba de aglutinación microscópica. En: Memorias del XVI Congreso Nacional de Buiatria, 321-325.
52. Acosta, H., Hugo. M. C. y Viáfara, D. 1994. Leptospirosis. Revisión de tema. Colombia Médica, 25:36-42.
53. López Ofelia, Vignolo, J. y Hernández Silvia. 2002. Situación Epidemiológica en el ser Humano. En: Guía de control y manejo de Leptospirosis. OPS/HCP/HCV/URU.ZOO. 5-10.
54. Arean, V. M., Sarasin, G. and Green, J. H. 1964. The pathogenesis of leptospirosis: toxin production by *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Am. J. Vet. Res. 25: 836-843.
55. Leonard, F., Quinn, P.J. and Ellis, W.A. 1993. Association between cessation of leptospiruria in cattle and urinary antibody levels. Res. Vet. Sci. 55, 195-202.
56. Terry, J., Trent, M. and Bartlett, M. 2000. A cluster of **Leptospirosis** among abattoir workers. Commun. Dis. Intell. 24:158-160[[Medline](#)].
57. Amatredjo, A. and Campbell, R.S.F., 1975. Bovine leptospirosis. Vet Bull 43: 875-891.
58. Coghlan, J.D. and Bain A.D. 1969. Leptospirosis in human pregnancy followed by death of the foetus. Br. Med. 1:228-230.
59. Bolin, C.A. 1989. Human to human transmission of *Leptospira interrogans* by milk. J. Infect. Dis. 159:246-247
60. Pumarola A. 1994. Leptospirosis. En: Pumarola A. Et al. Microbiología y Parasitología. Cap. 49. España, 544-0.
61. Sullivan, N.D. 1974. Leptospirosis in animals and man. Aus.Vet.J. 50, 216-223
62. Szyfres, B. 1976. La Leptospirosis como problema de la salud humana y animal en America Latina y del Caribe. Publ. Cien # 316. OPS.
63. Timoney, J..F., Gillespie, J.H., Scott, F.W. and Barlough, J.E. 1988. The Spirochetes, In: Hagan & Bruner's Microbiology and infectious diseases of domestic animals. Comstock Publishing Associates, Ithaca, USA, 8th edition, 45-57
64. Prescott, J.F. 1993. Leptospirosis, In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (Eds.) Pathology of domestic animals. Academic Press, Inc, 4th edition. 503-511.
65. Kadis, S. and Pugh, W.L. 1974.. Urea utilization by *Leptospira*. Infect.. Inmun., 10:793-801.

66. Thompson, J.C. and Manktelow, B.W. 1989. Pathogenesis of renal lesions in haemoglobinaemic and non-haemoglobinaemic leptospirosis. *J. Comp. Path.*, 101:201-214.
67. Jawetz, E., Melnick, I. y Edward, A. 1985. Espiroquetas y otros microorganismos espirales. *Manual de Microbiología Médica*, 9na Ed. 244-252.
68. Pelezary, N.Y. y Reid, R.D. 1976. Leptospirosis. *Microbiología*. 445-446.
69. Baskerville, A. 1986. Histological aspects of diagnosis of Leptospirosis. In: Ellis W.A., Little T.W.A. (Eds.) *Present state of Leptospirosis diagnosis and control*. Martinus Nijhoff Publishers, 33-43.
70. Guijarro, R. y Calvo, E. 1999. Tratamiento y control de leptospirosis bovina. *Producción Animal*, 146:27-36.
71. Patterson, C. J. 2003. Distribución geográfica y endemismo de la Leptospirosis en el hombre y los animales y su relación con el ecosistema de la Provincia Las Tunas. Tesis de maestría. Universidad de Granma, Cuba.
72. Blood, D.C., Radostits, O.M. and Henderson, J.A. 1982. *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 6 Eds. ELBS, 675-685.
73. Chamizo, E. 1997. *Patología orgánica y enfermedades de los animales domésticos*. Ed. Felix Varela. 52.
74. Baskerville, A. 1986. Histological aspects of diagnosis of Leptospirosis. In: Ellis W.A., Little T.W.A. (Eds.) *Present state of Leptospirosis diagnosis and control*. Martinus Nijhoff Publishers, 33-43.
75. Benhnet, C. J. y Plum, F. 1998. Leptospirosis. *Tratado de Medicina Interna: 1984-1985*. (CECIL).
76. Pérez, Q., Dorado, E. y Borrillo, L. 1982. Estudio de un foco de leptospirosis bovina en España. 10ª Conferencia de la Comisión regional de la O.I.E. para Europa. O.I.E. Londres.
77. Savio, L.E. Linder, 2002. Leptospirosis Humana. Clínica y diagnósticos diferenciales. En: *Guía de Control y Manejo de Leptospirosis*. OPS/HCP/HCV/URU.ZOO.11-15.
78. Heath S.E. and Johnson, R. 1994. Leptospirosis. *JAVMA* 205, 1518-1523.
79. South, P. J. and Stoenner, H. G. 1974. *Proc. 78th Ann. Mtg. U.S. Anim. Hlth. Assoc.*, 18,126.
80. Ginebra, G. A. Olga. 2001. Microorganismos Espirales. En: Llop H. Alina, Valdés-Dapena V. M., Zuazo, S.J. *Microbiología y Parasitología Médicas Tomo 1*. Ed. Ciencia Médica Ciudad de La Habana. 37:388-415.

81. Arzumanian, G.R. 1970. Leptospirosis. Acad. Cienc. Cuba, 1-30.
82. Alonso- Andicoberry, C., García-Peña, F. J., Pereira Bueno, J., Costas, E. y Ortega-Moral, M. 2001. Epidemiología, diagnóstico y control de la Leptospirosis bovina (Revisión). Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim. 16(2): 1-34.
83. ELLIS W.A., O'BRIEN J.J., NEILL S.D. & HANNA J. (1982). Bovine leptospirosis: Serological findings in aborting cows. Vet. Rec., 110, 178–180.
84. ELLIS W.A. (1986). The diagnosis of leptospirosis in farm animals. In: The Present State of Leptospirosis Diagnosis and Control, Ellis W.A. & Little T.W.A., eds. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands, 13–31.
85. BROWN P.D. & LEVETT P.N. (1997). Differentiation of *Leptospira* species and serovars by PCR-restriction endonuclease analysis, arbitrarily primed PCR and low-stringency PCR. J. Med. Microbiol., 46, 173–181.