

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua

UNAN - León

Escuela de Medicina Veterinaria



Tesis para optar al título de Médico Veterinario

Tema: Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011.

Autor

Br. Isaac David Pineda Sirias

Tutores

Lic. Byron Flores Somarriba. MSc.

Licda. Jessica Sheleby Elías. MSc.

León, Septiembre 2013

RESUMEN

La Leptospirosis es una zoonosis cosmopolita, endémica en Nicaragua. Por tal razón resultó importante determinar la prevalencia de *Leptospira* y serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos en Leptospirosis humana en el pacífico y norte de Nicaragua en 2011. Se recolectó 230 muestras de orina y sangre para realizar Aislamiento y Técnica de Microaglutinación, respectivamente, provenientes de bovinos, caninos, equinos, porcinos y ovinos, que hayan estado en contacto con personas reportadas como positivo a Leptospirosis por el Ministerio de Salud (MINSAL). Dichas muestras fueron llevadas al Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI) de la Escuela de Medicina Veterinaria UNAN – León bajo normas estrictas para su debido procesamiento. Los resultados reflejaron que el 40.87% de animales fueron positivos a Aislamiento en orina, siendo el bovino el que presentó el mayor porcentaje entre todas las especies. Además el 23.4% fueron reactores a la Prueba de Microaglutinación, predominando el serogrupo *grippityphosa* en bovino, equino y porcino, junto con *pomona* en esta última y *canicola* en caninos; indicando que sólo los caninos se mantuvieron como hospedadores de mantenimiento, las demás especies fueron hospedadores accidentales de otros serogrupos.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

AGRADECIMIENTO

Al **Señor Jesús**, por concretar un logro más en mi vida, y los que faltan...

A mi madre **Melania Siria**, la que supo decirme siempre “vamos para adelante” a pesar de cualquier obstáculo que hubiera en el camino.

A mis tutores, **Lic. Byron Flores Somarriba MSc.** y **Licda. Jessica Sheleby Elias. MSc.**, por haber dedicado tiempo y esfuerzo en la realización de este estudio.

A la **Licda. Brenda Mora MSc.**, quién fue pieza clave para la comprensión del tema, al brindarme orientaciones y sus conocimientos en el Laboratorio de *Leptospira*.

A **amigos y colegas** que han estado a la expectativa de mí durante la elaboración de este trabajo investigativo.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

DEDICATORIA

Al **Señor Jesús**, por este regalo tan importante en mi vida profesional; por no dejarme abandonado nunca ha pesar de mis errores.

A **Melania Patricia, Aura Luz y Claudia Denisse**; mi madre, abuelita y hermana respectivamente, las tres personas más importantes en mi vida.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

CONTENIDO

I. TEMA	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	4
IV. JUSTIFICACIÓN	6
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
VI. OBJETIVOS	8
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
VII. MARCO TEÓRICO	9
Definición de Leptospirosis	9
Sinonimias	9
Historia	10
Importancia sanitaria y económica	11
Taxonomía y Clasificación por especies	12
Origen taxonómico	12
Especies de <i>Leptospira</i>	12
Clasificación serológica	13
Etiología	15
Epidemiología	18
Especies susceptibles	18
Hospedador de mantenimiento	19
Hospedadores accidentales	20
Distribución geográfica	20
Fuentes de infección	20
Factores asociados a la infección	22
Vías de transmisión	23
Patogenia	24
Sintomatología	26
Lesiones anatomopatológicas	29
Respuesta inmune	30

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Diagnóstico	30
Diagnóstico diferencial	37
Profilaxis	38
Tratamiento	39
VIII. MATERIAL Y MÉTODO	42
IX. RESULTADOS	46
X. DISCUSIÓN	47
XI. CONCLUSIONES	50
XII. RECOMENDACIONES	51
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
XIV. ANEXOS	65

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

I. TEMA

Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011.

II. INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis es una enfermedad infecciosa febril, aguda o crónica, de curso clínico frecuentemente inaparente, que infecta al hombre y a los animales, y cursa con abortos, hematuria, anemia e ictericia. Es una zoonosis de distribución mundial que afecta a los mamíferos tanto domésticos como silvestres, aunque el agente también se ha aislado de otros vertebrados, como aves y anfibios **(Thiermann, 1984)**. Es considerada una de las zoonosis más difundidas y un serio problema de salud pública en el mundo entero **(Haake et al., 2000)**. Es causada por espiroquetas patógenas del género *Leptospira*, que afecta a una gran cantidad de huéspedes mamíferos, entre ellos humanos, equinos, caninos, porcinos, bovinos y animales silvestres **(Flannery et al., 2001)**. Los países más afectados son los ubicados en zonas tropicales y subtropicales, pues presentan condiciones como, precipitación fluvial, temperatura, humedad relativa así como el pH, estructura y la composición de suelo, que brindan comodidad al agente para vivir y multiplicarse.

La repercusión económica más importante en una explotación ganadera, es el fallo reproductivo en hembras posterior a la enfermedad, causando mortinatos, abortos o nacimientos de animales débiles. También es importante la pérdida económica asociada al “Síndrome de caída de la leche” o agalactia **(Ellis, 1983)**. A estas pérdidas, habría que añadir las originadas por desecho temprano, aumento en la tasa de eliminación de animales y el costo en concepto de tratamiento médico a los animales infectados.

Por encima de cualquier pérdida económica en ganadería, hay afectación al ser humano, y muerte en algunos casos. Hasta hace algunos años era considerada como una enfermedad de tipo recreacional, pero se ha demostrado que también está relacionada con el trabajo y malas condiciones de vida.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

La Leptospirosis suele diagnosticarse erróneamente por sus síntomas inespecíficos. Así ocurrió en el municipio de Achuapa, en León, Nicaragua (1995), donde se registró 40 defunciones de más de 2000 personas infectadas, siendo el primer diagnóstico Dengue hemorrágico, por compartir la sintomatología febril y hemorrágica con esta última.

Retos importantes para todos los países en los que la enfermedad es endémica (así como Nicaragua) son: educar a la población sobre la importancia de la higiene, controlar las poblaciones de ratas y ratones, y emprender de manera periódica estudios como el presente para conocer el estado epidemiológico en las zonas de mayor interés.

III. ANTECEDENTES

Durante un brote en octubre de 1995 en Achuapa, Nicaragua, se registró más de 2000 personas infectadas y 40 fallecidos; por ello se decidió analizar muestras de estas personas y de animales domésticos (bovinos, equinos, porcinos y caninos) cercanos a ellas, encontrándose que los animales portaban la espiroqueta y que los serovares coincidían con los encontrados en humanos.

En porcinos de El Sauce y Achuapa, Castillo y Urey reportaron seroprevalencia de 38% en muestras de cerdos procesadas mediante la Técnica de Microaglutinación (MAT); los serovares que sobresalieron son: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. lousiana* y *L. pomona* (Castillo y Urey, 2007).

En animales domésticos (bovinos, caninos, caprinos, equinos, porcinos y ovinos) de La Leona, Salgado indica prevalencia de 27.29% a través de la técnica MAT cuantitativo, siendo los serovares predominantes *L. serjoe* y *L. wolfii* en bovinos, *L. canicola* en caninos y equinos y *L. manhao* en porcinos a través de la técnica MAT cualitativo (Salgado, 2007).

En caninos de El Sauce y Achuapa, Sheleby detectó seroprevalencia de 41% en muestras procesadas mediante la técnica de MAT cualitativo; se encontró en mayor cantidad los serovares: *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae* (M20) y *L. grippotyphosa* (Sheleby, 2007).

En equinos de El Sauce y Achuapa, Vargas reporta seroprevalencia de 76% de reactores a la técnica MAT, encontrando como serovares predominantes *L. pomona*, *L. lousiana* y *L. icterohaemorrhagiae* (M20) (Vargas, 2007).

En bovinos de El Sauce y Achuapa, Marín expresa seroprevalencia de 36% utilizando la técnica MAT, obteniendo en mayor cantidad los serovares *L. pomona*, *L. hebdomadis* y *L. serjoe* (Marín, 2008).

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

En animales domésticos (bovinos, caninos, equinos y porcinos) de León, Chinandega y Estelí, Tenorio (2009) obtuvo 16.8% de aislamientos positivos, siendo la especie bovina la que presentó frecuencia más alta con 24% y 0% en equinos; detectando los serogrupos *L. sejroë* (60%), *L. pomona* (20%) y *L. canicola* (20%). De igual manera Tenorio (2009) informa que los serogrupos predominantes por especie fueron *L. sejroë* en bovinos, *L. canicola* en caninos y *L. pomona* en porcinos (**Tenorio, 2011**).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades infecciosas causan muertes en humanos y animales, además de repercutir financieramente en los individuos y poblaciones afectadas. Es aún más complicado cuando se desconoce el agente y dinámica de la enfermedad, y, por consiguiente, las acciones que se deben seguir para contrarrestarla. Esta situación se presentó en Nicaragua en 1995, cuando un brote de Leptospirosis provocó decenas de fallecidos y miles de enfermos en el municipio de Achuapa, departamento de León; hubo un elevado costo económico y expertos de la salud, nacionales y extranjeros, tratando diagnosticar una enfermedad no conocida en la zona.

Escenarios como éste justifican la necesidad de investigaciones en enfermedades zoonóticas, como Leptospirosis, a fin de encontrar directrices hacia el fortalecimiento de la Salud Pública; y proveer nuevos conocimientos a las autoridades y a la ciudadanía.

El conocimiento de la prevalencia y serogrupos circulantes de las enfermedades endémicas en Nicaragua es clave en la prevención, pues muestra de manera precisa cómo se disemina los agentes dentro de una zona o región determinada y sirve como base para crear medidas más efectivas.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál será la prevalencia de *Leptospira* y los serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua en 2011?

VI. OBJETIVOS

Objetivo general

1. Determinar la prevalencia de *Leptospira* y serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos en Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua en 2011.

Objetivos específicos

1. Identificar animales domésticos portadores de *Leptospira* a través de la técnica de Aislamiento.
2. Detectar serogrupos circulantes en animales domésticos utilizando la Técnica de Microaglutinación.

VII. MARCO TEÓRICO

1. Definición de Leptospirosis

La Leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa, aguda y febril causada por una bacteria del género *Leptospira* que afecta sobre todo a los animales salvajes y domésticos, que sirven como fuente de infección para el hombre, presenta una epidemiología compleja y de distribución cosmopolita, en la que varias especies, principalmente los roedores, actúan como hospederos de mantenimiento de muchas serovariedades en todo el mundo, siendo el hombre y los animales de explotación económica y social hospederos accidentales. **(Sandow y Ramírez, 2005).**

La Leptospirosis es una enfermedad infecto – contagiosa de carácter zoonótico **(Hutyra et al., 1973)**, de distribución mundial, producida por cepas patógenas del género *Leptospira*, incluida en las especies *L. interrogans* **(Ruiz, 1995)**; las cuales poseen las mismas características morfológicas **(Jubb y Kennedy, 1973)** y fisiológicamente uniforme, pero que serológica y epidemiológicamente son muy diversas **(Muñoz,1999)**; caracterizada por un estadio septicémico y otro lesional durante el cual pueden presentarse ictericia, hemorragias, albuminuria y meningitis. **(Adler et al., 1982)**; afectando varios órganos, entre los que se menciona riñón, ojo, cerebro, el aparato reproductor grávido y no grávido de los mamíferos. **(Kingskote, 1985)**

2. Sinonimias

La Leptospirosis se conocen por otros nombres tales como: enfermedad de Weil (*L. icterohaemorrhagiae*); Fiebre de los arrozales (*L. bataviae*); enfermedad de los henequeneros; enfermedad de los porqueros (*L. pomona*); enfermedad de los manipuladores de pescados, ictericia enzoótica; enfermedad de Stuttgart (*L. canicola* en Europa); ictericia hemorrágica; ictericia infecciosa; agua roja; fiebre de los 7 días (*L. hebdomadis* en Japón); fiebre otoñal japonesa (*L. autumnalis*); fiebre de los ratones; tifus canino; fiebre de cieno, fiebre de los pantanos

(*L. grippityphosa* en los trópicos) fiebre del agua; fiebre de los cosechadores; fiebre de los campos, etc. (**González et al., 1990; Ferguson, 1993; Bofill et al., 1996; Fresno, 1996**). Todas estas denominaciones han sido utilizadas para describir la enfermedad producida por *Leptospira* según sus características epidemiológicas, clínicas, territoriales, especies afectadas, estacionalidad, etc.

3. Historia

La Leptospirosis es una pandemia conocida desde 1886, año en que el médico Alemán Adolf Weil describió una enfermedad a la que denominó Ictericia Hemorrágica en Heidelberg entre trabajadores agrícolas alemanes (**Weil, 1886; Van der Hoeden, 1958**). No obstante, un síndrome idéntico aparentemente fue descubierto varios años antes en trabajadores de alcantarillados (**Landouzy, 1983**). La sabiduría tardía o posteriores consigna que la descripción de Leptospirosis icterica podría haber existido al principio del siglo XIX, algunos años antes de la descripción de Weil (**Faine, 1994**).

Los primeros casos de Leptospirosis en humanos sin conocer el agente los describieron Weiss en 1881 y Weil en 1886. Los científicos Japoneses Inada e Ido fueron los primeros en describir el agente causante de la enfermedad al comienzo del 1915 (**Everard, 1996**); aislado por vez primera por estos mismos investigadores pero en 1916, siendo nombrado *Spiroqueta icterohaemorrhagiae*, y luego renombrado *Leptospira* en 1917. También en 1917, Noguchi aisló en ratas pero en Nueva York, EE.UU. (**Noguchi, 1917**). En 1917, se describe la infección en ratas gris (*Rattus norvegicus*) por el mismo agente y se postuló su posible papel como transmisora de esta enfermedad al hombre (**Van der Hoeden, 1958; Michna, 1970; Amatredjo y Campbell, 1975**).

Es en 1933 es cuando se logra asociar a *Leptospira* como agente de una enfermedad en animales, ya que se demostró que *L. canicola* era el agente etiológico de la enfermedad Stuttgart en los perros (**Van der Hoeden, 1958**).

Michin y Azinov (1935) fueron los primeros en notificar la afectación de Leptospirosis en los bovinos en la antigua URSS, denominándola como Hemoglobinuria infecciosa aguda, y del agente aislado *L. icterohaemorrhagiae*. Estudios posteriores apuntaron a *L. grippityphosa* como responsable de aquella enfermedad. Freund, (1941) y Jungherr, (1944) notificaron en esta misma especie tanto en Israel como en los Estados Unidos de América respectivamente, quedando este último como la primera notificación en el continente Americano.

La primera descripción de Leptospirosis en equinos fue en la antigua Unión Soviética por Lubaschenko y Nowikowa, 1947 y desde entonces en Australia, Willington y Ferris, 1953; Yugoslavia, Zakarija, 1953; Hungría, Kasza y Kemenes, 1955; en los EE.UU. Roberts, Cork y Robinson, 1955 y Francia, Rossi y Kolochine – Erber, 1955 (**Hutyra et al., 1968**). Pero anteriormente, había notificación sobre la primera observación de *Leptospira* en el riñón de equino ya en 1934 (**Yamamoto, 1955**).

4. Importancia sanitaria y económica

Por estar distribuida por todo nuestro país y el mundo, la Leptospirosis tiene gran importancia sanitaria y económica.

Por los efectos sobre la producción animal, se le añade un importante aspecto sanitario donde en el ser humano está considerada una infección accidental (**Sullivan, 1974; Heath y Johnson, 1994**). Algunas prácticas laborales como los mineros, ganaderos, agricultores, deportistas acuáticos, trabajadores en mataderos, veterinarios etc., así como ciertas actividades recreativas que implican contacto con aguas posiblemente contaminadas de *Leptospira* pueden provocar enfermedad en ellos (**Pumarola, 1995; Bofill et al., 1996**).

En el área ganadera una de las repercusiones más importantes en la parte económica es el fallo reproductivo en las vacas, causando mortinatos, abortos o nacimiento de animales con pocas probabilidades de vivir, así como el descarte de animales que estuvieron enfermos. Sumado a esto, la disminución o cese en la

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

producción de leche. Además del riesgo sanitario, hay que tener en cuenta la vertiente económica derivada de los gastos originados por el cuidado médico de los pacientes, bajas laborales, pérdida de productividad y capacidad de trabajo, vigilancia y control de los lugares de trabajo, ropas especiales de protección, seguros médicos para el personal en riesgo, evaluación de vacuna, etc. (Faine, 1991; Benenson, 1992; Martínez et al., 1993; Peña, 1999).

5. Taxonomía y Clasificación por especies

Leptospira es una bacteria que pertenece al orden *Espiroqueta*, la cual es parte de la familia *Leptospiraceae*. El género de interés -*Leptospira*- consta de especies patógenas (agrupadas de acuerdo a estudios de hibridación de ADN) y saprófitas o no patógenas.

6. Origen taxonómico

División: *Procariontes*

Clase: *Schizomicete*

Orden: *Spirochaetales*

Familia: *Leptospiraceae*

Género: *Leptospira; Leptonema; Turneria*

(Holt et al., 1994; Perolat et al., 1998; Quinn et al., 2002)

7. Especies de *Leptospira*

Según Adler y de la Peña (2009) el Subcomité de Taxonomía en *Leptospiraceae* en sesión en Quito, Ecuador, decidió dar el estado de especie a los genoma – especies 1, 3, 4 y 5, previamente descritos, resultando una familia compuesta de 13 especies patógenas, con más de 260 serovares, y 6 saprófitas, que reúne a más de 60 serovares.

Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Patógenas	Saprófitas
<i>L. alexanderi</i>	<i>L. biflexa</i>
<i>L. alstonii</i> (genomospecies 1)	<i>L. meyeri</i>
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>L. yanagawae</i> (genomospecies 5)
<i>L. inadai</i>	<i>L. kmetyi</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>L. vanthielii</i> (genomospecies 4)
<i>L. fainei</i>	<i>L. wolbachii</i>
<i>L. kirschneri</i>	
<i>L. licerasiae</i>	
<i>L. noguchi</i> ,	
<i>L. santarosai</i>	
<i>L. terpstrae</i> (genomospecies 3)	
<i>L. weilii</i>	
<i>L. wolffii</i>	

8. Clasificación serológica

Antes del 1987, el género *Leptospira* fue dividida en dos especies, *L. interrogans*, que incluye todas las *Leptospira* patógenas y/o de vida parasitaria, y *L. biflexa*, especie en la que engloban todas las saprófitas aisladas del medio ambiente (Johnson, 1950; Faine y Stallman, 1982).

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

Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Cepario del CNDR/MINSA

Cepario Holandés		
Serogrupo	Serovar	Strains
1. <i>Australis</i>	<i>Australis</i>	<i>Ballico</i>
2. <i>Austramalis</i>	<i>Austramalis</i>	<i>Automomnalis Akiyami A</i>
3. <i>Ballum</i>	<i>Castellonis</i>	<i>Castellon 3</i>
4. <i>Bataviae</i>	<i>Bataviae</i>	<i>Swart</i>
5. <i>Canícola</i>	<i>Canicola</i>	<i>Hond Utrech. IV</i>
6. <i>Cynopteri</i>	<i>Cynopteri</i>	<i>3522 C</i>
7. <i>Grippotyphosa</i>	<i>grippotyphosa</i>	<i>MOSKVAV</i>
8. <i>Hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis</i>
9. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	<i>RGA</i>
10. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	<i>M20</i>
11. <i>Javanica</i>	<i>Javanica</i>	<i>Veldrad Batavia 46</i>
12. <i>Panamá</i>	<i>Panamá</i>	<i>C 22 14</i>
13. <i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>
14. <i>Pyrogenes</i>	<i>Pyrogenes</i>	<i>Salinem</i>
15. <i>Serjoe</i>	<i>Harjoe</i>	<i>Hardjoeprajitmo</i>
16. <i>Serjoe</i>	<i>Serjoe</i>	<i>M84</i>
17. <i>Serjoe</i>	<i>Wolfii</i>	<i>3705</i>
18. <i>Tarassovi</i>	<i>Tarassonvi</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>Icterohaemorrhagia</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	<i>Kantorowies</i>

Cepas de referencia de Cuba		
Serogrupo	Serovar	Strains
22. <i>Celledoni</i>	<i>celledoni</i>	<i>Celledoni</i>
23. <i>Shermani</i>	<i>shermani</i>	<i>Sheramani</i>
24. <i>Djasamin</i>	<i>djasamin</i>	<i>Djasamin</i>
25. <i>Mini</i>	<i>Mini</i>	<i>Sari</i>
26. <i>Louisiana</i>	<i>louisiana</i>	<i>LSU 1945</i>
27. <i>Ranaru</i>	<i>Ranaru</i>	<i>ICF</i>
28. <i>Manhao</i>	<i>Gingshui</i>	<i>L05</i>
29. <i>Sarmin</i>	<i>Sarmin</i>	<i>Sarmin</i>

9. Etiología

9.1 Agente

El término *Leptospira* proviene del griego lepto (fino) y spira (espiral).

Leptospira es una espiroqueta aerobia obligada, flexible, muy fina, helicoidalmente enrollada, y de gran movilidad, de 5 a 20 μm de largo por 0,1 a 0,5 μm de ancho (**Faine et al., 1999**). Es tan fina que puede pasar filtros que retienen a otras bacterias (0,1- 0,45 μm) (**Swain, 1957; Dikken y Kmety, 1978; Baseman, 1990; Faine, 1991**). Tiene extremos semicirculares en forma de gancho, aunque a veces uno o los dos extremos están doblados.

Al microscopio electrónico se observa que está constituida por: **una membrana externa o envoltura** (lípidos, proteínas, LPS) que rodea la pared celular de peptidoglucano; **dos flagelos periplasmáticos** (filamentos axiales) situados entre la membrana externa y la pared celular, fijos en ambos extremos de la bacteria, cuyos 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** (**Faine, 1991; Haake, 2000; Harstkeerl et al., 2000**).

Leptospira solo puede ser visible por microscopía de campo oscuro o de contraste de fase, pero no por microscopía de luz de campo brillante (**Johnson y Faine, 1984; González, 1989**). Aunque es una bacteria Gram negativa, no se tiñe fácilmente con anilina, pero sí por plata.

9.2 Medio

El pH óptimo de crecimiento es de 7,2 – 7,6 y a 28 – 30°C de temperatura en el medio ambiente. En condiciones de laboratorio se puede hacer crecer a temperatura de 15 – 18 °C; pero también en estas condiciones se utiliza ácidos grasos de cadena larga (Tween) como fuente de carbono y sales de amonio como fuente de aminoácidos metabolizados por Beta Oxidación (**Smibert, 1977**). Dichos

medios son enriquecidos con vitamina B₂ y B₁₂ para estimular el crecimiento (**Johnson y Faine, 1984; Benhnet y Plum, 1998**). Además, necesitan fósforo y algunos iones metálicos durante el período de incubación que es de 4 – 14 días, aunque para determinados serovares puede ser superior a 4 semanas (**Faine y Stallman, 1982; Faine, 1991**).

Los medios de cultivo pueden presentarse de tres formas: líquido, semisólido y sólido. Los medios sólidos son de uso menos frecuente que los otros dos. El medio líquido (Korrthoff, Stuart, Ellinghausen – McCullough – Johnson – Harris o EMJH) habitualmente es utilizado para el mantenimiento de cepas utilizadas en las pruebas serológicas (**Turner, 1970**). El medio semisólido (Fletcher) resulta adecuado para el mantenimiento de cepas de referencia. Tanto el medio líquido como el semisólido, son utilizados para el aislamiento a partir de muestras sospechosas.

En medio de cultivo líquido, el movimiento de *Leptospira* es de rotación rápida sobre su eje longitudinal. En medios semisólidos, el movimiento es en serpentina y horadación, y en medio sólidos reptan por la superficie (**Ginebra, 2001**).

9.3 Resistencia

La supervivencia de *Leptospira* depende ampliamente de variaciones del pH del suelo y las condiciones ambientales, ya sea temperatura o humedad relativa. Es sensible a la desecación, luz solar directa, pH ácido y alcalino (pH menor que 6 o mayor que 8 tiene carácter inhibitorio sobre el microorganismo). Temperatura menor de 13 o mayor a 35°C provoca su muerte.

Sustancias químicas con carácter leptospiricida son: fenol al 5 %, alcohol al 70 %, formol al 2%, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, soda cáustica al 2% durante 5 minutos, solución al 0,05 % de ácido sulfúrico en 5 minutos (**Arzumania, 1970; Hellstrom y Marshall, 1978; Regalado et al., 1992**). Sensible a sal común (2,8%), bilis, putrefacción y a la mayoría de los antibióticos *in vitro* o *in*

vivo como la penicilina, estreptomycin, aureomicina y los grupos macrólidos (**Van der Hoeden, 1958; Michna, 1970; Thiermann, 1984**).

Si en la orina hay una reacción ácida, las espiroquetas de *Leptospira* presentes en ellas pronto sucumben (**Van der Hoeden, 1958**). *Leptospira* vive en orina débilmente básica como la del cerdo, vaca y equino durante diferente período, sin embargo, en orina ácida (carnívoros) mueren rápidamente (**Halasa, 1967**).

Para la supervivencia en el medio ambiente necesita humedad alta en el suelo, temperatura de 25 °C, agua con pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de materia orgánica (**Timoney et al. 1988; Prescott, 1993**). Cabezas et al., (1981) pudieron demostrar que *L. pomona* y *L. canicola* superan los 10 días de supervivencia en orina de cerdo y aguas contaminadas, mientras en aguas naturales es superior a 20 días.

En suelo con todas estas condiciones y saturado, pueden vivir hasta 183 días y en suelo seco 30 minutos (**Hellstrom y Marshall, 1978**). En agua estéril pueden vivir hasta 3 meses o más, en aguas alcalinas vive semanas, en lagunas varias semanas, en orina alcalina más de 16 días y en nitrógeno líquido 32 meses (**Bombinbre y López, 1998**). También hay reportes de supervivencia en leche refrigerada por los menos 3 días (**Michna, 1970**) y leche adulterada con agua puede sobrevivir hasta 60 días (**Van der Hoeden, 1958**). En tejidos no contaminados y guardados a 4 °C pueden sobrevivir a varias semanas, en sangre no coagulada y defibrinada mantenida a temperatura ambiente (20–25 °C) sobreviven durante semanas. En las congelaciones rápida y a -70 °C pueden mantenerse más de 5 años en cultivos, así como en sangre y tejidos contaminados (**Ginebra, 2001**).

Se ha demostrado que *Leptospira* pueden sobrevivir 9 días en músculo, 13 días en los riñones, 12 días en el hígado y 8 días en el bazo luego de la muerte del animal (**Wesselinoff et al., 1962**).

Michna (1970) encontró que *Leptospira* era capaz de sobrevivir 518 días en el interior de garrapatas *Ornithodoros turicata* y por lo menos 26 días en el intestino de moscas no hematófagas.

Leptospira es resistente a ácido nalidíxico, propiedad que puede utilizarse en la elaboración de medios de crecimiento para controlar la proliferación de otros microorganismos.

10. Epidemiología

La Leptospirosis es una zooantroponosis distribuida por todo el mundo. El estudio de la epidemiología es complejo por el gran número de factores que influyen en su presentación, lo que dificulta la extrapolación entre las diferentes regiones geográficas y obliga el conocimiento individualizado de cada zona. Las distintas cepas patógenas de *Leptospira* pueden afectar potencialmente a los mamíferos, donde algunos actuarán como hospederos de mantenimiento o accidental en función del serogrupo o serovar considerado.

11. Especies susceptibles

Las especies de mayor importancia económica son bovinos, equinos, cerdos, ovejas y cabras; también afecta en mayor o menor grado a otros animales domésticos y salvajes como perros, venados, mapaches, murciélagos, peces, reptiles, ranas, conejos, zorros, ratas y ratones, etc. **(Sullina, 1974; Blood, et al., 1982; Thiermann, 1984; Bofill, et al., 1996).**

Las especies susceptibles de mayor importancia económica son bovinos, equinos, porcinos, ovinos y caprinos; pero también afecta a otros animales domésticos y salvajes como perros, gatos, venados, mapaches, murciélagos, peces, reptiles, ranas, conejos, zorros, etc. **(Sullina, 1974; Blood, et al., 1982; Thiermann, 1984; Bofill, et al., 1996).**

12. Hospedador de mantenimiento

Es aquel que asegura la perpetuación de una población determinada de agentes, sin la intervención de ningún hospedero accidental; es decir, será aquella especie animal que actúa como un reservorio continuo de un serovar, en un ecosistema determinado. Una o varias especies de mamíferos domésticos o salvajes actúan de hospedadores de mantenimiento de cada serovar o serogrupo de *Leptospira* patógena **(WHO, 1965)**.

La complejidad de la epidemiología de la Leptospirosis es basada en el gran número de especies mamíferos (roedores, carnívoros, marsupiales, etc.), que tienen la capacidad de mantener una amplia variedad de serovares **(Michna, 1970)**.

Los hospedadores de mantenimiento tienen las siguientes características:

- Gran receptividad a la infección por el serovar frente al que se mantiene como hospedadores (dosis infectiva es menor).
- Relativa baja patogenicidad del microorganismo en el hospedero.
- Presencia de infección renal con leptospiruria prolongada.
- Infección crónica.
- Transmisión eficaz de la infección a los animales de la misma especie por contacto directo.
- En algunos hospedadores se mantiene *Leptospira* en el tracto genital **(Babudieri, 1958; Ellis, 1983; Ellis, 1986; Little, 1986; Pritchard, 1986; Timoney et al., 1988; Prescott, 1993)**

La transmisión de la infección entre hospederos de mantenimiento se realiza independientemente de las condiciones climáticas y ambientales. Sin embargo, en el caso de la transmisión entre hospederos de mantenimiento y accidental o entre accidentales, se hace necesario la supervivencia del agente en el medio ambiente para poder efectuar la infección **(Thiermann, 1984; Prescott, 1993; Ellis, 1994)**.

13. Hospedadores accidentales

Cualquier especie mamífero puede ser hospedador accidental de *Leptospira*. Las características más importantes de estos durante la infección de *Leptospira* son:

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

(K. Sandow y W. Ramírez, 2005)

14. Distribución geográfica

La Leptospirosis es una enfermedad establecida a nivel mundial. En teoría, cualquier mamífero puede infectarse por cualquier serovar; sin embargo, solo algunos serovares pueden considerarse como endémicos y enzoóticos en una zona.

15. Fuentes de infección

Para el hombre la principal fuente de infección la constituye la orina de animales enfermos y reservorios naturales, pero también juegan papel importante aguas contaminadas, leche cruda, descarga vaginal y abortos de animales infectados.

(K. Sandow y W. Ramírez, 2005).

Es considerada una enfermedad de ocupación y de ocio, es por eso que todas aquellas actividades que relacionen al humano con hospedadores de mantenimiento o accidentales, sus secreciones y todos los lugares u objetos contaminados por estos hospedadores, son considerados un foco de contaminación.

Para los animales, constituye la orina de animales infectados, asintomáticos y portadores; también el agua, leche, forrajes, pastos, tejidos de animales, descargas posparto, saliva, semen, instrumentos quirúrgicos así como vectores

siendo los roedores (ratas y ratones) los más importantes por su condición de reservorio natural (**Van der Hoeden, 1958; Michna, 1970; Timoney et al., 1988**). También se ha considerado las garrapatas, aves e insectos caseros como vectores.

Agua: *Leptospira* puede sobrevivir hasta 22 días en el agua de condiciones óptimas, sin perder su capacidad infectante. Puede sacar provecho de temperaturas altas o bajas; en las primeras disminuyen su tiempo de supervivencia, pero se favorece la multiplicación; en las segundas disminuye la multiplicación, pero aumenta su tiempo de supervivencia. Como las infecciones por este agente ocurren principalmente en zonas con abundante cantidad de agua; en áreas pantanosas o de campo anegado, los brotes son frecuentes en épocas de lluvia y en climas templados (**Covaleda et al., 1953; Prescott, 1993**).

Orina: A pH óptimo la espiroqueta vive en orina y esta sirve de medio de infección para humanos y animales. Los bovinos tienen la orina perfecta para la supervivencia del agente, por tener un pH alcalino; no así el humano, ratas y ratones, lo que lleva a muchos autores a afirmar que tiene que estar diluida para que *Leptospira* pueda estar en ella.

Leche: La eliminación de *Leptospira* a través de la leche de muchos animales ha sido notificada, pero la presencia de sustancias antimicrobianas en esta hace que su supervivencia sea muy corta.

Tejido animal: El tiempo de supervivencia depende del pH post - mortem del cuerpo y de la interacción con otras bacterias ante la contaminación.

Descargas posparto: Se ha detectado que *Leptospira* sobrevive hasta 8 días después del parto. Descubrieron la posibilidad de infección por contacto con las descargas uterinas posparto y posaborto.

Saliva: Se comprobó la posibilidad de infección en el humano tras mordeduras de animales como el perro o la rata. Además se sospecha de la infección por lamidos de perros contaminados.

16. Factores asociados a la infección

16.1 Dependientes del agente etiológico

- Resistencia a condiciones medioambientales:
 - Humedad relativa alta
 - pH neutro o ligeramente alcalino
 - Temperatura entre 28 y 30°C
 - Presencia de materia orgánica
 - Presencia de ríos o lagos en los que se reúnen humanos y animales.
 - Estación climática del año (invierno en zonas tropicales y sub tropicales).
- Capacidad infectante: Estudios revelan que la capacidad infectante y la patogenicidad varían de acuerdo al serovar o serogrupo.

16.2 Dependiente del hospedador

- Edad: En bovinos se calcula que la morbilidad en adultos es de 75% y hasta 100% en terneros, siendo la letalidad de estos últimos de 5%. Se sabe que en adultos el 72% de los individuos se ha encontrado seropositivo con anticuerpos a *Leptospira*, relacionándose con el estado de portador.
- Gestación: El aborto se produce entre los 6 y 9 meses, y es provocado por serovares accidentales.
- 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 (**Ellis, 1983**). Además, el aumento de inmunoglobulinas en orina (IgA e IgM) hace disminuir la cantidad de *Leptospira* en ésta.

16.3 Dependientes del medio

- Alimentación: Alimentos ricos en carbohidrato disminuyen el pH del organismo, lo que provoca poca eliminación de *Leptospira* en la orina.
- Infecciones concurrentes: Después de una infección cualquiera, aumenta la probabilidad a contraer la enfermedad.
- Manejo: Prácticas como la separación temprana de terneros de sus madres y el hacinamiento de animales aumentan la probabilidad de contraer Leptospirosis.

17. Vías de transmisión

17.1 Horizontal

➤ Horizontal directo

- Vía venérea: Se considera esta forma después de haber sido encontrada *Leptospira* en el semen de un toro y de haberse diagnosticado en una mujer luego de tener relaciones sexuales con su pareja durante la fase de leptospiuria.

Gran relevancia en el lamido de genitales de un animal a otro, frecuente en las reuniones de estos individuos, y que sin duda llevará a enfermedad y diseminación futura del agente.

- Núcleos goticulares: Las gotitas de orina pueden viajar varios metros, y de esta manera un animal en estado de leptospiuria alcanzará a uno o varios animales sanos y se producirá la infección.
- Horizontal indirecto: Desempeña un papel fundamental en las infecciones accidentales, pues se produce tras la exposición al ambiente con material infectado (**Ellis, 1994**).
- Fómites: Se da por contacto de individuos infectados o algunas de sus secreciones con agua, pasto, alimentos y/o suelo, y el producto del acercamiento de individuos sanos a estos.
- Vectores: Muchos autores no dudan del papel de diversos insectos en la transmisión del agente tras picaduras.

17.2 Vertical

- Transplacentaria: El agente puede atravesar la placenta durante el estado de leptospiremia y llegar al feto; o si esto no se ha dado, contaminar durante el parto.
- Galactófora: *L. pomona* y *L. hardjo* pueden cursar con Mastitis clínica y de esta manera eliminar el agente a través de la leche e infectar al ternero. En humanos se tiene registro de algunos casos de infección.

18. Patogenia

Leptospira es un agente muy invasivo, lo que logra con la producción de enzimas y con sus características físicas asociadas al transporte; así alcanza sitios normalmente muy protegidos como el líquido cefalorraquídeo y el ojo. En cuanto a la capacidad lesional se sugiere factores tóxicos (hemolisinas, fibrolisinas, lipasas) y endotoxinas (catalasas, hialuronidasas).

La espiroqueta penetra el organismo animal o humano vía oral, conjuntival, nasal, genital; o bien, a través de piel macerada o reblandecida por el agua. Se difunde a partir del sitio sin dejar lesión y toma el torrente sanguíneo, multiplicándose en este y en el parénquima hepático durante un período de incubación de 2 – 30 días y provocando el estado de leptospiremia por al menos 7 días. Se produce daño en el endotelio de vasos sanguíneos pequeños, generando isquemia en órganos (hígado, bazo o cerebro) y sus consecuentes daños funcionales, resultando en necrosis de los túbulos renales, daño hepatocelular y pulmonar, meningitis, miositis, placentitis, esplenomegalia, entre otros; paralelo a esto hay pirexia, anorexia, eliminación de *Leptospira* en la leche, etc.

Los signos de la enfermedad aguda generalmente coinciden con la fase de leptospiremia (**Ellis, 1994; Heath y Johnson, 1994**), donde estos pueden atribuirse a la existencia de determinados factores de patogenicidad bacteriana, como las hemolisinas y las lipasas (**Timoney et al., 1988; Heath y Johnson, 1994**) siendo la primera causa de la anemia (**Timoney et al., 1988; Prescott,**

1993). Estos factores son más frecuentes en determinados serovares como *pomona* o *grippityphosa* (**Timoney et al., 1988**). Más tarde, se le suma la acción de los anticuerpos situados en la superficie eritrocitaria que sensibilizan al eritrocito, causando su rotura -anemia- (**Timoney et al., 1988; Prescott, 1993**). Según Prescott (1993) la hemólisis producida por las hemolisinas y el daño hepatocelular son las causas de lesiones isquémicas y tóxicas, que generan ictericia.

La aparición de anticuerpos específicos detectables aproximadamente a los 10 días de la infección (**Ellis, 1994**) junto a la acción leptospiricida de las Beta-macroglobulinas del suero y la acción del complemento y la lisozima (**Timoney et al., 1988**), hacen que desaparezca *Leptospira* del torrente sanguíneo (**Michna,1970; Ellis, 1994**) pero, se localizan en diferentes órganos, tales como: la cámara anterior del ojo, las meninges y los riñones (donde los anticuerpos tienen poco acceso) y en el útero grávido.

Tras esta fase, las espiroquetas de *Leptospira* se acantonan en los riñones, lugar al que los anticuerpos no pueden penetrar por su gran tamaño; la localización en los túbulos renales se ve ayudada por la producción de ureasas por parte de las bacterias, luego que se multiplican en la luz de los túbulos contorneados. La nefritis que continua, provocada por el daño capilar y la producción de endotoxinas y hemolisinas, terminan por producir anoxia y nefrosis; además de hemoglobinuria por la agregación intravascular de hemoglobina que obstruye los capilares y también por la presencia de mononucleares infiltrados por una reacción autoinmune.

Continúa la fase de leptospiuria, la que puede ser continua o intermitente y de duración variable según la especie. En bovino puede demorar hasta 7 meses; equino de 2-3 meses, el cerdo hasta un año; en perro 6 meses o más; roedores toda la vida (**Pelezary, 1976; Jawetz et al., 1985; Bofill et al., 1996**).

La localización del agente en el hígado y humor acuoso complica el cuadro clínico. En hembras gestantes la fiebre y la reacción sistémica general son la causa de aborto, por el paso de hemolisina y otras toxinas a través de la placenta y la consecuente destrucción de eritrocitos fetales y cambios degenerativos microscópicos en la placenta interfieren en el intercambio fisiológico entre la madre y el feto, pudiendo originar la muerte fetal (**Baskerville, 1986**). Siempre hay que tener en cuenta que, en algunos casos, la aparición del aborto es muy posterior al momento de la infección (**Timoney et al., 1988; Ellis, 1994; Heath y Johnson, 1994**).

Por último, la uveítis recurrente en equinos parece involucrar la producción de anticuerpos contra el antígeno leptospiral en reacción cruzada con tejidos oculares (**Parma et al., 1987; Luchéis y Parma, 1999**). El daño de la retina con uveítis tiene una relación con la presencia de linfocito B en la retina (**Kalsow y Dwyer, 1998**).

19. Sintomatología

El período de incubación es generalmente de 2 – 30 días. Los síntomas son muy variables en dependencia de la especie, el serovar, virulencia del germen y el estado inmunitario del hospedador.

19.1 Humano: Se puede presentar como una leve infección, un cuadro anictérico (90 – 95% de los casos) o de forma ictérica (5 – 10% de los casos).

➤ **Anictérica:** Se presenta de forma brusca y suele durar 7 días, presentando los siguientes síntomas: fiebre (puede ser bifásica), cefalea, escalofríos, postración, mialgias (principalmente pantorrillas y región lumbar), nauseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, astralgia y a veces meningitis aséptica.

➤ **Ictérica:** Es la forma más severa dependiendo del serogrupo. Los síntomas son irritación conjuntival, irritación meníngea y rigidez de la nuca, insuficiencia renal, ictericia, manifestación hemorrágica intestinal o pulmonar, arritmia o

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

insuficiencia cardiaca o disnea y a veces hemorragia generalizada (**Weil, 1886; Van Thiel, 1948**).

19.2 Bovino

- **Frustrada:** Hay hemoglobinuria, sin ictericia y posteriormente recuperación.

- **Sobreaguda:** Se caracteriza por la aparición repentina de fiebre alta, hemoglobinuria, ictericia (**Prescott, 1993; Ellis, 1994**), disnea por congestión pulmonar (**Prescott, 1993, Guijarro y Calvo, 1999**), anorexia, altos niveles de urea en sangre y de albúmina y bilirrubina en orina (**Michna, 1970; Prescott, 1993; Ellis, 1994; Heath y Johnson, 1994**). 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) (**Michna, 1970; Bofill et al., 1996; Perdomo y Garin, 2002**). Los serovares que más causan esta forma son: *L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. autumnalis* (**Guijarro y Calvo, 1999**).

- **Aguda:** Usual en terneros y casi siempre mortal. Presenta anorexia, laxitud, fiebre, 40.5 - 41.5 °C., a continuación hemoglobinuria, ictericia, septicemia, hemorragias petequiales en todas las membranas mucosas, anemia (**Blood et al., 1982; Chamizo, 1997 y 1998; Merck, 2000**). Puede presentar diarreas sanguinolentas y/o amarillentas con olor fétido; aunque más tarde estreñimiento. Rara vez afecta a los adultos.

- **Subaguda:** Igual que la aguda, pero menos severa; puede ser subclínica excepto en los animales gestantes o en lactación, provocando abortos y síndrome de la caída de la leche; esta podría parecer el calostro, o contener coágulos de sangre y el recuento de sus células blancas son muy altos. Podría haber ictericia, disminución de la rumia, fiebre (39 - 40.5 °C), anorexia; se ha

observado meningitis y dermatitis necrótica. El aborto puede ocurrir de 3-4 semanas después de la infección.

- **Crónica:** Casi siempre relacionada con *L. hardjo* o *L. pomona*. Caracterizada por abortos, retención de placenta, mortinatos, nacimientos de animales débiles (**Michna, 1970, Ellis, 1994; Bofill et al., 1996; Vanasco et al., 2000**). Según Chamizo (1998) el aborto puede ocurrir entre los 6-9 meses y el animal elimina el germen por la orina durante un largo período.

19.3 Cerdo: Comúnmente inaparente. Cursa con anorexia, perturbación del equilibrio, rara ictericia, hemoglobinuria, convulsión, trastornos gastrointestinales, parálisis progresiva, disminución del peso y producción láctea (**Fernández, 1999**).

- **Aguda:** Tiene similitud con lo descrito en terneros, con la excepción de haber alta mortalidad con *L. icterohaemorrhagiae*.
- **Crónica:** Es la de más connotación por sus síntomas, pues presenta abortos, nacimientos de animales débiles e infertilidad. Casi siempre la causa es *L. pomona*.

19.4 Ovino – caprino: Es muy raro en estos animales, especialmente en caprinos. Muchos de estos aparecen muertos aparentemente por septicemia (**Davidson y Hirsh, 1980**). Animales enfermos presentan fiebre, anorexia, disnea, ictericia, hemoglobinuria, palidez de la mucosas, infertilidad, nacimiento de crías débiles o muertos y aborto (**Perdomo y Garin, 2002**).

Puede presentarse forma crónica con pérdida de la condición corporal, pero el aborto parece ser una manifestación exclusivamente asociada a la forma aguda de la infección de *L. pomona* y *L. hardjo* (**Andreani et al., 1975**).

19.5 Caninos y felinos: Hay desde ausencia de signos clínicos hasta leve síndrome icterohemorrágico (casi ausente en gatos), con hemorragia repentina y fiebre de 3 – 4 días seguida de rigidez y mialgia en miembros posteriores. Hemorragia en cavidad bucal con tendencia a necrosis y faringitis; además de posible gastroenteritis y nefritis aguda.

19.6 Equino: Si no cursa de modo asintomático, presenta fiebre, ictericia, hemoglobinuria, necrosis de la piel y los labios, conjuntivitis con edema en los párpados, lagrimeo y fotofobia, algunas veces se hay abortos en el último tercio de la gestación. Se presenta hepato – nefritis.

20. Lesiones anatomopatológicas

Las lesiones dependen del serovar implicado y de la especie afectada. Usualmente se observa ictericia, necrosis de la piel de ollares, cavidad nasal y bucal.

En la necropsia se observa acúmulo de líquido serolo-gelatinífero rojizo en el tejido subcutáneo, hígado hipertrófico y palidez hepática, o color amarillenta, vesícula biliar llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro (**Pérez et al., 1982**), bazo de tamaño normal o ligero de color amarillento (**Pérez et al., 1982**), lesiones muy variables desde lesiones blanco amarillento en la superficie o focos hemorrágicos en pulmón (**Pérez et al., 1982; Thiermann, 1984**).

Músculo cardíaco degenerado y en algunos puntos hay hemorragias, riñones edematosos de color rojizo o pardo oscuro con nefritis intersticial, lesiones necróticas e ictéricas por toda la superficie, además de hemorragia (**Pérez et al., 1982; Thiermann, 1982**).

La vejiga llena de orina turbia o rosada, los ganglios tumefactos y la mucosa intestinal pueden estar inflamadas (**Chamizo, 1997**).

En los fetos abortados se observa congestión generalizada y deposiciones líquida **(Ellis, 1994; Fernández, 1999)**.

También se puede encontrar ictericia, mastitis, fluido libre en cavidades corporales, lesiones petequiales dispersas, edema perineal, nódulos linfáticos aumentados de tamaño, bilis de consistencia pastosa y color negruzco **(Michna, 1970; Pérez et al., 1982; Thompson y Manktelow, 1989)**.

21. Respuesta inmune

Tras la infección se produce una elevación de las IgM, con niveles detectables después de algunos días de pasada la etapa febril (etapa febril sucede durante la bacteremia). Las IgM, aunque no destruyen a las bacterias, dificultan su multiplicación y también hacen que disminuyan en cantidad. Es cuando comienzan a detectarse las IgG específicas, que sí lisis de las espiroquetas de *Leptospira*.

Las IgM alcanzan su pico a las 3 – 4 semanas y las IgG a las 4 – 12 post - infección; ellas persisten durante años en el animal.

Se puede detectar IgM en orina a las 6 semanas; además, los animales presentan una respuesta inmune local, por lo que también se detecta IgA hacia las 12 semanas.

En la mayoría de los casos, durante el aborto los niveles de anticuerpos son bajos o incluso negativos **(Ellis, 1986)**, creando confusión en momento de establecer un diagnóstico.

22. Diagnóstico

Este proceso puede ser complicado por las características del agente y la epidemiología de la enfermedad. Es por esto que resulta conveniente combinar los tres tipos de diagnósticos: el epidemiológico, el clínico y el laboratorio

22.1 Diagnóstico epidemiológico: Cuando sucede un brote tanto en humanos como animales y los síntomas son compatibles con Leptospirosis, se debe tomar en cuenta los siguientes aspectos:

➤ Humanos:

- Edad
- Sexo
- Dirección
- Ocupación
- Síntomas clínicos
- Hospitalización (sí/no)
- Antecedentes y lugar de exposición (contactos con animales, ambiente)
- Factores climáticos: precipitación, temperatura, inundación, desastres naturales
- Número de casos
- Fecha del diagnóstico
- Datos microbiológicos y serológicos

(Savio y Lindner, 2002).

➤ Animales:

- Época del año en que ha aparecido el brote, con especial atención a condiciones climáticas: precipitación, temperatura, humedad relativa, etc.
- Aptitud del rebaño
- Manejo y estado sanitario de la explotación incluyendo entrada de animales nuevos, manejo de la cría, alimentación, etc.
- ¿Los cruces se hacen por monta natural o por inseminación artificial?
- Presencia de otras especies domésticas.
- Control de animales silvestres portadores.
- ¿Se comparte comederos y bebederos con otros animales?
- Edad y sexo de los animales afectados
- Síntomas y signos clínicos.
- Antecedentes de Leptospirosis.

- Si se realiza vacunación adecuada contra Leptospirosis. **(Alonso – Andicoberry et al., 2001).**

22.2 Diagnóstico clínico: Es de carácter presuntivo y se realiza a través de los signos y síntomas en animales y humanos. Se incluye las lesiones anatomopatológicas.

22.3 Diagnóstico laboratorial: Se basa en el conocimiento de las características del agente y la patogenia de la enfermedad. Las técnicas bacteriológicas son complejas, pero ofrecen resultados importantes, como observación, aislamiento e identificación del microorganismo.

Los métodos de laboratorio se dividen en: técnicas indirectas (se detecta los anticuerpos anti - *Leptospira*) y técnicas directas (se detecta el antígeno o *Leptospira*).

De los animales vivos, se envía 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 **(Ellis, 1996)**. De 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.) **(Ellis, 1986; Chamizo, 1997)** y la vejiga y su contenido, humor acuoso, aborto y contenido estomacal **(Bofill et al., 1996)**.

En humanos, durante el período de leptospiremia, los productos patológicos útiles son sangre (pareadas) y líquido cefalorraquídeo (durante la primera semana) y la orina en la segunda o tercera semana.

Las muestras post - mortem más adecuadas son: riñón (corteza), hígado, bazo, así como sangre de corazón, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, líquido

peritoneal, cerebro, fetos abortados, semen y leche materna. Deben preservarse congelados en glicerol, divididos en partes iguales (**Ginebra, 2001**).

Es de interés recoger muestras de agua y suelos; y en caso de epizootias, sangre, riñón e hígado de roedores u otros animales silvestres capturados.

22.3.1 Técnicas indirectas: Nos brindan un diagnóstico en corto tiempo y son capaces de detectar anticuerpos anti - *Leptospira* de tipo IgM e IgG, convirtiéndose en los métodos de elección. El problema con estos es que después de años, los individuos infectados disminuyen las cantidades de anticuerpos, haciéndose casi indetectables para las pruebas; además que en casos de infección con serovares modificados puede no haber respuesta con anticuerpos.

Para el diagnóstico serológico se ha utilizado técnicas tales como: Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT), Prueba de Microaglutinación Microscópica con Antígeno Muerto (MSAT), Aglutinación Macroscópica, Prueba Hemolítica, Fijación de Complemento, Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) y PCR (**Heinemann et al., 2000; Veloso et al., 2000; Arias et al., 2002; Fernández et al., 2002; Greenlee, 2002**).

22.3.1.1 Prueba de Microaglutinación (MAT): Es el método serológico de referencia para el diagnóstico de Leptospirosis y es el más usado. Se emplea para detectar anticuerpos de animales o humanos sospechosos o enfermos, en el cual el suero de estos reacciona con antígenos vivos de *Leptospira* en medio líquido en EMJH con enriquecimiento.

El MAT fue ideado por Martin et al., en 1917 y en 1918, Martin y Pettit lograron describir el fenómeno de aglutinación y "lisis" con suero (**Hartskeerl et al., 2000**). Desde la fecha, el método ha sido modificado y mejorado a fin de estandarizar factores como tiempo y temperatura de incubación, el punto de corte, la concentración del antígeno y la edad de siembra.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Para realizar la prueba se utilizan cultivos de cuatro a ocho días de edad cuya suspensión produzca una transmitancia del 60 – 70% en un espectrofotómetro a 400 nm de longitud de onda (**Ellis, 1996**). Además se determina el título de corte, por debajo del cual se considera que las reacciones se deben a reacciones inespecíficas. El valor del título de anticuerpos del suero será la dilución más alta en la cual aún encontramos 50% de aglutinación. El punto de corte más recomendado es el título 1:100 en bovino (**Ellis, 1986, Timoney et al., 1988, Heath y Johnson, 1994**); para caninos, ovinos, porcinos y equinos se considera positivo un resultado superior a 1:50 (**Herrera, 2002**), Blood et al., (1982) consideraron 1:100 positivo también para porcino. En algunos casos el 1:100 en bovinos no es adecuado, principalmente en infecciones por serovares adaptados; en caso de abortos 1:40 se considera diagnóstico.

Para diagnosticar una infección individual mediante MAT, se requiere estudiar dos muestras pareadas con intervalo de 7 – 14 días la una de la otra; y si en la segunda hay seroconversión de al menos cuatro veces el título de la primera, se considera reactor.

Presenta una serie de desventajas:

- No distingue anticuerpos vacunales de anticuerpos de infección.
- Su estandarización resulta difícil, ya que su valoración es subjetiva.
- Requiere el mantenimiento de cultivos de *Leptospira*.
- No siempre detecta a los individuos infectados, especialmente cuando el serovar es *L. hardjo*, pues es poco antigénico. (**Ellis et al., 1981; Faine, 1982**).

22.3.1.2 Prueba de Aglutinación Microscópica con Antígeno Muerto (MSAT): Se trata de *Leptospiras* formoladas y centrifugadas, suspendidas a una cierta densidad estándar, en medio de antígenos de varios serogrupos. La aglutinación producida puede leerse a simple vista y es semicuantitativa.

Es menos específica que MAT, tiene menos nivel de títulos obtenidos, mayor reacción cruzada. Igual que MAT; tiene una buena reacción a la infección temprana, pero no distingue la reacción reciente de la tardía.

22.3.1.3 Fijación del Complemento (FC): Es una prueba género – específica que emplea como antígenos los de *L. biflexa*. Es de diagnóstico rápido y tan fiable como MAT para animales en leptospirosis, aunque menos laboriosa; sin embargo, detecta solo animales con infección reciente.

Las desventajas son las sustancias anti - complementarias del suelo, la corta vida e inestabilidad del antígeno, no diferencia serovares y además no detecta títulos bajos de anticuerpos en el suero.

22.3.1.4 ELISA: Técnica que sí permite la diferenciación de anticuerpos en la leche o el suero. Es capaz de detectar IgM en la primera semana de la enfermedad, o bien IgG que distingue infecciones recientes de pasadas. La detección de anticuerpos específicos IgM con una sola muestra confirma una infección reciente por *Leptospira*, además de considerarse más sensible que MAT.

Es fácil de estandarizar, los antígenos pueden almacenarse durante meses, no tiene ningún riesgo para los técnicos (**Hartmann, 1986**) y poca reacciones cruzadas (**Thiermann y Garret, 1983**), pero tampoco diferencia los anticuerpos vacunales de las infecciones (**Thiermann, 1983**). A pesar de que es una prueba muy eficaz, aun no está considerada como prueba oficial.

22.3.1.5 Aglutinación Macroscópica: Se desarrolló para evitar los problemas derivados del mantenimiento de cepas vivas de *Leptospira* en el laboratorio. Pocos autores la recomiendan debido a su falta de sensibilidad y porque no es capaz de determinar el serovar (**Faine, 1982; Ellis, 1986**).

22.3.1.6 Aglutinación en Microcápsula: Se utiliza antígeno leptospiral transportado en microcápsulas de un polímero sintético. Los autores la consideran como una prueba muy específica y sensible (**Arimitsu et al., 1982**). En una evaluación internacional fue más sensible que MAT o ELISA-IgM en la fase aguda de la enfermedad (**Arimitsu et al., 1994**).

22.3.1.7 Hemoaglutinación Indirecta (HA): Es una prueba serológica género-específica de alta sensibilidad y solamente detecta las IgM (**Sulzer, 1975**). Utiliza eritrocitos de ovejas o del grupo sanguíneo O humano. A pesar de que siempre se ha considerado de utilidad, no ha llegado a desplazar a la técnica MAT.

22.3.2 Técnicas directas: Demuestran la presencia de *Leptospira* en tejidos o fluidos de humanos y animales.

22.3.2.1 Observación en Microscopio de Campo Oscuro: Se utiliza para la observación de *Leptospira* en fluidos orgánicos. Sus inconvenientes son la existencia de muchos artefactos con similitud al agente y la necesidad de un gran número de agentes en la muestra.

22.3.2.2 Tinción Argénica: Dentro de este grupo se considera diferentes técnicas, como: la técnica de Warthing - Starry y sus modificaciones y la técnica de Steiner y Steiner (**Faine, 1982**). Se utiliza para la demostración búsqueda del agente en órganos de animales presuntamente muertos por *Leptospira*. Además de su baja especificidad y sensibilidad (**Baskerville, 1986; Ellis, 1996**), presenta las mismas inconveniencias que la anterior.

22.3.2.3 Técnicas de Inmunohistoquímica: Poseen baja sensibilidad, siendo poco adecuados para el diagnóstico de portadores crónicos; necesitando de cantidades importantes del agente.

22.3.2.3.1 Inmunofluorescencia: Esta técnica es más adecuada que las anteriores. Comúnmente utilizada para detección del agente en abortos y en sedimentos de orina. El inconveniente es el requerimiento de producción de antisueros policlonales de alta calidad y el uso de microscopio de fluorescencia.

22.3.2.3.2 Inmunoperoxidasa: Más rápida y factible que la anterior, al no necesitar microscopio especializado.

22.3.2.3.3 Marcado de partículas de oro: Poco sensible y dependiente de la cantidad de microorganismos.

22.3.2.4 Técnicas de Detección y Estudio de Ácidos Nucleicos: Métodos nuevos que aún precisan más estudio. Comprende: Marcado con Sondas de ADN, Hibridación de ARN, Marcado con Radio y PCR; tienen mayor efectividad en la orina (**Van Eys et al., 1989; Arimitsu et al., 1994; Brown et al., 1995; Zuerner et al., 1995; Wagenaar et al., 2000**).

22.3.2.5 Aislamiento: A pesar de requerir mucho tiempo y de laboratorios especializados, es considerada la técnica más sensible para el diagnóstico de *Leptospira*; además de confirmar la presencia del agente en casos agudos o crónicos.

23. Diagnóstico diferencial

Es necesaria una buena anamnesis que cubra antecedentes individuales y/o a nivel de grupo de animales 15 – 20 días antes de la presentación de la enfermedad.

23.1 En bovinos: Se deben diferenciar con enfermedades que cursan con hemoglobinuria, hematuria, hemólisis, aborto, mastitis y disminución de la producción láctea, como: Anaplasmosis, Babesiosis, Pasteurellosis, Brucelosis, Listeriosis, Vibriosis, Trichomoniasis, Toxoplasmosis, IHBB, intoxicación por cobre

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

y “rapum”, hemoglobinuria posparto (**Blood et al., 1982; Baskerville, 1986; Ellis, 1986; Bofill et al., 1996**) y trastornos alimentarios.

23.2 En ovinos – caprinos: Igual que en bovinos.

23.3 En porcinos: Brucelosis, Peste Porcina, Aujeszky, Listeriosis, Salmonelosis, SMEDI virus, Parvovirus porcina, Encefalitis Viral Japonesa, Erisipela Porcina, deficiencia nutricional, etc. (**Wrathall, 1975; Ellis, 1978; Blood et al., 1982**).

23.4 En equinos: Anemia Infecciosa Equina, Salmonelosis, Babesiosis, Tripanosomiasis, Artritis Viral Equina, Rinoneumonitis Viral Equina y la causada por *Streptococcus genitalium* (**Blood et al., 1982**).

23.5 En caninos: Hepatitis Canina, trastornos gastrointestinales y trastornos hematológicos.

23.6 En humanos: Dengue, Malaria (Paludismo), Influenza, Hepatitis Viral, Fiebre Hemorrágica Epidémica, Hantaviriosis, Septicemia con Ictericia, Fiebre Q, Tifus, Brucelosis, Borreliosis, Toxoplasmosis, Fiebre Amarilla, Piolonefritis, Gripe, Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple (**Díaz et al., 2000; Villar et al., 2000; Everret, 2002; Savio, 2002; Torales, 2002**).

24. Profilaxis

Leptospira se aloja en riñones de animales y humanos, lugar de difícil acceso para el sistema inmunológico y desde donde se elimina al medio ambiente. Esto debe representar un punto de partida para desarrollar planes de prevención.

24.1 Inmunoprofilaxis: Dentro de la inmunoprofilaxis se puede considerar la vacunación y la inmunización pasiva con suero hiperinmune (**Michna, 1970**).

La vacunación está extendida en muchos países y es considerada la mejor herramienta de control. Pero presenta inconvenientes: El primero es que las vacunas comerciales son sólo bacterinas y no brindan inmunidad cruzada entre los distintos serovares, ofreciendo inmunidad frente a cepas limitadas de un mismo serovar. Los serovares y las cepas varían entre países y regiones, por lo que la protección ofrecida por vacunas elaboradas con cepas de un país o región, será ineficaz en otras regiones (**Thiermann et al, 1984**). El segundo inconveniente es que tanto monovalentes y bivalentes como pentavalentes no migración a sistema reproductivo ni renal, y por tanto no evita leptospiruria ni nacimientos débiles ni mortinatos.

Por su parte, la administración de sueros hiperinmunes proporciona anticuerpos (Ig), específicos o inespecíficos, con el fin de desarrollar una respuesta inmune protectora, rápida y de corta duración sin estimulación del aparato inmunológico

La vacunación ha sido y es el método de control más utilizado en los rebaños.

24.2 Profilaxis higiénico – sanitaria: Las medidas higiénico – sanitarias deben basarse en dos puntos esenciales: control de hospedadores de mantenimiento silvestres y control de hospedadores domésticos (**Ellis, 1994; Heath y Johnson, 1994**). Ginebra, (2001) asegura que factores ecológicos como: alta densidad de población animal y su migración – natural o planeada –, características geográficas, agronómicas y meteorológicas del ambiente y cambios estacionales, son datos que debe tomarse en cuenta y corregir defectos a corto y mediano plazo a fin de prevenir la enfermedad.

25. Tratamiento

El objetivo primordial del tratamiento es controlar la infección antes que ésta haga un daño irreparable en el organismo – hígado y riñones especialmente –. Casi todos los antimicrobianos pueden tener efecto contra *Leptospira*, excepto las Sulfamidas y el Cloranfenicol en los animales. Los más recomendados son:

Dihidroestreptomicina, Penicilina, Estreptomicina, Oxitetraciclina, Tetraciclina, entre otros.

El protocolo de atención se aplica en dependencia de la gravedad y sintomatología, y comprende la aplicación de transfusión sanguínea, analgésicos, sueros hiperinmunes y gammaglobulinas.

El siguiente listado reúne las dosis indicadas de fármacos a utilizar:

25.1 En bovinos:

- Dihidroestreptomicina: 25mg/kg/cada 24h/5 días/IM.
- Estreptomicina: 12 – 25mg/kg/cada 12h/3 días/IM.
- Estreptomicina: 25mg/kg/dosis única durante la fase de leptospiruria.
- Clorhidrato de Tetraciclina: 11mg/kg/cada 24h/5 días/IM.
- Tetraciclina: 15 – 25 mg/kg/cada 24h/4 días/IM.
- Oximicina: 100g/5 días/IM.
- Transfusión sanguínea: 5-10 L/450kg, en caso de anemia hemolítica.

25.2 En equinos y caninos:

- Dihidroestreptomicina: 20 – 25mg/kg/cada 24h/4-6 días/IM.
- Tetraciclina: 15 – 25mg/kg/cada 12h/4 – 6 días/IM.
- Penicilina en caso agudo: 10,000-20,000UI/kg/cada 12h/5 – 7 días/IM.
- Corticoesteroides por vía parenteral en caso de oftalmia periódica en equino
- Pomada de atropina en equino tres veces al día.

25.3 En cerdos:

- Tetraciclina: 6,6 mg/kg/cada 24h/5 días/IM.
- Oxitetraciclina: 800g/ tonelada de pienso de 8 – 11 días.
- Estreptomicina: 40 – 50mg/kg/cada 24h/4 – 6 días/IM.
- Oximicina: 20 – 30mg/kg/4 – 6 días/IM

25.4 En ovinos y caprinos:

- Dihidroestreptomicina: 20 – 25mg/kg/cada 24h/4 – 6 días/IM.
- Oxitetraciclina: 20 – 30mg/kg/cada 24h/4-6días/IM.
- Estreptomicina: 40 – 50mg/kg/cada 24h/4-6 días/IM.

25.5 En humanos:

El tratamiento se orienta a establecer el soporte respiratorio y cardiovascular, establecer diálisis (peritoneal o hemodiálisis), transfusión sanguínea en casos muy graves y antibióticoterapia. Existe un grupo de antibióticos con grado variable de efectividad contra *Leptospira*, entre ellos: Penicilina, Doxiciclina, Tetraciclina, Eritromicina, Ampicilina, Amoxicilina y Estreptomicina. Se ha asegurado un mejor resultado con Penicilina y Doxiciclina.

VIII. MATERIAL Y METODO

- 1. Tipo de estudio:** Descriptivo de corte transversal.

- 2. Lugar y período de estudio:** Se realizó en las viviendas de pacientes positivos a Leptospirosis en humanos –también llamados focos- reportadas por el Ministerio de Salud (MINSA), tanto en el área urbana como la rural de los departamentos de Chinandega, Jinotega, León y Rivas en 2011.
 - 2.1 Chinandega:** Está ubicado al occidente de Nicaragua, fronterizo con la República de Honduras; sobre una superficie enteramente plana, cruzada por el río Acome, entre las coordenadas 12° 37' de latitud norte y 87° 07' de longitud oeste. El clima es tropical seco. El período de verano comprende desde el mes de Noviembre hasta el mes de Abril y el período lluvioso comprende de Mayo a Octubre. El clima es caluroso, con temperaturas medias entre 21° C. y 30° C. y máximas hasta de 42° C. La precipitación anual máxima alcanza 2,000 mm. y la mínima entre 700 y 800 mm.

 - 2.2 Jinotega:** Se localiza en la región central de Nicaragua, al norte de ésta; entre las coordenadas 13° 05' de Latitud Norte y 86° 00' de Longitud Oeste. El Municipio está constituido por altas montañas, cerros, colinas, valles y altiplanos; además de ríos y dos lagos importantes, estos son: el Lago de Apanás y el Lago del Dorado. El clima predominante del Municipio es de Sabana Tropical de Altura. La temperatura media oscila entre los 19° y 21° C. La precipitación pluvial varía entre los 2,000 y 2,600 mm.

 - 2.3 León:** Está ubicado en la parte occidental del país entre las coordenadas 12° 26' de latitud norte y 86° 53' de longitud oeste. Está conformado por un sistema de cauces, el Río Chiquito y Pochote, y sus afluentes, más que ríos son

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

quebradas secas que nacen al pie de Monte de la cordillera de los Maribios que se encuentra al este del municipio de León y drenan al Océano Pacífico por el oeste.

Tiene un clima tropical de Sabana con pronunciada estación seca entre los meses de Noviembre a Abril y estación lluviosa entre los meses de Mayo a Octubre, y temperatura promedio de 27 a 29° C, observándose la más elevada en el mes de abril y la más baja en los meses de Diciembre a Enero. La humedad relativa promedio se presenta entre 67% y 89%. Precipitación anual de 1,385 mm.

2.4 Rivas: Tiene contacto por el sur con la República de Costa Rica y por el oeste y este con el océano Pacífico y el lago de Nicaragua, respectivamente. Se ubica entre las coordenadas 11°26' latitud norte y 85°49' longitud oeste. Cuenta con un clima semi – húmedo (sabana tropical), la precipitación media anual varía entre los 1400 y 1500 mm caracterizándose por una buena distribución de las lluvias durante todo el año. La temperatura promedio es de 27° C.

Existe una estación lluviosa y una estación seca. La estación seca, inicia en noviembre y termina en abril; la estación lluviosa, empieza en mayo y termina en octubre; en ésta última las precipitaciones van desde los 800 mm a los 1800 mm.

3. Población en estudio: Fueron todos los bovinos, caninos, equinos, ovinos y porcinos que habitan en las casas de focos reportados por el MINSA en 2010 y/o vecinos -o casas contacto- tomados hasta un máximo de 100 m en el área rural y 30 m en el área urbana, y siempre los más cercanos al caso.

4. Tamaño de la muestra: Se tomó muestras de sangre y orina de 88 bovinos, 77 caninos, 15 equinos, 4 ovinos y 46 porcinos, para un total de 230 animales provenientes 96 de casas/fincas y/o alrededores en las que habitan las personas reportadas positivas.

5. Factores de inclusión: Se incluyó animales jóvenes y adultos, de ambos sexos, buen estado y peso corporal, de temperamento manejable, de las especies de interés habitantes de los focos y/o contactos, obteniendo la aprobación del propietario antes de realizar el muestreo.

6. Factores de exclusión: Se excluyó animales en los que la toma de muestra no fue permitida por su propietario, los que en los últimos días fueron tratados con algún antibiótico, hembras gestantes, individuos en mal estado o peso corporal y aquellos de mal temperamento.

7. Recolección de la información: Cada muestra era identificada en el lugar con el nombre del animal, tipo de muestra y procedencia, a su vez era llenada una ficha epidemiológica (ver anexos) con información más específica para su registro.

8. Recolección y transporte de la muestra: Se extraía muestras pareadas en cada animal (orina y sangre). Únicamente si era posible extraer orina se procedía a extraer sangre.

Se tomaba orina por punción de vejiga o por recogida al momento de la micción, con una jeringa descartable nueva, e inmediatamente se colocaba en un tubo de ensayo con el medio líquido Ellinghausen – McCullough – Johnson – Harris con 5 Fluorouracilo y Ácido Nalidíxico (EMJH + 5FU), el cual provee nutrientes a *Leptospira* y contiene un agregado de antibióticos que evitan el crecimiento de otras bacterias con la consecuente muerte de la espiroqueta. Con esto se ha obtenido la muestra para la técnica directa de Aislamiento.

A continuación se extraía la sangre desde la vena safena, yugular, caudal o cava, en dependencia de la especie, poniéndose en un tubo de ensayo al vacío sin anticoagulante para extraerse suero, el cual se almacenaba en viales estériles a – 20 °C hasta su procesamiento.

9. Datos en el Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI): En el mismo orden en que los datos eran recolectados y transportados, se plasmaban en el Libro General del CEVEDI y el Libro del Laboratorio de *Leptospira*, en el que se inscriben datos de procedencia, propietario y animal, y los resultados de las pruebas. En ambos libros cada muestra posee un código único que la diferencia de las demás.

10. Procesamiento de las muestras: Las muestras de orina se incubaron a 25 – 30 °C y revisaron semanalmente bajo microscopía de campo oscuro para determinación de espiroquetas. Las muestras de suero fueron analizadas utilizando la técnica de MAT, según los protocolos utilizados en el Laboratorio de *Leptospira* del CEVEDI. (Ver anexo).

11. Análisis estadístico: Se comparó los datos por especie animal, lugar de procedencia y serogrupos encontrados utilizando gráficos de frecuencias absolutas y relativas, además de haberse incluido la prueba Chi cuadrada (χ^2) de Pearson. Los datos se plasmaron en una base de datos creada en el programa Microsoft Excel 2010 con las variables incluidas en la ficha de recolección de datos y los resultados de laboratorio, luego se analizaron en el programa estadístico SPSS.

12. Ventajas y limitaciones: La ventaja es la magnitud del trabajo; pues no solamente determina la prevalencia por Aislamiento, sino que utiliza la técnica MAT para conocer qué serogrupos están circulando. La limitación es la poca cantidad de muestras de algunas zonas y la falta de una segunda toma de muestra en busca de seroconversión.

13. Divulgación: Los resultados se pretenden dar a conocer de manera escrita o digital a personas y entidades –gubernamentales o no gubernamentales – interesadas en el tema, además de permitir la propagación de la información a través de los medios que se estimen convenientes.

IX. RESULTADOS

Al realizar el análisis de las 230 muestras de orina, el 59.13% resultó negativo al aislamiento, contra un 40.87% en los que se encontró la espiroqueta. **(Gráfico 1)**.

Respecto al Test de Microaglutinación se encontró que el 72.6% de los animales no reaccionaron, frente a un 23.4% de animales en el que se encontró anticuerpos contra *Leptospira*. **(Gráfico 2)**.

El estudio de Aislamiento en orina muestra que en El Cuá, Jinotega y Rivas se obtuvo el 100% de positivos; además refleja que con menos del 30%, El Sauce y Puerto Morazán son las localidades con menor porcentaje positivos del total de animales muestreados. **(Gráfico 3)**.

El análisis por localidades refleja que El Viejo, Las Peñitas, Rivas, San Pedro del Norte y Villanueva presentaron un 100% de reactores al Test de Microaglutinación, siendo los menos reactores El Sauce y León con menos del 30%. **(Gráfico 4)**.

De las especies muestreadas, el bovino presentó mayor positividad al Aislamiento con el 45.74%; mientras que el ovino obtuvo la menor frecuencia de positividad. **(Gráfico 5)**.

Se encontró que los serogrupos de *Leptospira* predominantes por especie animal fueron *grippotyphosa* en bovinos con un 20%, *canicola* en caninos con un 24%, *grippotyphosa* en equinos con un 37%, y *grippotyphosa* y *pomona* en porcinos con un 29% cada una. **(Gráficos 6, 7, 8 y 9, respectivamente)**.

X. DISCUSIÓN

La Leptospirosis es una enfermedad infecciosa, endémica en Nicaragua y de fácil transmisión. El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis humana en el pacífico y norte de Nicaragua en 2011. Se analizó muestras de bovinos, caninos, equinos, ovinos y porcinos que cumplieran con el requisito fundamental de estar asociado a los casos de enfermedad en humanos.

El Aislamiento total refleja el 40.87% de positivos, un porcentaje alto que muestra la capacidad infectiva del agente a pesar de ser poco resistente; este dato sugiere que los animales muestreados podrían estar implicados en los casos de Leptospirosis humana reportados por el MINSA, pues están en contacto directo con los humanos afectados y al ser positivos diseminan la espiroqueta durante muchos años en ríos, cauces, charcos, suelo, etc. y habrá infección en personas y otros animales. El restante 59.13% se muestra como negativo, lo que sucede cuando la espiroqueta no está alojada en el organismo; sin embargo no se debe interpretar como tal desde el primer momento; pues podría estar acantonada en riñones; o haber sido expulsada en orina ácida, provocando destrucción de la bacteria; o cualquier otra causa que evite la expulsión de *Leptospira* en el lapso de la toma de muestra. Salgado (2007) en animales domésticos en La Leona, municipio de León, detectó 27.29% de reactores a MAT, en tanto Tenorio (2011) en aislamiento en orina de especies domésticas cercanos a focos en León, Chinandega y Estelí se expone 16.8% de positivos; indicando que los porcentajes pueden variar de un año a otro, pero siempre existirá la posibilidad de aislar o detectar reactores en animales domésticos en la zona en estudio.

Ante un proceso infeccioso, los primeros anticuerpos en actuar son las Ig M o Anticuerpos de Fase Aguda. El resultado con el Test de Microaglutinación refleja respuesta inmunitaria ante *Leptospira* en el 23.4% de los animales, los que

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

estarían en estado de portador o enfermo. Sin embargo el 72.6% restante (no reactor) no puede declararse como no infectado a la primera prueba, pues podrían estar inmunodeprimidos o aun no presentar respuesta al momento del muestreo, siendo necesario la segunda toma de muestra en busca de seroconversión.

El factor medio ambiente es fundamental en la dinámica de la enfermedad. A mejores condiciones ambientales para *Leptospira* mayor será la probabilidad de que una persona o animal se infecte. El Aislamiento por localidades expresa que El Cuá, Jinotega, y Rivas, centro norte y pacífico sur de Nicaragua, respectivamente, tuvieron 100% de positivos; zonas con condiciones ambientales óptimas como temperatura, humedad, vegetación y precipitación, para el crecimiento del agente en el medio; se suma el desconocimiento del tema por parte de la población (principalmente rural). El análisis además reporta a El Sauce y Puerto Morazán, localidades ubicadas al occidente del país, con el menor porcentaje de positivos, a pesar de que la Leptospirosis humana es endémica en la zona; indicando que el factor que hace la diferencia sea la educación a la población y un mejor vigilancia epidemiológica por parte de MINSA y Ministerio Agropecuario y Forestal (MAGFOR). Cabe mencionar que estos positivos pueden ser animales recientemente infectados o animales que lleven meses o años expulsando la espiroqueta e infectando a otros.

Al análisis por localidades se observa que El Viejo, Las Peñitas, Rivas, San Pedro del Norte y Villanueva presentaron un 100% de reactores al Test de Microaglutinación, dato importante que indica que ha habido infecciones recientemente en estos lugares pues lo que se detecta es anticuerpos de reacción temprana; coincidiendo en el 100% que presentó Rivas en aislamiento en orina. Siendo El Sauce y León los que menos reactores presentaron, con menos del 30% y coincidiendo también El Sauce con menos porcentaje de positivos en aislamiento. Esto indica que tanto Rivas como El Sauce pueden confirmarse en mayor y menos porcentaje afectación por el agente, respectivamente.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

El resultado de aislamiento por especie muestra que el bovino presentó mayor porcentaje de positivos, explicado porque son animales que se trasladan grandes distancias para llegar al lugar de pastoreo; trayecto en el cual pueden encontrar ríos, arroyos o cualquier otra fuente de infección. Siendo además de importancia que los bovinos habitan en grupos, por tanto si uno de estos adquiere la bacteria, otro será contagiado a partir del primero. Se suma que esta especie se alimenta de pasto, lo que hace que el pH sea alcalino en la orina proporcionando un mejor ambiente a la espiroqueta.

Los serogrupos predominantes fueron *canicola* en caninos, *grippityphosa* en bovinos, equinos y porcinos, además de *pomona* en esta última especie; indicando que sólo los caninos se mantuvieron como hospedadores de mantenimiento, las demás especies fueron hospedadores accidentales de otros serogrupos. Salgado (2007) y Tenorio (2011) también reportan al canino como la única especie que se demostró no fue infectada por un serogrupo secundario, las demás especies, al igual que en el presente estudio, sí resultan infectadas por serogrupos secundarias.

XI. CONCLUSIONES

La prevalencia de *Leptospira* en animales domésticos asociados a casos de Leptospirrosis en humanos en el Pacífico y Norte de Nicaragua en 2011 fue de 40.87% en Aislamiento en orina, frente al 23.4% de reactores a la Prueba de Microaglutinación.

El bovino es la especie que mostró el mayor porcentaje de positivos en Aislamiento con el 45.74% del total de muestreados.

Los serogrupos de *Leptospira* predominantes por especie animal fueron *grippotyphosa* en bovino, *canicola* en canino, *grippotyphosa* en equino y *grippotyphosa* y *pomona* en porcino.

XII. RECOMENDACIONES

- Ejecutar periódicamente análisis de fuentes hídricas en zonas endémicas, además de realizar la técnica de Aislamiento y Microaglutinación en animales domésticos.
- Captura de roedores para análisis a través de la técnica de Aislamiento, además de desratización de zonas endémicas.
- Efectuar perfiles de resistencia a antimicrobianos para instaurar tratamientos más efectivos.
- En la medida de lo posible, aumentar la cantidad de animales muestreados, especialmente en aquellas especies que tuvieron poca representatividad en el presente estudio.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adler, B., Chappel, R. J. and Faine, S. 1982. The sensitivities of different immunoassays for detecting leptospiral antigen. Zentbl. Bakteriologie. 252:405-413.
2. 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.
3. Amatredjo, A. and Campbell, R.S.F., 1975. Bovine leptospirosis. Vet Bull 43: 875-891.
4. Andreani, E. et al., 1975. Annali Fac. Med. Vet. Univ. Pisa, 27,33.
5. Arimitsu, Y., Kobayashi, S., Akama, K. and Matuhasi, T. 1982. Development of a simple serological method for diagnosing Leptospirosis: a microcapsule agglutination test. J. Clin. Microbiol. 15:835-841.
6. Arzumanian, G.R. 1970. Leptospirosis. Acad. Cienc. Cuba, 1-30.
7. Baseman, J.B. 1990. The spirochetes. En: Davis, B.D, Dulbecco, R., Eisen H.N., Ginsberg, H.S. with 29 additional contributors: Microbiology, 4th ed. Chapter 37. Washington D.C: American Society for microbiology.645-656.
8. 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.
9. Benenson, A.S. 1992. Leptospirosis. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre, 15ta Ed., OPS: 133-140.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

10. Benhnet, C. J. y Plum, F. 1998. Leptospirosis. Tratado de Medicina Interna: 1984-1985. (CECIL).
11. 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.
12. Bombinbre, T.R. y Lopez R. Teresa. 1998. Leptospirosis en unidades intermedias. Rev. Higiene y Epidemiología 36(2):105-112.
13. Castillo, G. y Urey, M. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis porcina y tipificación de los serovares circulantes en Achuapa y El Sauce, departamento de León.
14. Chamizo, E. 1997. Patología orgánica y enfermedades de los animales domésticos. Ed. Felix Varela. 52.
15. Chiu, Y. C. and Liu, H. H. 1959. Report on roentgenologic pulmonary changes in 48 cases of leptospirosis. Chin J Radiol .7:374-375.
16. Cinco, M. and Banfi, E. 1983. Interaction between human polymorphonuclear leukocytes and one strain of pathogenic *Leptospira* (*L. interrogans* sp.) and one of saprophytic *Leptospira* (*L. biflexa* sp.) . FEMS Microbiol. Lett. 19:777-782.
17. Cole, J. R., Sulzer, C. R. and Pursell, A.R. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. Appl. Microbiol. 25:976-980.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

18. Covalada, J., Fumarola, A. y Cantarell, I. 1953. Leptospirosis por *L. ballum* en los trabajadores de arrozal de la región de Camarales (Delta del Ebro). Rev. Iber. Parasitol. XIII, 289-299.
19. Davidson, J. and Hirsh, D.C. 1980. J. Am. Vet. Med. Assoc., 176,124.
20. Díaz, A., Goñi, M., Ruocco, G., Savio, E. et al. 2000. Gripe: Guía Practica. Public. Clínica Médica "2" Fac. der Medicina. Montevideo.
21. Dikken, H. and. Kmety, E. 1978. Serological typing methods of leptospire, 11, 259-307. *In*: T. Bergan, and J. R. Norris (ed.), Methods in Microbiology, vol. 11. Academic Press, London, U.K.
22. Edwards, C. N., Nicholson, G. D., Hassell, T. A., Everard, C.O.R. and Callender, J. 1986. Thrombocitopenia in leptospirosis: The absence of evidence for disseminated intravascular coagulation. Am J Trop Med Hyg 35:352- 354.
23. Effler, P.V., Domen, H.Y., Bragg, S.L., Aye, T. and Sasaki, D. M. 2000. Evaluation of inderecy hemagglutination assay for diagnosis of acute leptopirosis in Hawaii. J. Clin. Microbiol. 38:1081-1084. (OJO)
24. Ellis, W.A. 1983. Recent developments in bovine Leptospirosis. Vet. Annu., 23: 91-95.
25. Ellis, W.A. 1986. The diagnosis of Leptospirosis in farm animals, *In*: Ellis W.A.,M Little T.W.A. (Eds.) Present state of Leptospirosis diagnosis and control. Martinus Nijhoff Publishers, 13-31.
26. Ellis, W.A. 1994. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. Vet. Clin. North. Am., Food Anim. Pract. 10:463-478.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

27. Everard, J. D. 1996. Leptospirosis.,111-119. In: F. E. G. Cox (ed.), The Wellcome Trust illustrated history of tropical diseases. The Wellcome Trust, London, U.K., 416-418.
28. Everett, Dale D. 2002. Leptospirosis.Upto date (r). Leptospirosis.
29. Faine, S. 1991. The genus Leptospira, In: Barlows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.H.(Eds.) The prokariotes. Springer-Verlag, 2nd edition. 3568-3582.
30. Faine, S. 1994. *Leptospira* and leptospirosis. CRC Press, Boca Raton, Fl
31. Faine, S. and Stallman, N.D. 1982. Amended descriptions of the Genus *Leptospira*
32. Faine, S., Adler, B., Bolin, C. and Perolat, P. 1999. *Leptospira* and leptospirosis, 2nd ed. Med. Sci. Melbourne, Australia.
33. Ferguson, I. R. 1993. Leptospirosis surveillance: 1990-1992. Communicable Disease Report; 3: 47-48.
34. Fernández, L. H. 1999. Leptospirosis. Manual de salud de cerdo. Tomo 1:34-39
35. Fernández, M, Carmen, Obregón, F. Ana Margarita, Rodríguez, J., Rodríguez, G. I., et al. 2002. Nuevas tecnologías desarrolladas e incorporadas en el diagnostico de la Leptospirosis humana en Cuba. XVIII Congreso PANVET. Habana, Cuba. [Resumen].
36. "Ficha municipal", [En línea]. Noviembre, 2011. Disponible en Web: <http://www.inifom.gob.ni/municipios/documentos/CHINANDEGA/chinandega.pdf>

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

37. "Ficha municipal", [En línea]. Noviembre, 2011. Disponible en Web: <http://www.inifom.gob.ni/municipios/documentos/JINOTEGA/jinotega.pdf>
38. "Ficha municipal", [En línea]. Noviembre, 2011. Disponible en Web: <http://www.inifom.gob.ni/municipios/documentos/LEON/leon.pdf>
39. "Ficha municipal", [En línea]. Noviembre, 2011. Disponible en Web: <http://www.inifom.gob.ni/municipios/documentos/RIVAS/rivas.pdf>
40. Flannery, B., Costa, D., Carvalho, F.P., Guerreiro, H., Matsunaga, J., Da Silva, E.D., Ferreira, A.G.P., Riley, L.W., Reis, M.G., Haake, D.A., Ko, A.I., 2001. Evaluation of recombinant *Leptospira* antigen-based enzyme-linked immunosorbent assays for the serodiagnosis of Leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology* 39, 3303–3310.
41. Fresno, C. Caridad. 1996. Leptospirosis. Una aproximación al tema. Control Nacional de Información de Ciencias Médicas. Departamento de servicios especiales de información. C. Havana.
42. 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.
43. Gonzáles G., J. A., Tamayo, S. y Machado, A. 1990. Leptospirosis. Ed. Centro de información y Documentación Agropecuaria. La Habana.
44. González, G. J. A. 1989. Leptospirosis. Monografía Univ. Central de Las Villas, Cuba.
45. Greenlee, J.J. 2002. The diagnosis and description of experimental Leptospirosis in dogs. *Memorias XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias* . Habana, Cuba.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

46. Guijarro, R. y Calvo, E. 1999. Tratamiento y control de leptospirosis bovina.
47. Haake, D. A. 2000. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology*, 146:1491-1504.
48. Halasa, M. 1967. "Leptospiroza". En: *Nakzlive Choroby Hospodarskych Zvirat; Prof. Drazan a Kolesktiv, Státni zemedelské, makladatcstui Praha.*, 250-266.
49. 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.
50. Heath S.E. and Johnson, R. 1994. Leptospirosis. *JAVMA* 205, 1518-1523.
51. Heinemann, M.b., Garcia, J.F., Monjas, C.M.Las, Gregori, F., Higa, Z. M., Vasconcellos, S.A. y Richtzenhain, L.J. 2000. La detección y diferenciación de *Leptospira* sp. Serovares en la esperma vacuna por reacción en cadena polimerasa y la restricción fragmenta longitud polymorphism. *Microbiol. Vet.* 73(4):261-267.
52. Hellstrom, J.S. and Marshall, R.B. 1978. Survival of *Leptospira interrogans* serovar pomonain an acid soil under simulated New Zealand field conditions *Rev. Vet. Sci.*, 25, 29-33.
53. Herrera Blanca. 2002. Diagnostico de Laboratorio. En: *Guia de Control y Manejo de Leptospirosis*. OPS/HCP/HCV/URU.ZOO.27-34.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

54. 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.
55. Hutyra, F., Marek, J., Manninger, R., Mocsy, J. 1968. Patología y Terapéutica Especiales de los Animales domésticos. Tomo 1. Ed. Labor (Barcelona), 309-314.
56. Hutyra, F., Marek, J., Manninger, R., Mocsy, J. 1973. Patología y Terapéutica Especiales de los Animales domésticos". 3ra. Ed. Edit. Labor, S.A., 1, 308-312.
57. Johnson, D. W. 1950. The Australian leptospirosis. Med. J. Aust. 2:724-731.
58. 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.
59. Johnson, R. C., Walby, J., Henry, R. A. and Auran, N. E. 1973. Cultivation of parasitic leptospire: effect of pyruvate. Appl. Microbiol. 26:118-119.
60. Jubb, K. V. F. y Kennedy, P.C. 1973. Patología de los animales domésticos. Ed. Cienc. y Tec., 1, 367 .(Instituto Cubano de libro).
61. Kalsow, C. M. and Dwyer, A. E. 1998. Retinal immunopathology in horses with uveitis. Ocul. Immunol. Inflamm. 6:239-251.
62. Kingscote, B. 1985. *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* infection in cattle in the South Okanagan District of British Columbia. Can. Vet. J. 26, 328-332.
63. Landouzy, L. T. J. 1983. Fièvre bilieuse ou hépatique. Gaz. Hôpital 56:809.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

64. Levett, P. N. 1999. Leptospirosis : re-emergin or re-discovered disease. J Med Microbiol.; 48:417-418.
65. Marín, Y. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis y tipificación de los serovares circulantes en bovinos de El Sauce y Achuapa, departamento de León, agosto – octubre, 2006.
66. Martínez, S. R., Cruz de la Paz, R. y López, C. 1993. Algunas consideraciones sobre el comportamiento de leptospirosis humana en Cuba. Rev Cub de Hig y Epidemiol 45(1):20-27.
67. Michna S.W.1970. Leptospirosis. Vet. Rec. 86, 484-496.
68. Muñoz, M. E. 1999. Leptospirosis: revisión bibliográfica y análisis de la enfermedad en Costa Rica. Tesis de licenciatura. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. Costa Rica.
69. O’Neil, K. M., Rickman, L. S. and Lazarus, A. A. 1991. Pulmonary manifestations of leptospirosis. Rev. Infect. Dis. 13:705-709.
70. Peña Infante Marisela, 1999. Leptospirosis: Algunas variedades clínicoepidemiológico durante el quinquenio 1994-1998 en el área de salud de Chaparra. Tesis. 24h.
71. Perdomo, E. y Garin, A. 2002. Leptospirosis animal. En: Guía de Control y Manejo de Leptospirosis. OPS/HCP/HCV/URU.ZOO.24-26.
72. 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.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

73. Pérolat, P., Chappel, R. J., Adler, B., Baranton, G., Bulach, D.M., Billinghamurst, M. L., Letocart, M., Merien, F. and Serrano, M.S. 1998. *Leptospira fainei* sp. nov. isolated from pigs in Australia. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48:851- 858[Abstract].
74. 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.
75. Pumarola A. 1995. *Leptospira*. En: Pumarola A., Rodríguez A., García A., y Piédrola G. *Microbiología y Parasitología Médica*. Ed. Masson Salvat Medicina. 2ª ed. 554-550.
76. Quinn, P.J., Markey, B.K., Cater, M.E., Donnelly, W.J. and Leonard, F.C. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Editorial. Blackwell Science Ltd. 178 – 179.
77. Ramos-Morales, F., Díaz – Rivera, R.S., Cintron-Rivera, A.A., Rullán, J.A., Benenson, A.S. and Acosta-Matiezo. 1959. The pathogenesis of leptospiral jaundice. *Ann. Intern. Med.* 51:861-878.
78. Regalado Daisy, Lopez, C. y Saltanen, A. 1992. Identificación de cepas de distintas procedencias. *Rev Med Trop.*, 44(2):129-133..
79. Ruiz, L. O. 1995. *Enfermedades zoonóticas en Venezuela*. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto, Ven. 44-61.
80. Sandow, R. y Ramírez, W. 2005. Leptospirosis. *Revista electrónica de Veterinaria REDVET*.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

81. Salgado, G. 2007. Brote de leptospirosis ocurrido en La Leona (Municipio de León), febrero 2007: tipificación de los serovares de *Leptospira spp.* y su prevalencia en animales domésticos.
82. 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.
83. Smibert, R. M. 1977. The Spirochaetales, 195-228. In: Laskin, A. I. and Lechavelier, H. A. (ed.), CRC handbook of microbiology, 2nd ed, vol. 1. CRC Press, Cleveland, Ohio.
84. Sheleby, J. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis y tipificación de serovares circulantes en caninos de los municipios de El Sauce y Achuapa del departamento de León durante el período de agosto – octubre, 2006.
85. Sullivan, N.D. 1974. Leptospirosis in animals and man. Aus.Vet.J. 50, 216-223.
86. Swain, R. H. A. 1957. The electron-microscopical anatomy of *Leptospira canicola*. J. Pathol. Bacteriol. 73:155-158.
87. Tenorio, I. 2011. Aislamiento de cepas de *Leptospira* encontradas en animales domésticos y clasificación serológica hasta serogrupo, en los departamentos de León, Chinandega y Estelí, 2009.
88. Thiermann, A.B. 1984. Leptospirosis: current developments and trends. JAVMA 184, 722-725.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

89. Thiermann, A.B. and Garret, L.A. 1983. Enzyme-linked immunoabsorbent assay for the detection of antibodies to *Leptospira interrogans* serovars *hardjo* and *pomona* in cattle. Am. J. Vet. Res. 44, 884-887.
90. Thompson, J.C. and Manktelow, B.W. 1989. Pathogenesis of renal lesions in haemoglobinaemic and non-haemoglobinaemic leptospirosis. J. Comp. Path., 101:201-214.
91. 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.
92. Torales, M. 2002. Leptospirosis. Carta Infectológica, 2(1):3-6.
93. Turner, L. H. 1970. Leptospirosis III. Maintenance, isolation and demonstration of leptospire. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 64:623-646.
94. Van der Hoeden J. (1958). Epizootiology of Leptospirosis. Adv. Vet. Sci. 4, 278-339.
95. Van Eys, G.J.J.M., Gravekamp, C., Gerritsen M.J., Quint, W., Cornelissen M.T.E., Terscheget, J., terpstra W.J. 1989. Detection of leptospire in urine by polimerasa chain reaction. J. Clin. Micorbiol. 27, 2258-2262.
96. Van Thiel, P. H. 1948. The leptospirosis. University of Leiden, Leiden, The Netherlands.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

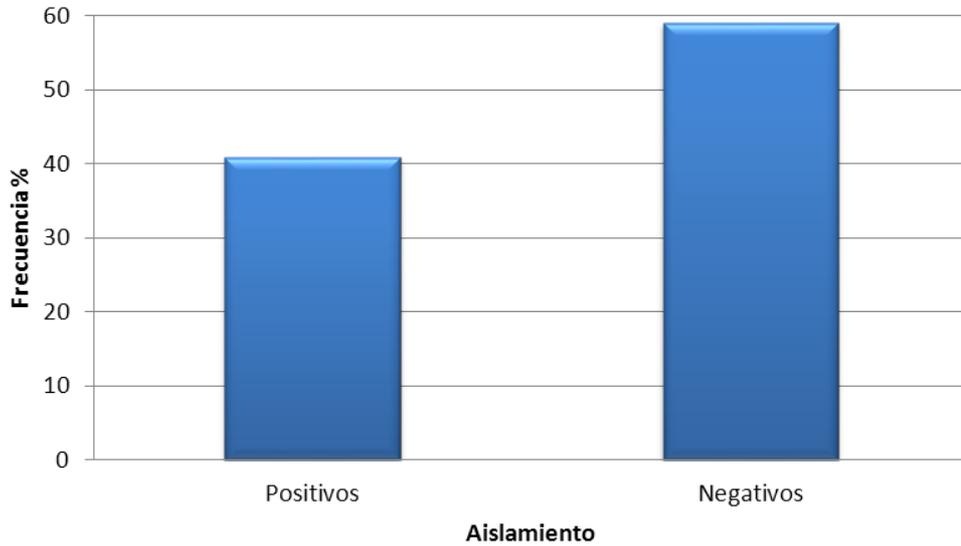
97. Vanasco Norma y Sequeiro, G. 2000. Descripción de un brote de Leptospirosis en la Ciudad de Santa Fe, Argentina, marzo-abril, 1998. Rev Pan. De la Salud Pública. 7(1):35-40.
98. Vargas, D. 2008. Seroprevalencia de leptospirosis y tipificación de los serovares circulantes en equinos de Achuapa y El Sauce, departamento de León en 2006.
99. Veloso, I. F., Corre, M. T., Salas, C.E. y Moreira, C.E 2000. Una comparación de tres procedimientos extractivos de AND con *Leptospira* para polymerase análisis de reacción en cadena. Memorias Haze Instituto Oswaldo Cruz. 95(3):339-343, Brazil.
100. Villar, L.A., Convers, S.M., Harper, R.A. et al. 2000. Clinica características associated with dengue heamorrhagic fever (DHF) in South American (S.A) population. 40: 1 ICAAC. Abstract 77, Toronto.
101. Wagenaar, J., Zuerner, R. L., Alt, D. and. Bolin, C. A. 2000. Comparison of polymerase chain reaction assays with bacteriologic culture, immunofluorescence, and nucleic acid hybridization for detection of *Leptospira borgpetersenii* serovar *hardjo* in urine of cattle. Am. J. Vet. Res. 61:316-20.
102. Watt, G.P., Padre, L., Tuazon, M. and. Calubaquid, C. 1990. skeletal and cardiac muscle involvement in severe, late Leptospirosis. J Infect Dis. 162:266-269.
103. Weil, A. 1886. Ueber eine eigentümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit. Dtsche. Arch. Klin. Med. 39:209-232.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de Leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

104. Wesselinoff, W., Deltscheff, Chr. and Bailösoff, D. 1962. Über die lebensdauer der leptospiren in tierischen gewebe. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 75:184-18.
105. World Health Organization. 1965. Bull. W.H.O 32, 881-891.
106. Yamamoto, S. 1955. Recientes investigaciones sobre oftalmia periódica en caballos de Japón. OIE. T. 42,432-432.
107. Zuerner, R. L., Alt, D. and Bolin, C. A. 1995. IS1533-based PCR assay for identification of *Leptospira interrogans* sensu lato. J. Clin. Microbiol. 33:3284-3289.

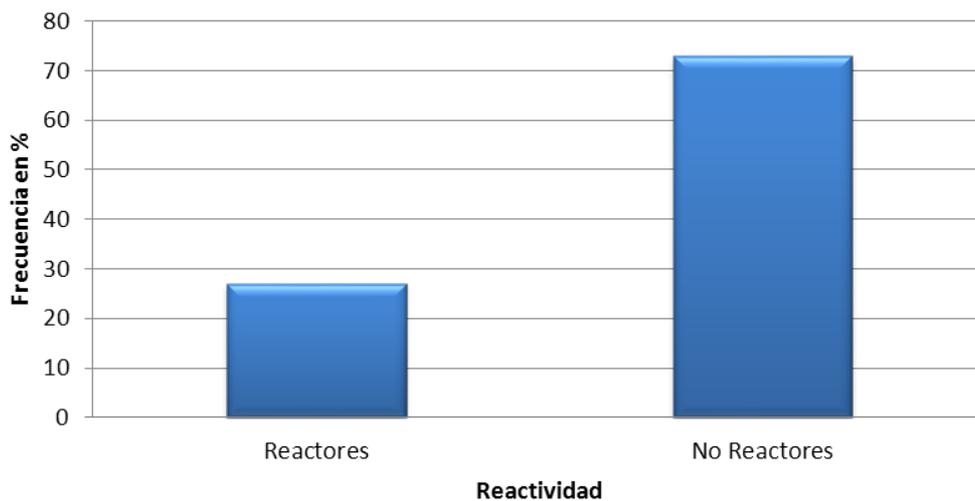
XIV. ANEXOS

Grafico 1



Aislamiento de *Leptospira* en orina

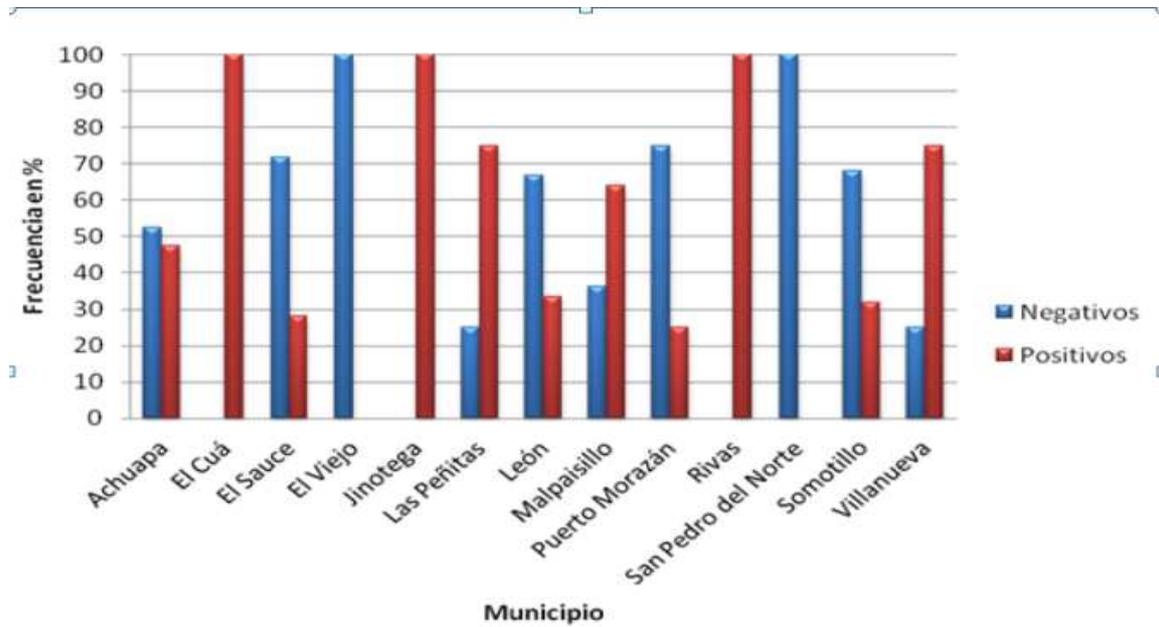
Grafico 2



Reactividad al Test de Microaglutinación

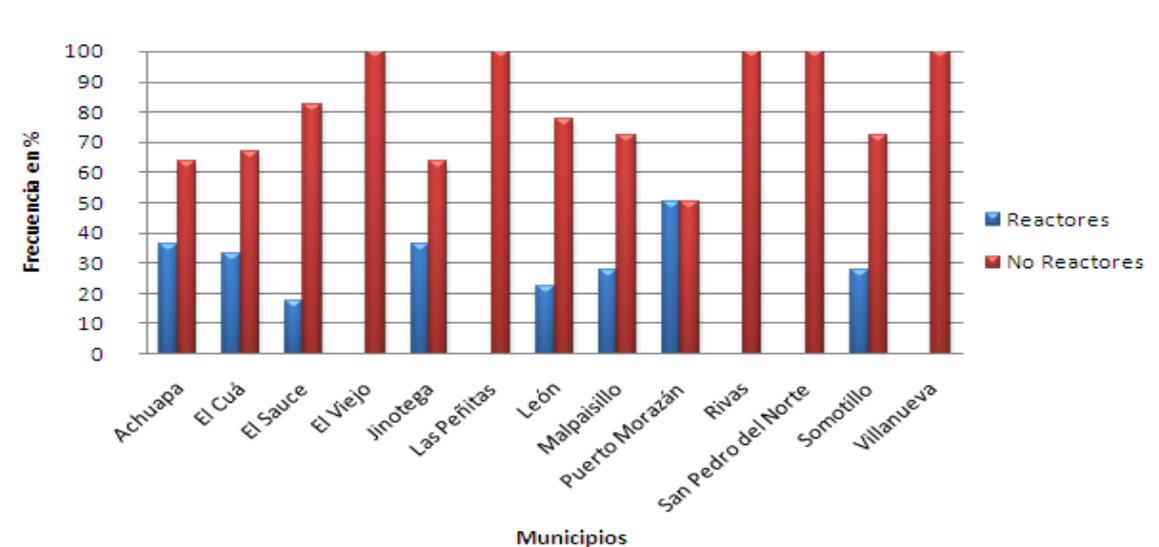
Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Gráfico 3



Aislamiento de *Leptospira* en orina por localidades

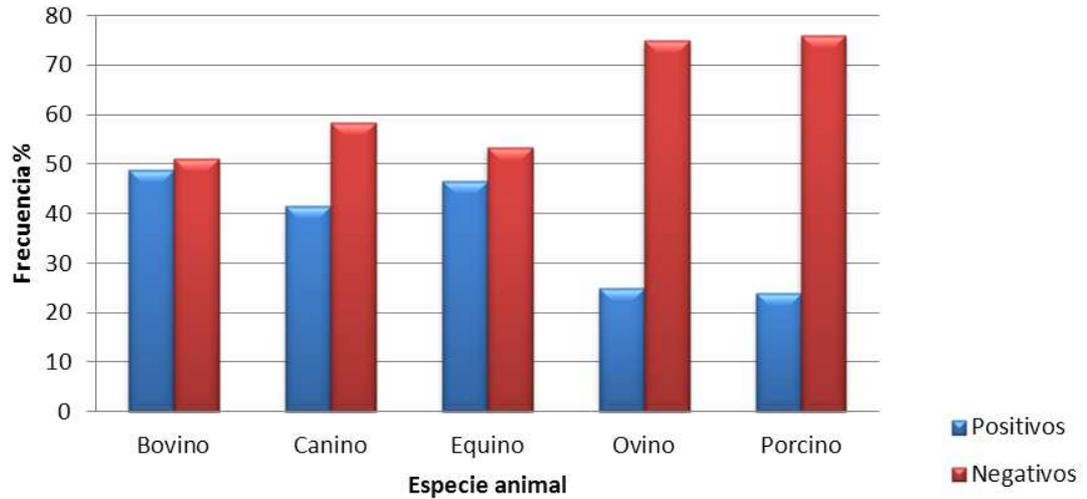
Gráfico 4



Porcentaje de Reactividad al Test de Microaglutinación por Municipios

Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

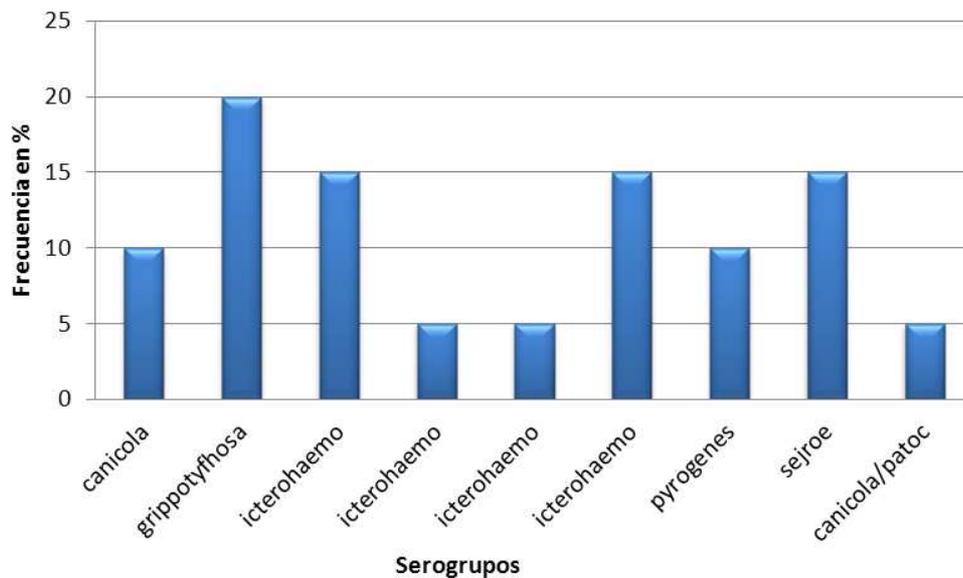
Gráfico 5



Resultado del aislamiento a *Leptospira* por especie animal

$\chi^2=0.077$

Gráfico 6



Serogrupos en Bovino

Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Gráfico 7

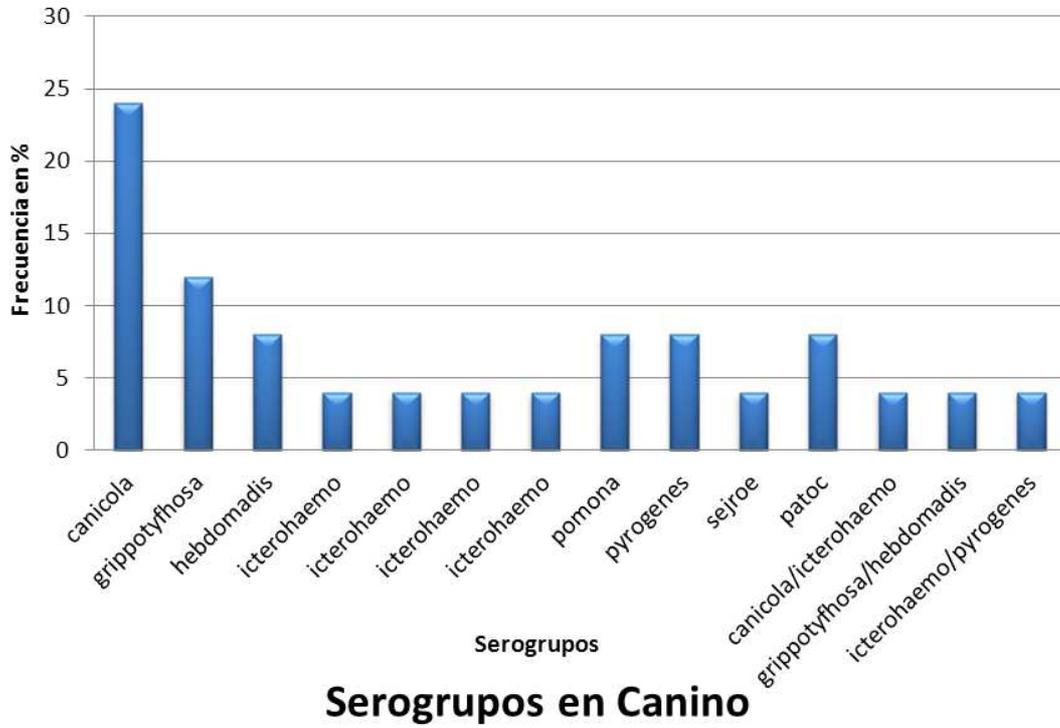
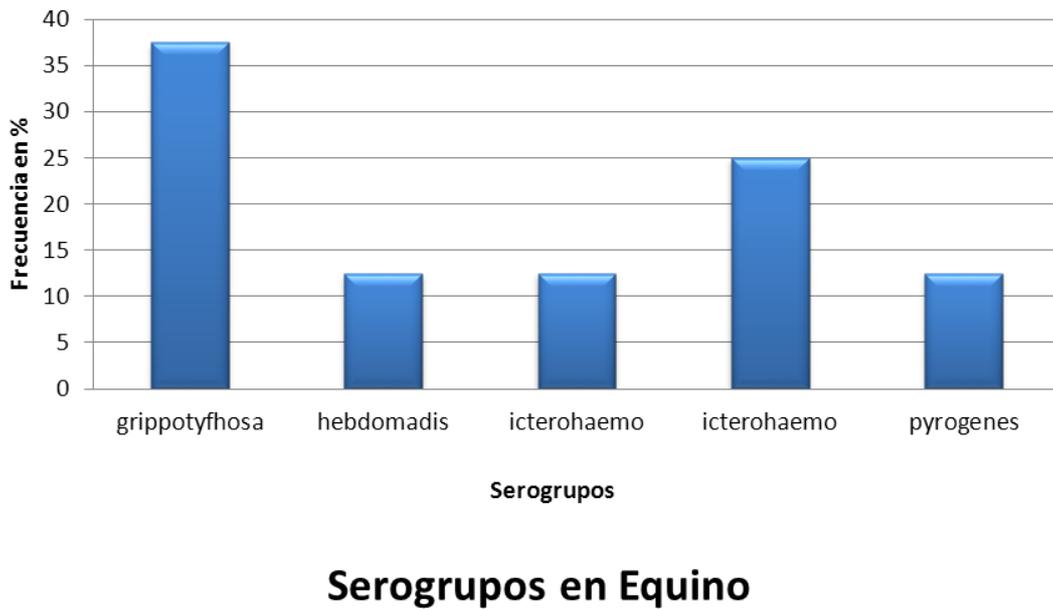
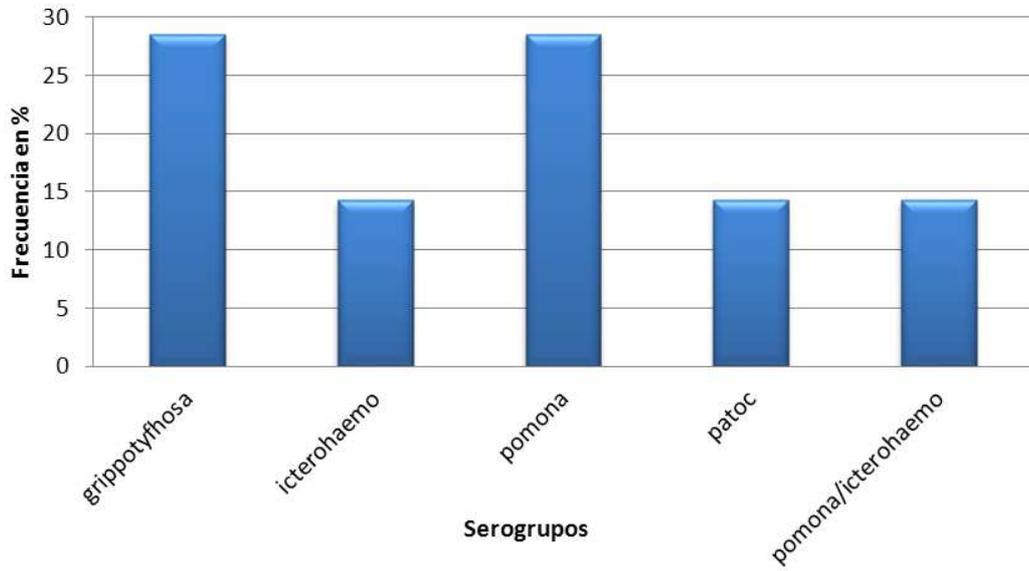


Gráfico 8



Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Gráfico 9



Serogrupos en Porcino

Figura 1

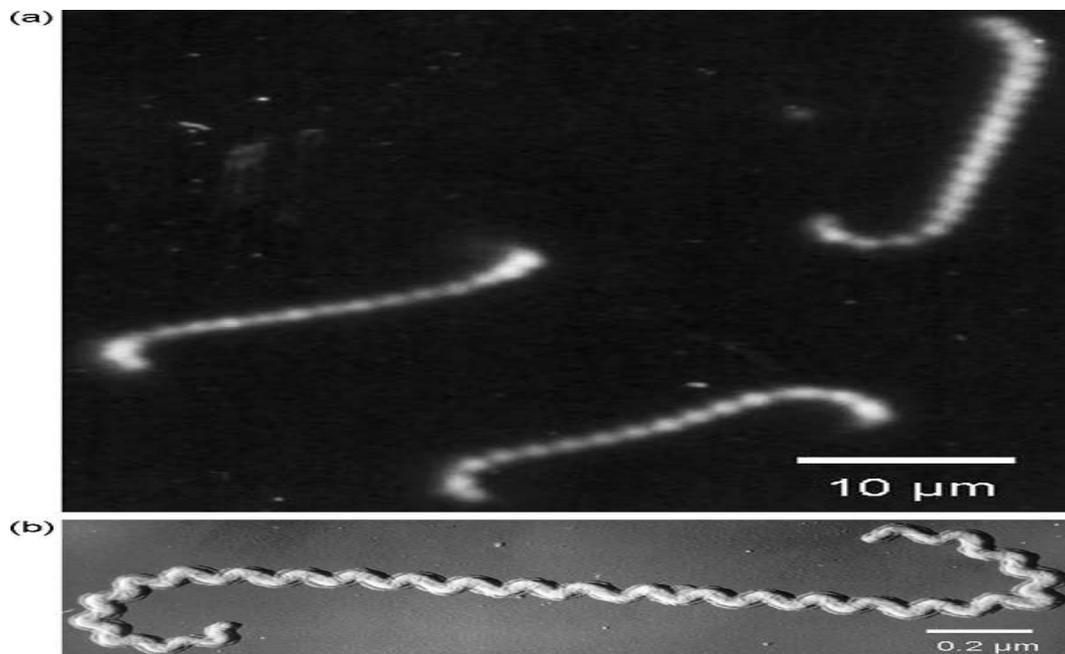
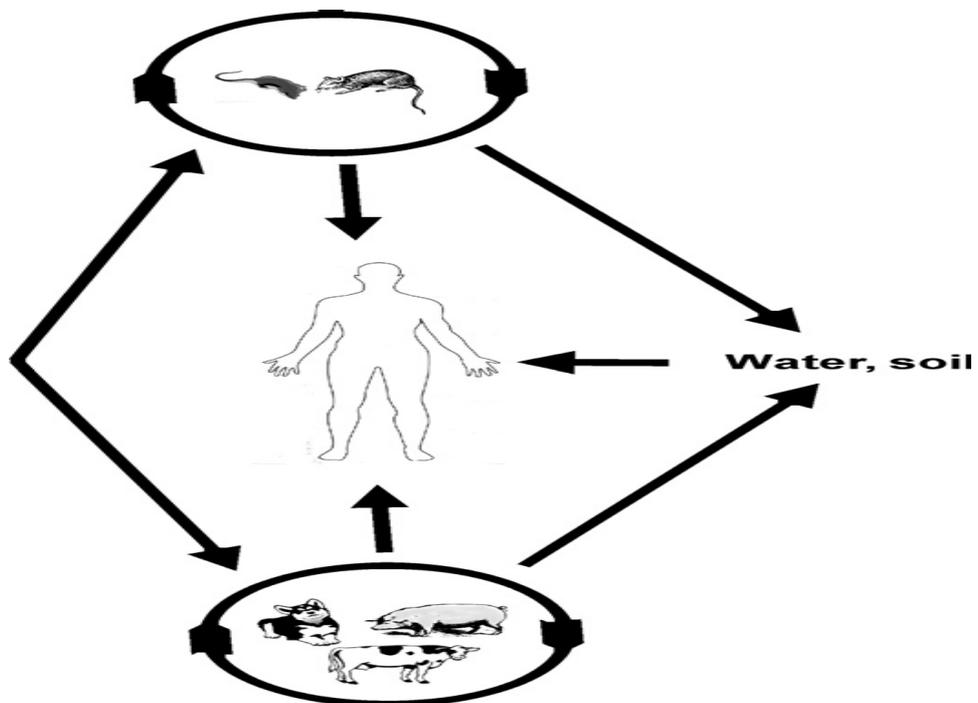


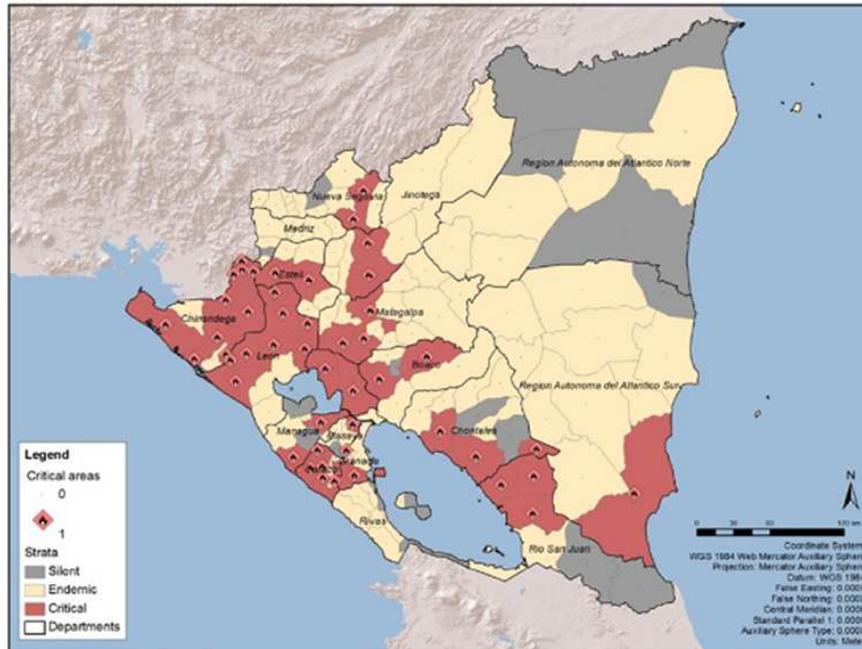
Figura 2



Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Figura 3

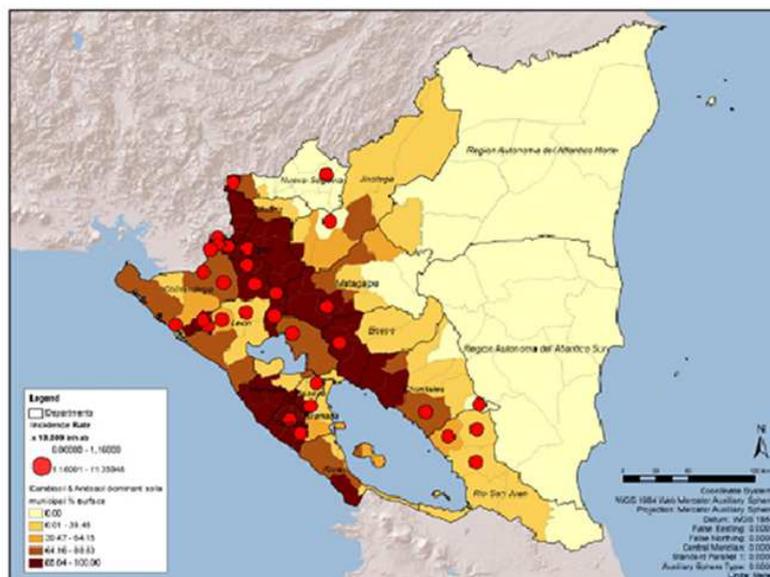
Risk stratification of Leptospirosis in Nicaragua, by municipality, 2004 – 2010



Source: Ministry of Health of Nicaragua. Analysis by OPS

Figura 4

Critical areas for Leptospirosis define by incidence rate and percentage of soil with Cambisol and Andosol, by municipality, Nicaragua, 2004 – 2010.



Source: Ministry of Health of Nicaragua. Analysis by OPS.

Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Figura 5

Municipality mean, standard deviation, and correlation among selected possible drivers and cumulative incidence rate (10,000 populations), Nicaragua.

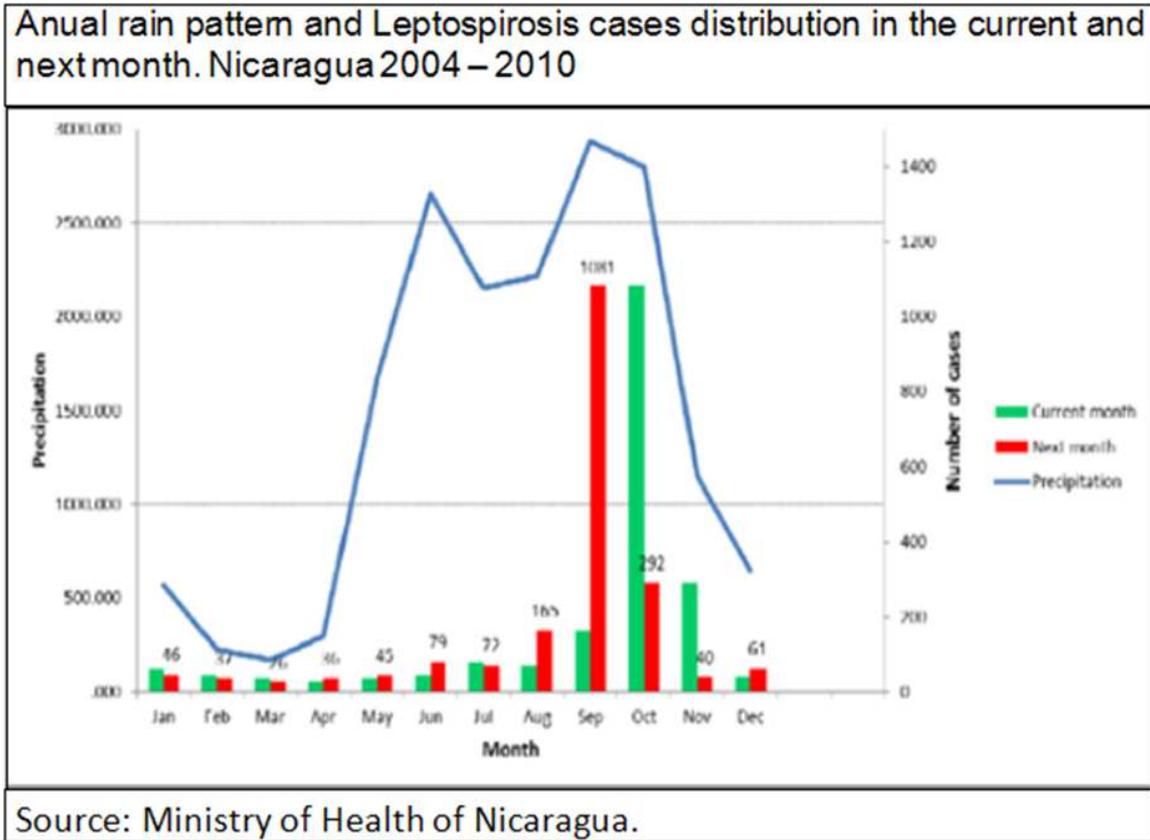
Possible drivers	Municipality mean	Standard deviation	Correlation with cumulative incidence rate
% rural population	61.317	24.246	0.207 $p = 0.0104 *$
Population density	1.350	3.215	-0.107 $p = 0.188$
% illiterate population	24.744	9.543	-0.015 $p = 0.8538$
% population living in poverty	30.366	5.469	0.150 $p = 0.0647$
% population living in extreme poverty (n = 151)	43.191	16.727	-0.004 $p = 0.9641$
Minimum rain precipitation per year (mm)	165.660	204.701	-0.239 $p = 0.0029 **$
Maximum rain precipitation per year (mm)	3,250	887.127	0.030 $p = 0.7147$
Average rain precipitation per year (mm)	1,459	536.998	-0.147 $p = 0.0696$
Average rain precipitation of the two months with the highest rainfall during the year (mm)	7,403	1,490	0.181 $p = 0.0254 *$
Bovine density	27.384	1.780	0.077 $p = 0.343$
Equine density	4.6842	2.461	0.075 $p = 0.356$
Swine density	5.061	4.846	-0.052 $p = 0.524$
Animal density	37.130	2.100	0.062 $p = 0.444$
% land area dedicated to agricultural land use	66.016	32.928	0.097 $p = 0.2351$
% soil type with cambisol and andosol	51.794	42.470	0.275 $p = 0.0006 **$
% municipal terrain with flat to moderate slope (25% or less)	41.591	28.631	0.0002 $p = 0.9977$

* significant $p < 0.05$, ** significant $p < 0.01$.

Source: OPS

Prevalencia de *Leptospira* e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Figura 6



Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Tabla 1

Materiales	
En campo	En laboratorio
Algodón	Agua destilada
Alcohol	Alcohol
Bolsas transparentes de plástico	Ambientador
Cinta adhesiva blanca	Balanza
Cloro	Cámara fotográfica
Detergente	Campana de bioseguridad (FLUFRANCE)
Guantes de látex	Centrífuga
Jeringas descartables de 1, 3, 5 y 20cc	Computadora
Lapiceros	Cubre objeto
Libreta de apuntes	Descartador
Tabla de campo	Gabacha
Tubos de ensayo y gradillas	Incubadora (THERMO SCIENTIFIC)
Rotuladores permanentes	Jabón líquido
	Jeringas descartables de 1, 3, 5 y 20 cc
	Lapiceros
	Libreta de apuntes
	Mechero Bunsen
	Medio de cultivo EMJH
	Microscopio de campo oscuro (OLIMPUS)
	Papel aluminio
	Papel toalla
	PBS
	Placas fondo U (NUNC)
	Pipetas
	Porta objeto
	Refrigeradora
	Tubos de ensayo y gradillas

Proceso en el Laboratorio de *Leptospira* del CEVEDI

Aislamiento de orina en EMJH+5FU: Se inoculó las muestras de orina en el medio EMJH+5FU y se incubó a temperatura de 27 – 30 °C durante 12 a 16 semanas. Cada 8 días eran observadas en microscopio de campo oscuro.

Cuando había crecimiento en alguna de las muestras se hacía un pase en un nuevo tubo de ensayo con el medio de cultivo, considerándose positiva cuando hubo crecido nuevamente en al menos uno de los pases.

Test de Microaglutinación: Las muestras de sangre son centrifugadas y el suero extraído es colocado en tubos Eppendorf y congelado hasta su análisis.

La prueba MAT se realizó de manera cualitativa y cuantitativa.

➤ **MAT cualitativo:**

- Rotular los tubos de ensayo en que se diluirán los antígenos.
- Diluir 1.5 ml de los antígenos del tubo en crecimiento en 3 ml de PBS, de forma que al microscopio se observen mínimo 100 Leptospiras por campo.
- Marcar las placas flexibles de 96 pocillos, fondo en U sin tapa no estéril, con la numeración de la muestra y de los antígenos correspondientes.
- Agregar 49 µl de PBS y 1 µl de suero en los pozos correspondientes.
- Agregar 50 µl de antígeno según el serovar en la primera línea de pozos se depositan 50 µl de PBS y 50 µl de antígeno correspondiente al pozo sin suero, es el control de antígenos que también puede ser ubicado al final de la placa.
- Incubar por dos horas en una temperatura de 37 grados centígrados.
- Tomar 10 µl de las muestras preparadas en los pozos de las placas y montarlas en un porta objeto.
- Observar en el microscopio de campo oscuro a 20x, si hay aglutinaciones (reacción antígeno-anticuerpo) o no.

➤ **MAT cuantitativo:**

- Rotular los tubos de ensayo en que se diluirán los antígenos.
- Diluir 1.5 ml de los antígenos a estudiar en 3 ml de PBS.
- Rotular las placas con el número de muestra en ambos lados con el número de antígeno al cual reacciona en el cualitativo.
- Agregar 50 µl de PBS, en el primer pocillo (control) yendo de izquierda a derecha y 50 µl de antígeno.
- En el segundo pocillo de izquierda a derecha (1/50). Agregar 49 µl de PBS, 1 µl de suero y 50 µl de antígeno.
- En el tercer pocillo (1/100) agregar 99 µl de PBS y 1 µl de suero. En los pocillos restantes agregar 99 µl de PBS.
- Realizar las diluciones a partir del tercer pocillo, mezclando con las puntas de pipetas, obteniendo: tercer pocillo: 1/100, cuarto pocillo: 1/200, quinto pocillo 1/400, sexto pocillo 1/800.
- Agregar 50 µl del antígeno correspondiente en los pocillos.
- Se incuban por dos horas a 37 grados centígrados, protegidas de la luz directa, (cubrimos las placas con papel de aluminio y las incubamos).
- Tomar 10 µl de las muestras preparadas en los pozos de las placas y montarlas en un porta objeto.
- Observar en el microscopio de campo oscuro a 20x, si hay aglutinaciones (reacción antígeno-anticuerpo) o no.

El CEVEDI utiliza como referencia el Cepario Holandés para la identificación de las cepas en MAT.

Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Imagen 1: Toma de muestra de sangre para MAT en un canino.



Imagen 2: Montando muestra desde un tubo de ensayo con Aislamiento.



Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Imagen 3: Pase de Aislamiento.



Imagen 4: Almacenamiento de muestras en incubadora.



Prevalencia de Leptospira e identificación de serogrupos circulantes en animales domésticos asociados a casos de leptospirosis en humanos en el pacífico y norte de Nicaragua, 2011

Imagen 5:



Imagen 6: Colocando la muestra al microscopio de campo oscuro.

