

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua**

**UNAN-León**



**Escuela de Medicina Veterinaria**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

**TEMA**

Prevalencia de *Leptospira spp.* en roedores capturados en los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua, noviembre 2014.

**Autores:**

**Br. Yudenia Maykely Álvarez Castillo.**

**Br. Hazell Vanessa López Zapata.**

**Tutores:**

**William Jirón Toruño. PhD**

**Brenda Mora MSc.**

*“A la libertad por la universidad”*

Mayo, 2015



## I Resumen

La leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa, zoonótica de distribución mundial producida por una espiroqueta de las cepas patógenas del género *Leptospira*, que afecta a animales silvestres, domésticos y al ser humano. Nuestro objetivo fue determinar la prevalencia de *Leptospira* spp en roedores capturados en los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua. Se capturaron 83 ratas *Sigmodon hispidus*, de las cuales se obtuvieron 196 muestras de órganos de riñón, hígado, feto, útero y de orina; y 69 muestras de suero para realizar MAT. Encontrando un 18% (15/83) de roedores positivos a aislamiento y un 59% (41/69) de roedores reactivos al MAT, los serovares que reaccionaron con mayor valor de corte fueron el serovar *Icterohaemorrhagiae*, *Serjrooe* y *Lousiana*. En conclusión se reveló la presencia de *Leptosira* spp patógena en los roedores del área estudiada, con un 100% de la especie *Sigmodon hispidus*.

**Palabras Claves:** *Leptospira*, Roedores, Aislamiento y MAT.



## **II Agradecimientos**

Tenemos la dicha de agradecer primeramente a Dios, nuestro creador, por habernos permitido finalizar la culminación de nuestra licenciatura, siendo un apoyo incondicional en nuestros momentos de flaquezas, también agradecemos a nuestros tutores, PhD. William Jirón Toruño y MSc. Brenda Mora, quienes han demostrado ser excelentes mentores, así mismo a Lic. MDV Eveling Pérez y Lic. MDV Álvaro Chávez quienes nos brindaron de su tiempo y apoyo, nos agradecemos mutuamente a mi compañera de Investigación por su colaboración y buena convivencia dentro de nuestro trabajo en equipo. Y por último pero no menos importante a nuestras familias, que son nuestro pilar para seguir adelante.



### **III Dedicatoria**

Primeramente dedico la culminación de este ciclo de estudio a nuestro señor Dios Padre y a mi padre terrenal Areció Álvarez tengo el honor de dedicar la presente investigación, especialmente por sus ánimos brindados y preocuparse siempre a orientarme a buscar el éxito y la superación personal, también con mucho cariño quiero dedicársela a mi abuela Rebeca Castillo, por toda la comprensión y los consejos dados a lo largo de mi vida. Y por último tengo el agrado de dedicársela a mi niño Jeffrey José por convertirse en mi principal motivación de vida y darme momentos de alegría con el simple hecho de ser su madre.

Maykely Álvarez

Quiero dedicar este trabajo primeramente a Dios por darme la oportunidad de culminar mis estudios, por los triunfos y momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más. Por darme la fortaleza para continuar cuando a punto de caer eh estado. Infinitas gracias Diosito. A mi madre Silvia Zapata por ser el pilar más importante de mi vida, por brindarme su amor, consejos y apoyo incondicional. A mis amigos que me han apoyado en todo momento y con los cuales eh compartido momentos muy especiales. A todas aquellas personas que de una u otra forma me apoyaron.

Hazell López



#### **IV Abreviaturas**

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico.

**ARN:** Ácido ribonucleico.

**CEVEDI:** Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación.

**EE.UU:** Estados Unidos de América.

**EMJH:** Ellinghausen McCullough, Johnson y Harris.

**FC:** Fijación del complemento.

**IG:** inmunoglobulina.

**MAT:** Técnica de microaglutinación.

**MINSA:** Ministerio de salud.

**R1:** Rifampicina.

**SILAIS:** Sistemas locales de atención integral en salud.

**Spp:** especie.

**UNAN:** Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

**5-FU:** Cinco fluorouracilo.



## V Glosario

**Aglutinación:** Agrupación de partículas o células.

**Albuminuria:** Consiste en la existencia de albúmina en la orina.

**Anticuerpo:** Proteína producida por linfocitos B tras estimulación por un antígeno, actúa específicamente contra la respuesta inmune.

**Enantemas:** Erupción de una superficie mucosa, generalmente en la boca y la faringe.

**Endotoxinas:** Tòxina retenida en el cuerpo vivo de la bacteria que se separa de ella por desintegración de la bacteria.

**Endémica:** Se aplica a la enfermedad que se desarrolla habitualmente en una región determinada.

**Espiroqueta:** Son un filo de bacterias Gram negativas que tienen células alargadas y enrolladas helicoidalmente. Tienen una longitud comprendida entre 5 y 500  $\mu\text{m}$  y un diámetro de alrededor de 0,1-0,6  $\mu\text{m}$ .

**Epidemia:** Enfermedad que se propaga en una población y que afecta a un gran número de individuo en un corto tiempo.

**Filamento:** Cuerpo filiforme, flexible o rígido.

**Fiebre:** Fenómeno patológico que se manifiesta por elevación de la temperatura normal del cuerpo y mayor frecuencia del pulso y la respiración.

**Hemoglobinuria:** presencia de hemoglobina en la orina.

**Helicoidal:** Que tiene forma de hélice.

**Hepatomegalia:** Aumento de tamaño del hígado.

**Huésped:** Organismo que alberga a otro en su interior o lo porta sobre sí, ya sea un parásito, un comensal o un mutualista.



**Incidencia:** Número de casos nuevos de una enfermedad en una población determinada y en un periodo determinado.

**Mortinatos:** Se presenta cuando un feto que se esperaba que sobreviviera muere durante el nacimiento o durante la segunda mitad del embarazo.

**Patógeno:** Término que se le da a los agentes que originan y desarrollan una enfermedad.

**Prevalencia:** Término utilizado en epidemiología para determinar el número de personas o animales que sufren una enfermedad con respecto a la población en estudio.

**Reservorio:** Población de seres vivos que aloja de forma crónica el germen de una enfermedad la cual puede propagarse como epidemia.

**Saprófito:** Se aplica a plantas y microorganismos que viven a expensas de materia orgánicas muertas o en descomposición.

**Serología:** es el estudio que permite comprobar la presencia de anticuerpos en sangre.

**Serovar o serotipo:** Un serotipo es un tipo de microorganismo infeccioso clasificado según los antígenos que presentan en su superficie celular.

**Zoonosis:** Es cualquier enfermedad que puede transmitirse de animales a seres humanos.



## INDICE

Contenidos	Página
1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes.....	3
1.2 Justificación.....	5
1.3 Planteamiento del Problema.....	6
2. Objetivos.....	7
3. Marco Teórico.....	8
3.1 Definición.....	8
3.2 Sinonimias.....	8
3.3 Historia.....	8
3.4 Taxonomía y Tipificación.....	9
3.5 Etiología.....	11
3.6 Resistencia del agente Etiológico.....	11
3.7 Epidemiología.....	12
3.8 Distribución Geográfica.....	12
3.9 Reservorio.....	13
3.10 Especies Susceptibles.....	14
3.11 Periodo de Incubación.....	14
3.12 Modo de Trasmisión y Fuentes de Infección.....	14
3.13 Factores asociados a la Infección.....	15
3.14 Vías de Penetración.....	15
3.15 Patogenia.....	15
3.16 Sintomatología.....	16
3.17 Diagnóstico.....	17
3.18 Diagnóstico Diferencial.....	20
3.19 Tratamientos.....	21
3.20 Medidas Preventivas.....	22
3.21 Medidas de Control.....	22
4. Diseño Metodológico.....	24
5. Resultados.....	29
6. Discusión.....	33
7. Conclusión.....	35
8. Recomendaciones.....	36
9. Bibliografías.....	37
Anexos.....	42



## 1. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa causada por una espiroqueta patógena, género *Leptospira*, especie *L. interrogans* (*sensu lato*) pertenecen a la familia *Leptospiraceae* (Gamarra, 2008). Esta enfermedad se encuentra distribuida en todos los continentes, lo que conlleva a que probablemente sea la zoonosis bacteriana de mayor distribución en los mamíferos. Su propagación está relacionada con el contacto entre el hombre y animales, principalmente los roedores, así mismo en perros, caballos, bovinos y cerdos. Sin embargo, en todas las especies que padecen leptospirosis, las fuentes de infección se deben buscar preferentemente en las condiciones higiénicas y medio ambiente (Nieto, 2001).

La infección en humanos se adquiere por la exposición directa o indirecta con la orina de animales infectados (Matthias, 2002). La *Leptospira* invade al huésped a través de abrasiones en la piel, también directamente a través de las membranas mucosas o conjuntivas, mucosa nasal, pulmones, y placenta durante el embarazo (Laplume *et al.* 2002). La infección típicamente resulta por contacto con agua o suelo contaminado con la orina de roedores, caninos, vacunos, equinos y suidos (Trevejo *et al.*, 1998), siendo por tanto de suma importancia el rol de los roedores en la epidemiología de esta enfermedad (Collares, 2000)

Los roedores frecuentemente son implicados como portadores y diseminadores de *Leptospiras*; una gran variedad de especies de ratas en casi todas las regiones del mundo son portadoras crónicas, aunque éstas no presentan malestares clínicos perceptibles. Por tanto la presencia de *Leptospira* en el riñón de las ratas supone frecuentes emisiones de la bacteria a través de la orina durante periodos prolongados (Webster, 1995).

Esta enfermedad se caracteriza por fiebre de inicio súbito, cefalea, escalofríos, dolor (especialmente en miembros inferiores) y congestión conjuntival, también puede producir otras manifestaciones clínicas tales como erupciones y eritemas, anemia hemolítica, hemorragia en piel y mucosas, insuficiencia hepatorenal, depresión, miocarditis y abortos, la duración de la enfermedad puede ser hasta de



3 semanas, y muestra dos fases: febril (leptospirémica) y convalecencia (fase inmune), la tercera fase crónica es cuando el huésped queda expulsando la bacteria (O'Farill et al. 2005).

En Nicaragua es una zoonosis de gran relevancia, la enfermedad se ha presentado a partir de 1995, esta epidemia es también conocida como fiebre de Achuapa. En el país la leptospirosis se comporta como una enfermedad endémica, siendo reportado casos casi en todos los departamentos (Rosario, 2012).

Debido a los casos presentados de leptospirosis en Nicaragua se realizó el presente estudio con el objetivo de detectar la presencia de *Leptospira* en roedores capturados en los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua, con el fin de aportar datos para establecer medidas de control y prevención de esta enfermedad.



## 1.1 ANTECEDENTES

1- En 2011 se realizó un estudio en Nicaragua de detección de leptospirosis en ratas (*Rattus rattus*) y ratones (*Mus musculus*), en el municipio del Sauce departamento de León donde el 75% resultaron positivo a *Leptospira* spp. El 67% de los roedores con aislamiento positivos se realizó únicamente a partir de riñón, mientras que el restante 33% se aisló únicamente en orina (Pichardo, 2011).

2- En Nicaragua se realizaron estudios de detección de *Leptospira* spp. en ratas (*Rattus rattus*) y ratones (*Mus musculus*) en el municipio de León (Barrio Sutiaba). Que revelo que el 41.94% presentaron *Leptospira* spp. (Zelaya y Flores 2011).

3- Se reportó una prevalencia del 75% de *Leptospira* en Nicaragua, presentes en ratas y ratones en las comunidades del Ojoche y Jiñocuao, municipio de Somotillo departamento de Chinandega (Espinoza y Sánchez 2011).

4- Se realizaron estudios en Nicaragua de detección de *Leptospira* spp. en ratas y ratones en las Comarcas Carao y Cacao en los casos positivos de leptospirosis humana donde revelo que el 55% de las muestras remitidas al laboratorio fueron positivos, mediante pruebas de aislamiento (Cardoza y Gonzales 2011).

5- En Nicaragua 2011 se realizó un estudio de detección de *Leptospira* en roedores (ratas y ratones) en los barrios Primero de Mayo y William Fonseca de la ciudad de León, se encontró evidencia de *Leptospira* spp en el 27.7% de las muestras remitidas al laboratorio (Morales y Canales 2011).

6- En el año 2012 se caracterizaron 8 aislamientos de casos clínicos de *Leptospira* a través de métodos fototípicos y moleculares en León y Chinandega, Nicaragua. Ninguno de los aislamientos mostraron crecimiento a baja temperatura (13 °C) en medio suplementado con 8- azaguanina (2.25 mg/M) El método molecular dio como resultado la presencia de bandas de amplificación de los genes OmpL1 y lipL32 para los 8 aislamientos. (Rosario *et al*, 2012)

7- En Nicaragua 2013, estandarizaron una múltiplex PCR para el diagnóstico de *Leptospira* patógena y saprófita en muestras de animales domésticos. De 30



cepas sometidas al ensayo lograron la detección de 15 distribuidas en 12 serogrupos, incluyendo la *L. pomona* e *L. icterohaemorrhagiae*, ambas patógenas de gran importancia. La sensibilidad mostrada fue del 50% IC. 95% (30.44- 69.56), mientras que la especificidad fue del 100% IC 95% (95- 100). (Pérez y Salgado, 2013).

García en el 2011 realizó estudios en barrios de León donde la población de roedores reveló en el aislamiento de órganos de roedores 71.74% positivo y el MAT 69.77% de reactores a *Leptospira* (García, 2011).



## 1.2 JUSTIFICACION

El estudio de la leptospirosis es de importancia debido a que esta zoonosis es un problema de salud pública y conlleva a grandes pérdidas económicas. Un factor importante a considerar para el surgimiento y mantenimiento del agente, son las condiciones medio ambientales propicias, sumadas al comportamiento higiénico de las personas en sus hogares. Durante los últimos años, en Nicaragua, se han realizados estudios de *Leptospira* spp. en roedores, sin embargo se requiere estudios continuos para conocer el comportamiento epidemiológico de la enfermedad en las áreas priorizadas. Por ende esta investigación que es realizada en los cañaverales es de gran relevancia, tomando en consideración que este tipo de cultivo propicia el habitat de los reservorios principales, como son los roedores ya que el tipo de explotación utilizado (monocultivo), sumado al largo periodo que transcurre entre cosechas y el tipo de alimento nutritivo que representa, facilitan el desplazamiento y aumento de las poblaciones de roedores salvajes (Hampson, 1982). Por ello, el presente estudio pretende determinar la presencia de *Leptospira* spp. en roedores capturados en los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua. Los resultados servirán para entender mejor el comportamiento de la *Leptospira* en zonas agrícolas, así como el papel que tienen los roedores silvestres para el mantenimiento y trasmisión de la bacteria a humano y otros mamíferos en estas áreas.



### **1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es la prevalencia de *Leptospira* spp. en roedores capturados en los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua, noviembre 2014?



## 2. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la prevalencia de *Leptospira* spp en roedores capturados en los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua noviembre, 2014.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Estimar el éxito de trapeo de roedores en el área de los cañaverales.
- Aislar *Leptospira* spp. en hígado, riñón, feto y orina de roedores capturados.
- Identificar roedores reactivos a *Leptospira* spp mediante la prueba de microaglutinación (MAT).
- Determinar serovares predominantes mediante el MAT.



### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 Definición

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana infectocontagiosa de distribución mundial y de notificación obligatoria, que afecta a animales silvestres, domésticos y al ser humano, la principal fuente de infección en el hombre es el contacto directo de la piel lesionada o mucosas con la orina, alimentos, agua y suelos contaminados por animales infectados (principalmente de roedores). Las *Leptospiras* son espiroquetas que pertenecen al orden *Spirochaetales* y a la familia *Leptospiraceae* (Gamarra, 2008). El periodo de incubación de la enfermedad es de aproximadamente 10 días. Causa una diversidad de síntomas clínicos tanto en el ser humano como en animales (Bal, 2005)

#### 3.2 Sinonimias

La leptospirosis es llamada también enfermedad de Weil, fiebre canicola, ictericia espiroquetica, fiebre de los arrozales, enfermedad de los porqueros o fiebre de los cañaverales (Laguna, 2000).

#### 3.3 Historia

En 1800 Larrey, observo una enfermedad humana que se caracterizaba por fiebre, ictericia y hemorragias petequiales. En 1907, Stimson, diferencio esta enfermedad de otras de sintomatología similar, al realizar cortes de riñón de un paciente que se creía había muerto de fiebre amarilla. Stimson creyó haber descubierto el agente etiológico de la enfermedad y le llamo *Spirochaeta interrogans* (Mechant, 1975).

Los primeros reportes de la enfermedad en caninos fueron hechos por Hoffer, 1850, quien la describió como similar a la infección en humanos. En 1898, esta enfermedad se propago epizooticamente en Alemania debido a lo cual se designó como la enfermedad de Stuttgart, se comprobó que el agente etiológico era *L. Icterohaemorrhagiae* (Mechant, 1975).



En, 1916, Inada y Col. determinaron el agente etiológico de la enfermedad de Weill, al cual llamaron Spirochaeta Icterohaemorrhagiae. En Ecuador, Hideyo Nogucchi (1919), aisló *Leptospiras* de pacientes con fiebre amarilla al cual llamo *Leptospira* icteroides, creyendo que este era el agente de la enfermedad. En 1928, junto con algunos colaboradores Nogucchi diferencio la leptospirosis de la fiebre amarilla (Mechant, y Packer, 1975; Stalheim, 1975).

Posteriormente se realizaron diversos descubrimientos y aislamientos de *Leptospiras*, como los realizados por Lukes y Krivacek en 1924, que observaron la *Leptospira* en perros muertos por la enfermedad de Stuttgart. Okell y Col. comprobaron la presencia de *Leptospira* en perros de caza en Inglaterra. En la ciudad de Pomona, Queensland del Norte, Australia, Clayton y Col. (1937) aislaron la *Leptospira* de lecheros que padecían la enfermedad de los “siete días” y le llamaron Pomona. Posteriormente se observó este serotipo en Italia por Babudieri y Bianchi en 1940, en Argentina por Sabino y Renella en 1944 y posteriormente en EE.UU. por Gochenour y Col (Mechant, 1975).

### 3.4 Taxonomía y tipificación

En 1962 la subcomisión de Taxonomía de *Leptospira* de la Organización Mundial de la Salud acordó dividir a estas bacterias en dos especies: *interrogans* y *biflexa*, basándose en su comportamiento bioquímico, en la capacidad de infectar animales, resistencia a la acción de los iones de cobre bivalentes, en sus características biológicas y en las exigencias de cultivo (Laguna, 2000).

La unidad de agrupación taxonómica es el serovar o serotipo. Los serovares son agrupados por sus afinidades antigénicas. La *Leptospira* se clasifican entre las bacterias de la siguiente manera: (Holt *et al*, 1994).

División: *Procarientes*.

Clase: *Schizomicetes*

Orden: *Spirochaetales*





### 3.5 Etiología

Las *Leptospira* son bacterias pertenecientes al orden *Spirochaetales* y a la familia *Leptospiraceae*, son Gram negativas helicoidales y aerobias obligadas. Miden de 20 a 30  $\mu\text{m}$  de largo por 0.2- 0.3  $\mu\text{m}$  de ancho lo que dificulta su visualización por lo que se requiere el empleo de microscopios de campo oscuro. Son oxidasas positivas, no crecen en medios ordinarios de cultivo, pero si lo hacen en medios suplementados con suero de conejo o en medios tween 80 albumina a un pH de 7.2- 7.4. Dentro de los factores de virulencia de la *Leptospira* patógenas se encuentran endotoxinas, hemolisina, esfingomielinasa, fosfolipasa y proteínas superficiales de adherencia. Mediante técnicas de hibridación del ADN se ha podido establecer la caracterización de diferentes especies de *leptospiras*. Las *Leptospira* consideradas como saprofitas pertenecen a las especies *L. Biflexa*, *L. meyeri* y *L. wolbachii*. Las *L. Interrogans* .consideradas como patógenas se encuentran divididas en siete especies *L. borgpetersenii*, *L. inidai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchi*, *L. santarosai* y *L. weill* (Rodríguez, 2000). La estructura del ADN de estos gérmenes permite clasificarlos en unas 15 genomoespecies, y su composición antigénica permite clasificarlos en unos 25 serogrupos y unos 200 serotipos. Estas clasificaciones, especialmente la antigénica, poseen cierto interés, especialmente epidemiológico (Faine *et al* 1994).

### 3.6 Resistencia del agente etiológico

Las *Leptospira* son microorganismos cuya supervivencia depende ampliamente de variaciones del pH y las condiciones ambientales, ya sea temperatura o humedad relativa. Particularmente son muy sensibles a la desecación, luz solar directa, pH ácido y alcalino ya que un pH menor que 6 o mayor que 8 tiene carácter inhibitorio sobre el microorganismo. Una temperatura menor o igual a 13°C o mayor o igual a 35°C provoca la muerte rápidamente. Además existen distintas sustancias químicas de carácter leptospiricidas: fenol al 5%, alcohol al 70%, formol al 2%, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, soda caustica al 2%, durante 5 minutos, solución al 0,05% de ácido sulfúrico, en 5 minutos. Son sensibles a la solución hipertónica de sal común(2,8%), putrefacción y a la mayoría de los



antibióticos invitro o in vivo como penicilina, estreptomycin, aureomicina y los grupos, macrólidos sensibles también a una temperatura de -70°C de nitrógeno líquido (Sandow *et al.*2005).

### **3.7 Epidemiología**

La leptospirosis está estrechamente vinculada con factores ambientales, que dan lugar a un foco de infección amplio. Las infecciones leves y subclínicas son más importantes desde el punto de vista de transmisión y control, que las afecciones graves. Los casos leves y subclínicos generan un portador urinario que contamina el medio ambiente (Acha, 1977).

La transmisión de hombre a hombre es rara, pues este juega un papel epidemiológico accidental, contribuyendo excepcionalmente a mantener un brote epidemiológico. Por el contrario, el papel de los animales domésticos y silvestres es esencial en la cadena epidemiológica de la enfermedad como zoonosis (Tercero, 1980).

La cadena epidemiológica se establece, como puede deducirse entre un medio ambiente que garantice la supervivencia del agente, el animal silvestre y el animal doméstico (Tercero, 1980).

### **3.8 Distribución geográfica**

La leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial, tanto en zonas urbanas y rurales, excepto en las regiones polares. Se presenta con más frecuencia en los países de clima subtropical o tropical húmedo. Tiene una alta prevalencia en países donde existen grandes precipitaciones pluviales y el suelo es neutro o alcalino y donde existe alta población de roedores peri domiciliaria. En países de clima templado tiende a ser un problema más bien de tipo ocupacional para trabajadores de arrozales y campos de caña de azúcar, granjeros, mineros, trabajadores de alcantarillados, empleados de mataderos, criadores de animales y



médicos veterinarios. Representa también un peligro para bañistas, deportistas y personas que acampan en zonas infectadas (Roca, 2006).

### 3.9 Reservorio

Los reservorios de las *Leptospiras* son animales que mantienen una relación de comensales con las bacterias y no sufren o sufren muy levemente la enfermedad; transfieren las *Leptospiras* a sus crías en útero o el periodo neonatal, favoreciendo la cadena de transmisión. Los portadores son aquellos animales que mantienen las *Leptospiras* viables y con capacidad de multiplicarse en sus riñones, excretándolas intermitentemente por la orina; Los reservorios más importantes son mamíferos pequeños que pueden transmitir la infección a los animales domésticos y a los humanos (Gamarra 2008).

La transmisión depende de muchos factores como el clima, la densidad y el grado de contacto entre el reservorio y los hospederos accidentales. Los roedores pueden ser reservorios de diferentes serovares, pero las ratas generalmente son reservorios de serovares como *icterohaemorrhagiae* y *Ballum*, y los ratones son reservorios para el serogrupo *Ballum* (Alfaro et al, 2004).

Los animales domésticos también son reservorios accidentales; los cerdos albergan a los serovares *Pomona*, *Tarassovi* y *Bratislava*; las ovejas, *Hardjo* y *Pomona*; los perros, *Canicola*; y el ganado vacuno puede albergar serovares como *Grippotyphosa*, *Pomona* y *Hardjo*; El serovar *Hardjo* causa infección en el ganado vacuno en todo el mundo, y produce brotes de mastitis y aborto; también se puede encontrar en fetos abortados y en terneros prematuros (Rodríguez, 2000). Además, se ha aislado en fetos sanos, descarga vaginal y en el tracto genital, urinario.

Las *Leptospiras* en el agua, a temperatura ambiente, permanecen viables durante varios meses con un pH de 7,2 a 8,0 bajo las condiciones del laboratorio, la supervivencia en agua de río es más corta pero es prolongada a bajas temperatura. En aguas servidas domésticas disminuye el tiempo de supervivencia



a pocas horas; en tierra ácida (pH 6,2) sobreviven por siete semanas, y en lodo de tierra por lo menos tres semanas (Sandow et al, 2005). También se piensa que los rezagos de detergentes han reducido la sobrevivencia de la *Leptospira* en los desagües, pues se inhiben a concentraciones bajas de detergente. Cuando la tierra se contamina con la orina de ratas infectadas la *Leptospira* sobrevive durante aproximadamente dos semanas.

### **3.10 Especies susceptibles**

Las especies de mayor importancia económica son bovinos, equinos, porcinos, ovinos y caprinos; también afecta en mayor o menor grado a otros animales domésticos y silvestres como perros, gatos, venados, nutrias, mapaches, zarigüeyas, musarañas, canguros, murciélagos, peces, reptiles, ranas, conejos, zorros, erizos, ratas y ratones, entre otros (Bolin et al, 1989).

La presencia de *Leptospiras* en fauna silvestre ha sido registrada a través de los años y se considera que casi cualquier especie de mamífero, tanto terrestre como acuático puede ser un reservorio del microorganismo. No obstante, la documentación de las icnología de leptospirosis es rara en fauna silvestre (Bharti et al, 2003).

### **3.11 Periodo de incubación**

Promediamente de 10 días, con un rango de 1 a 3 semanas.

### **3.12 Modo de transmisión y fuentes de infección**

La enfermedad se transmite por vía Transplacentaria, digestiva, mamaria, cutánea, por contacto con suelo o alimentos contaminados, siendo el período de incubación variable entre 5 y 14 días, con un máximo de 21 días. Después de la infección inicial, la leptospirurea persiste por meses; los vacunos pueden eliminar microorganismos durante 12 meses, los cerdos pueden actuar como portadores y diseminadores por largo tiempo de la variedad Pomona y Tarassovi, el hombre raramente supera los 60 días de eliminación (Osejo Lanza 1975).



### 3.13 Factores asociados a la infección

Con respecto al ambiente existen ciertos factores que aseguran la mayor supervivencia de la bacteria en el medio, entre ellos está la neutralidad del pH del suelo, las lluvias y las temperaturas templadas. En aguas estancadas la supervivencia puede llegar a las 5-7 semanas y en orina 35 días. El agua es absolutamente esencial para la sobrevivencia de estos microorganismos, por lo tanto es de esperarse un aumento de su presentación en épocas de abundantes lluvias (Trevejo, *et al* 1998).

### 3.15 Vías de penetración

La bacteria penetra a través de la piel erosionada, con cortaduras, o en la piel intacta pero reblandecida por el agua y a través de las mucosas, nasal, ocular y genital (Blood, 1976).

### 3.16 Patogenia

El contacto de abrasiones cutáneas o de mucosas (nariz, faringe, ojos, esófago o vagina) con medios contaminados, es la forma como las espiroquetas penetran al organismo. La enfermedad suele desarrollarse en dos fases: la primera coincide con el periodo febril, durante el cual el microorganismo se encuentra en la sangre (fase Leptospiremica) y persiste de 6 a 48 horas después de una incubación de 4 a 10 días. La fiebre fluctúa de 40.5 a 41.5 C y es en esta etapa cuando es factible el aislamiento de la *Leptospira* en la sangre. La muerte fetal puede presentarse durante esta fase, el aborto suele aparecer de 1 a 4 semanas después (Hanson, 1972).

La segunda etapa coincide con la desaparición de *Leptospira* del torrente circulatorio, el apareamiento de anticuerpos circulantes y la presencia de microorganismos en la orina (fase Leptospirurica). La excreción de las espiroquetas durara un promedio de 36 días y puede persistir hasta por 4 meses (Hanson, 1972).



### **3.17 Sintomatología**

En el ser humano, la bacteria sigue un ciclo similar al que realiza en los otros huéspedes. La enfermedad se presenta en forma brusca manifestándose con fiebre, dolor de cabeza, mialgia (principalmente de pantorrillas y región lumbar), malestar general o postración, náuseas o vómitos, dolor abdominal, diarrea y artralgia (Acha, 2003).

Luego de esta primera fase y de un período sin molestias se puede presentar una segunda fase de mayor gravedad, dependiendo del serogrupo de la bacteria infectante. Este segundo período es llamado también enfermedad de Weill. Entre sus síntomas, se pueden dar: irritación conjuntival, irritación meníngea y rigidez de nuca, insuficiencia renal, ictericia, manifestaciones hemorrágicas intestinales o pulmonares, arritmia o insuficiencia cardíaca y disnea (Acha, 2003).

La enfermedad dura desde unos pocos días hasta tres o más semanas, dependiendo de su gravedad. La mayor parte de las personas presentan sólo una primera fase, con síntomas moderados o sin ningún malestar. La segunda fase puede ser grave y, si no es tratada en forma adecuada y a tiempo, puede tener una recuperación lenta de hasta varios meses, y dejar secuelas renales o derivar en la muerte (Acha, 2003).

En bovinos, la enfermedad puede ser aguda, subaguda y crónica. En la forma aguda son más susceptibles los animales de un mes de edad. Se caracteriza por septicemia, fiebre de 40.5 C°, anorexia, petequias en mucosas, depresión, ictericia, anemia hemolítica con hemoglobinuria, palidez de las mucosas, disnea, suele ocurrir aborto, baja de la producción de la leche y ocasionalmente mastitis. En la forma subaguda se presentan los mismos síntomas, la fiebre es de 39 a 40 C°, existe baja de la producción láctea y esta es de color rojo o anaranjado amarillento. En la forma crónica, generalmente los síntomas son aborto, que se



presenta en el último tercio de la gestación; ocasionalmente se puede presentar meningitis leptospirósica, incoordinación, sialorrea, conjuntivitis y rigidez muscular.

En porcinos, generalmente se presenta la forma crónica; en ovinos y caprinos no se conoce mucho la enfermedad debido a su poca frecuencia y la mayor parte de los animales afectados se encuentran muertos con apariencia septicémica; en equinos, se presenta la forma subaguda; en perros y gatos se presenta la enfermedad desde formas subclínica hasta formas graves; en animales silvestres, la mayoría están adaptados y no manifiestan síntomas clínicos (Acha, 2003).

### 3.18 Diagnóstico

El diagnóstico de los casos de leptospirosis puede ser complicado, debido casi siempre a las características intrínsecas de las *Leptospiras* y a la epidemiología de la enfermedad. En la actualidad, se cuenta con un gran número de técnicas de laboratorio, pero antes de su realización, es conveniente recabar información sobre una serie de datos que pueden orientar al diagnóstico (Ellis, 1994).

Desde el punto de vista clínico se debe de diferenciar de cualquier enfermedad que ocasione disturbios reproductivos. El diagnóstico de laboratorio se divide en dos categorías; diagnóstico serológico que es el más empleado y diagnóstico bacteriológico que implica el aislamiento de la bacteria (Faine et al, 1999).

Las muestras deben de tomarse de manera aséptica y no congelarse. La sangre sin coagular se centrifuga para eliminar el paquete celular, ya que las *Leptospiras* permanecen en el suero (Moles, 1997).

#### Diagnóstico de Laboratorio

##### Pruebas Directas

La demostración de la presencia de *Leptospiras* o sus componentes en la sangre, tejidos y/o leche de animales y humanos con signos clínicos es de gran valor diagnóstico (Ellis, 1996).



Observación en microscopio de campo oscuro.- Este método se realiza para la observación de *Leptospiras* en los fluidos orgánicos; sin embargo, es de difícil aplicación debido al gran número de artefactos que por su parecido con las *Leptospiras*, pueden crear confusión; además, precisa que haya un gran número de microorganismos en las muestras para que las bacterias puedan visualizarse (Ellis, 1994).

Tinciones especiales.- Tinción Argéntica, dentro de este grupo se pueden considerar diferentes técnicas como la de Warthing-Starry y sus modificaciones o la técnica de Steiner (Faine, 1982). Se utilizan para la demostración de *Leptospiras* en los órganos de animales que se presume murieron por la leptospirosis (Ellis, 1996).

La presencia de *Leptospiras* en fetos abortados y mortinatos son indicadores claros de que se trató de una infección activa en el feto y crónica en la madre y por tanto, se le considera de valor diagnóstico, aunque son procedimientos de sensibilidad (Ellis, 1996).

La inmuno-histoquímica. Es una técnica que posee baja sensibilidad y se considera poco adecuada para el diagnóstico de portadores crónicos, porque depende del número de microorganismos presentes en la muestra (Ellis, 1996).

Inmunofluorescencia. Casi siempre se utiliza en el diagnóstico para los casos de abortos (Ellis, 1994) y de la presencia de *Leptospiras* en sedimentos de orina (Timoney et al, 1988). Su mayor desventaja es que necesita de la producción de antisueros policlonales de buena calidad y de la utilización de microscopio de fluorescencia (Ellis, 1994).

Dentro de las técnicas basadas en el análisis de ácidos nucleicos, las más utilizadas han sido las técnicas de hibridación con sondas de ADN marcadas y las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), actualmente la técnica más eficaz para la detección de *Leptospiras* en la orina (Millar et al, 1987; Bolin et al, 1989)



## Técnicas Indirectas

La prueba de microaglutinación (MAT). Se utiliza en lo general como una prueba de rebaño para identificar anticuerpos contra las *Leptospiras* y es la prueba de elección para el diagnóstico indicada por la OIE; sin embargo, para la obtención de información útil, se deben examinar al menos el 10% del rebaño y documentar el historial de vacunación de los animales. Como prueba en un animal aislado, la MAT es muy útil para el diagnóstico de la infección aguda, pues un aumento de cuatro veces en los títulos de anticuerpos en las muestras de pares de sueros agudos o convalecientes tiene valor diagnóstico. Los animales infectados pueden abortar o ser portadores renales/genitales al mostrar títulos de MAT por debajo del título mínimo significativo, que en términos generales se acepta que es de 1:100 (dilución final). Los serovares seleccionados deben cultivarse en el medio de Tween 80 adicionado con albúmina sérica bovina (Tween 80 BSA) o en un medio comercial adecuado a  $29 \pm 1$  °C y el cultivo debe tener al menos cuatro días, pero no más de ocho (OIE, 2004).

La transmisibilidad del antígeno debe ser de 60 a 70% al utilizar un espectrofotómetro con un filtro de 400 nm o tener un valor de 0.5 de turbidez en el nefelómetro de MacFarland. El número de antígenos que se utilizan es determinado y se puede realizar una selección con una dilución del suero de 1:50 (o una dilución de inicio diferente basada en el objetivo de la prueba). A cada pocillo se le añade un volumen de cada antígeno, igual que al volumen del suero diluido, para hacer una dilución final del suero de 1:100 en la prueba de selección. Las placas de microtitulación se incuban a  $29 \pm 1$  °C durante 2-4 horas y se examinan por microscopía de campo oscuro, el grado de reacción se interpreta con la estimación de la proporción de *Leptospiras* que se aglutinan. Si se aglutinan el 100% de las *Leptospiras*, la reacción es 4+; 3+ equivale alrededor del 75% de aglutinación; 2+ equivale al 50%; y 1+ equivale a menos del 50%. Si se realiza una prueba de selección, cualquier suero que obtenga al menos una reacción 2+ a una dilución 1:100 se titula a punto final, con el empleo de diluciones al doble del suero al empezar con una dilución de 1:25 hasta 1:12,800 o más alta. El título de punto



final es la inversa de la dilución más alta con una reacción 2+ o mayor (OIE, 2004).

Prueba de aglutinación microscópica con antígeno muerto (MSAT).- Se utilizan *Leptospiras* formalinizadas y centrifugadas, resuspendidas a una cierta densidad estándar, con una mezcla de (“pool”) de antígenos de varios serogrupos. La aglutinación que se produce es semi cuantitativa y puede leerse a simple vista. Esta reacción es menos específica que MAT, menor nivel de títulos obtenido, mayor reacción cruzada, pero los antígenos son estables a 4 °C por lo menos un año, es específica y de la misma forma que MAT, no diferencia reacción entre anticuerpos de la infección reciente y tardía, pero tiene una buena reacción temprana de la enfermedad si se le compara con MAT (Harskeerl et al, 2000).

Prueba de ELISA.- Las deficiencias que se observan en la MAT, ha obligado a los científicos a emplear esta técnica que ayuda a la identificación de anticuerpos tanto en tanque de leche como en el suero (Guijarro y Calvo, 1999). Es capaz de determinar la IgM durante la primera semana de la enfermedad (Adler et al., 1980) y la determinación tardía de IgG que permite diferenciar infecciones recientes de pasadas (Smith et al, 1994). La identificación de anticuerpos específicos IgM con una sola muestra es confirmatoria de una infección reciente por *Leptospiras* al usar esta técnica. Además, se considera más sensible que MAT, los antígenos son fáciles de estandarizar, se pueden almacenar durante meses, no tiene ningún riesgo para los técnicos y no presenta reacciones cruzadas, pero tampoco puede diferenciar los anticuerpos vacúnales de los infectantes. A pesar de que es una prueba muy eficaz, aún no está considerada como prueba oficial (Sandow et al, 2005).

### **3.19 Diagnóstico Diferencial**

Esta debe realizarse de acuerdo con la presentación clínica de la enfermedad. En las formas anictéricas el diagnóstico diferencial debe establecerse con enfermedades febriles tales como: influenza, dengue, hepatitis virales, neumonía, meningitis virales, mononucleosis, Brucelosis, borreliosis, toxoplasmosis. En la



forma icterica (síndrome de Weil), el diagnóstico diferencial debe hacerse con: hepatitis virales, dengue hemorrágico, malaria, fiebre tifoidea, fiebre amarilla, rickettsiosis, fiebre hemorrágica venezolana e infecciones debidas a antiviruses, Pielonefritis e intoxicaciones (Blood, 1976).

### 3.20 Tratamiento

El tratamiento se basa principalmente en la terapia de soporte, corrección del desequilibrio electrolítico y ácido-básico. La antibioterapia se debe iniciar lo más temprano posible para evitar las lesiones en los tejidos. El manejo y el tratamiento de leptospirosis de moderado a grave deben ser en forma hospitalaria. (Segura at. 2005). Todo paciente con diagnóstico presuntivo de leptospirosis debe ser hospitalizado si es que se presenta los siguientes signos de alarma:

- Fiebre elevada que no cede a antipiréticos (39 °C).
- Vómitos persistentes.
- Dolor abdominal intenso que puede llegar al abdomen agudo.
- Ictericia.
- Manifestaciones hemorrágicas (gingivorragia, hemoptisis, melena, petequias generalizadas).
- Dificultad respiratoria.
- Trastornos hemodinámicos (*shock*).
- Oliguria.
- Signos meníngeos.

#### Casos graves:

**Penicilina sódica** 2 a 4 millones IV cada 4 horas por 10 días. Dosis pediátrica:

Penicilina sódica 6 a 8 millones por metro cuadrado de SC cada 4 horas.

**Ampicilina** 0.5 a 1 g IV cada 6 horas por 10 días. Dosis pediátrica: 100 a 200 Mg/kg/día. (Edwards at, 1988)



### Casos leves:

**Doxiciclina** 100 mg PO cada 12 horas por 10 días. Dosis pediátrica: 25 a 50 Mg/kg/día.

**Ampicilina** 0.50 a 0.75 g IV cada 6 horas por 10 días. Dosis pediátrica: 50 a 100 Mg/kg/día.

**Amoxicilina** 500 mg PO cada 6 horas. (Edwards at, 1988)

### Otros medicamentos recomendados:

Ceftriaxona 1 g IV cada 12 horas por 10 días.

Clindamicina 300 mg IV o PO cada 6 horas por 10 días.

Eritromicina 500 mg PO cada 6 horas por 10 días (Guidugli, 2015).

### 3.21 Medidas de prevención

Se deben llevar a cabo las siguientes acciones:

- Estudiar todas las especies susceptibles y poblaciones en riesgo para determinar la prevalencia y presencia de serovares en cada especie.
- Realizar el aislamiento de cepas de *Leptospira* spp. En distintas especies para conocer los serovares actuantes.
- Realizar estudios de prevalencia de reservorios silvestres.
- Realizar estudios epidemiológicos para conocer la evolución de la enfermedad.
- Implementar programas de control de roedores e higiene ambiental por instituciones de Salud, gobiernos regionales y gobiernos locales.
- Implementar programas de promoción de la salud y de comunicaciones para lograr la participación de la comunidad.

### 3.22 Medidas de control

El control y la prevención de esta zoonosis deben planificarse de acuerdo al tipo de tenencia del animal considerando siempre el riesgo para el hombre.



Para animales de compañía (caninos y felinos). Las mascotas son animales que conviven íntimamente con el núcleo familiar y por ello deben tener control higiénico sanitario permanente por el Médico Veterinario.

Las medidas de higiene se basan en cuidar el ambiente donde se encuentran las mascotas, conviviendo con los humanos.

Los caninos cumplen un papel muy importante como reservorios y para controlar esta situación deben ser sometidos a un plan regular de vacunación. La vacuna existente es una vacuna a germen muerto y por lo tanto debe revacunarse todos los años.

Las vacunas para los caninos tienen los serovares *icterohaemorrhagiae* y *canícola*.

Se debe controlar la población de roedores y evitar el contacto de los animales con los sitios donde éstos se encuentran.

Los recipientes donde se coloca el alimento del animal solamente deben estar disponibles únicamente en el momento de la alimentación.

Un animal enfermo con diagnóstico veterinario, debe mantenerse aislado para evitar la propagación de la enfermedad. (Céspedes, 2005)



### **3. DISEÑO METODOLOGICO**

#### **Tipo de estudio**

Descriptivo, transversal.

#### **Área de estudio:**

Región noroccidental de Nicaragua

#### **Población de estudio**

Ratas de los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua.

#### **Tamaño y tipo de muestra**

Se capturaron 83 roedores en un periodo de tres días.

El total de muestras de órganos y orina, obtenidas para aislamiento fue de 196; de las cuales 82 muestras son de riñón; 21 muestras de orina; 71 muestras de hígado; 21 muestras de feto y 1 muestra de útero.

Se realizó captura de 83 roedores de los cuales se obtuvieron 196 muestras de órganos (riñón, hígado, útero, feto) y orina; 83 muestras de sangre para realizar la prueba de MAT, sin embargo solo se analizaron 69 muestras de suero mediante el MAT. **Anexo 2.**

#### **Captura de roedores.**

La captura se realizó utilizando la técnica de trampeo (metodología de Harrison). Se realizaron trampeos en cuatro campos diferentes, colocando 10 trampas Sherman® en cada uno de los cuatro campos y utilizando galletas de mantequilla de maní como cebo. Las trampas fueron ubicadas entre las 5- 6pm y retiradas al día siguiente entre las 7-8am.



## **Clasificación de las especies de los roedores procesados**

Las ratas y ratones pertenecen a la familia de los múridos, las principales especies, son: ratón doméstico (*Mus musculos*), rata noruega (*Rattus norvegicus*), rata negra o de techo (*Rattus rattus*) y rata de campo (*Sigmodon hispidus*) (Fuentes y Poleo. 2005).

### ***Sigmodon hispidus***

Su nombre común es rata cañera o rata sabanera, esta especie es originaria de Centro América. La forma del cuerpo es robusta, su coloración es café grisáceo a café oscuro con café amarillento, de cola gruesa escamosa, sus ojos y orejas grandes, El tamaño de la cabeza y cuerpo es de 12 a 15 cm, y la cola de 7 a 10 cm. Son muy fecundas, se reproducen todo el año. Su periodo de gestación es de 21 a 27 días. Las crías son precoces, nacen con pelo y maduran sexualmente a los 2 o 3 meses. Posee características similares a *S. alstoni*. Se diferencia por el canal longitudinal superficial anterior en los incisivos superiores.(Fuentes, 2005).

## **Anexo 3.**

### **Sacrificio de los animales y disección**

Todos los roedores obtenidos, fueron anestesiados con cloroformo, posteriormente diseccionados por de personal veterinario del Baylor Collage of Medicine de Houston y del Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI), de la escuela de Medicina Veterinaria UNAN-León.

### **Método para disección**

Se tomo la rata y se colocó sobre una tabla de disección, se sujetaron las cuatro patas. Con la ayuda del bisturí se abrió a la rata por la línea media ventral; se separo la piel y el músculo para exponer la cavidad abdominal. Observar e identificar los órganos abdominales. Posteriormente, se cortó el musculo diafragmático y las costillas, para dejar al descubierto la cavidad torácica. Identificar los órganos localizados en ella.

Todas las muestras fueron rotuladas según su código de ingreso en el CEVEDI.



## **Aislamiento de *Leptospira* a partir de orina, hígado, riñón, útero y feto en medio EMJH.**

Las muestras fueron inoculadas en medio EMJH+5Fu y encubadas a 27- 30 °C, haciendo revisiones semanales en microscopio de campo oscuro, en caso de crecimiento se realizaban pases a nuevos tubos con Rinfampicina EMJH+ 5Fu+ Anfotericina B. Este procedimiento se llevó a cabo en un mes, considerándose una muestra positiva cuando hubo crecimiento en el cultivo original y al menos en un pase, ya sea a partir de orina, hígado, riñón, útero u feto.

## **Descripción de la técnica MAT**

Las muestras de sangre fueron centrifugadas para la extracción de suero, el cual es transferido a tubos Eppendorf y luego se congelaron para su análisis por MAT, el cual se realizó de manera cualitativa y cuantitativa.

Pasos para realizar el test de Micro aglutinación

- Preparación de los sueros: se pusieron a T<sup>o</sup> ambiente descongelar 2 horas antes de proceder a realizar su análisis mediante el MAT.
- Preparación del antígeno: se rotularon los tubos en los cuales se diluyeron los antígenos.
- La dilución del antígeno se realizó tomando 1.5 ml de del tubo de crecimiento y se agregó x PBS (Tampón fosfato- Solución salina).
- Se Marcaron las placas flexibles de 96 pocillos, fondo en U sin tapa no estériles con la numeración de la muestra y de los antígenos correspondientes.

## **MAT cualitativo**

1. Agregar 49 µl de PBS y 1 µl de suero en los pocillos correspondientes.
2. Agregar 50 µl de antígeno el serovar. En la primera línea se depositan 50 µl de PBS y 5.
3. 1 µl de antígeno correspondientes al pozo sin suero, en el control de antígeno.



4. Encubar por dos horas en una temperatura de 37°C.
5. Tomar 10 µl de las muestras preparadas en pozos de placa y montarlas en un porta objetos.
6. Observar al microscopio de campo oscuro a 20x, si hay aglutinaciones (reacción antígeno- anticuerpo) o no.

### **MAT cuantitativo**

1. Rotular las placas con el número de muestra a un lado y al otro lado el número de muestra del antígeno al cual reacciona el cualitativo.
2. Agregar 50 µl de PBS, en el primer pocillo (control) yendo de izquierda a derecha y 50 µl de antígeno.
3. En el segundo pocillo de izquierda a derecha (1/50) agregar 49 µl de PBS y 1 µl suero y 50 µl de antígeno.
4. En el tercer pocillo (1/100) agregar 99 µl de PBS y 1 µl suero. En los pocillos restantes agregar 99 µl de PBS.
5. Realizar las diluciones a partir de tercer pocillo, mezclado con las puntas de pipeta, obteniendo; tercer pocillo; 1/100, cuarto pocillo; 1/200, quinto pocillo; 1/400, sexto pocillo; 1/800.
6. Agregar 50 µl del antígeno correspondiente en los pocillos.
7. Se procede a su incubación por dos horas a 37°C. protegidas las placas de la luz directa.
8. Tomar 10 µl de las muestras preparadas en los pozos de la placa y montarlas en porta- objeto.
9. Observar en el microscopio de campo a 20x, si hay aglutinaciones (reacción antígeno- anticuerpo) o no.

Para este estudio se utilizaron 12 antígenos diferentes correspondientes a cepas de *Leptospira interrogans* de cepario Holandes de CEVEDI. Las cepas utilizadas fueron *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Hebdomadis*, *Icterohaemo*, *Lousiana*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Sejrooe*, *Patoc*. Por ser las de mayor



presentación en el país y las que se encontraban en buen estado para la realización de la técnica.

### **Análisis estadísticos. Como se determinó el índice de captura?**

**Éxito del trampeo:** Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el éxito de trampeo.

$$\text{Éxito de trampeo: } \frac{\text{número de animales capturados} \times 100}{\text{Esfuerzo de captura}}$$

(Steinmann *et al.* 2003)

N° de animales capturado: Se refiere a la cantidad de animales atrapados dentro de las jaulas, más la cantidad de trampas activadas aun cuando estén vacías.

Esfuerzo de captura: se refiere al número de trampas utilizadas.

**Divulgación:** El resultado será divulgado en forma escrita y digital a personas e instituciones interesadas en el tema, además de ser impartido a estudiantes productores y población en general a través de conferencias jornadas de salud, Jornadas científicas, además que servirán como bases de datos en sistema de vigilancia del MINSA e IPSA.

**Análisis de resultados:** Se determinó el porcentaje de roedores infectados en el programa Microsoft Excel y tablas de frecuencia en SPSS. Inc. 18 para realizar un análisis descriptivo, con los datos sobre sexo y demás datos obtenidos se utilizó el cálculo de **Chi** cuadrado de **Pearson** tomando como referencia un valor de significancia < de 0.05.

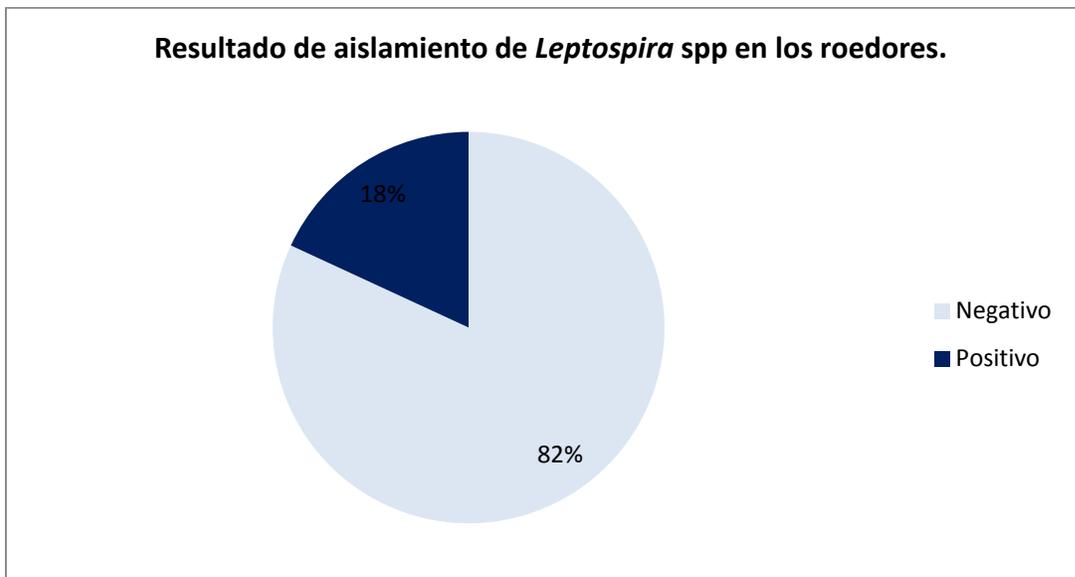


#### 4. RESULTADOS

El éxito de trampeo de roedores es de 69.16%. Todas las ratas capturadas pertenecen a la especie *Sigmodon hispidus*. La población se divide en 44 hembras y 39 machos.

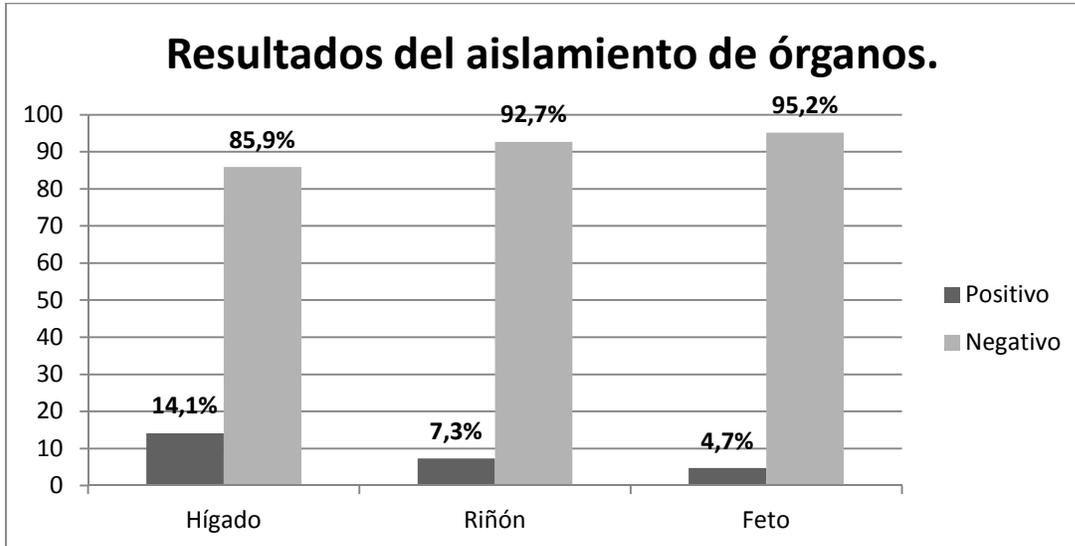
Según Fuentes y Poleo. 2005; las características morfológicas de las ratas encontradas en los cañaverales pertenecen a la especie *Sigmodon hispidus* esta rata cañera o rata sabanera, es originaria de Centro América. La forma del cuerpo es robusta, su coloración es café grisáceo a café oscuro con café amarillento, de cola gruesa escamosa, sus ojos y orejas grandes, El tamaño de la cabeza y cuerpo es de 12 a 15 cm, y la cola de 7 a 10 cm **Anexo 3**

Los resultados del aislamiento de *Leptospira* spp en los roedores capturados fue de 18% (15/83) positivo y 82% (68/83) negativo.

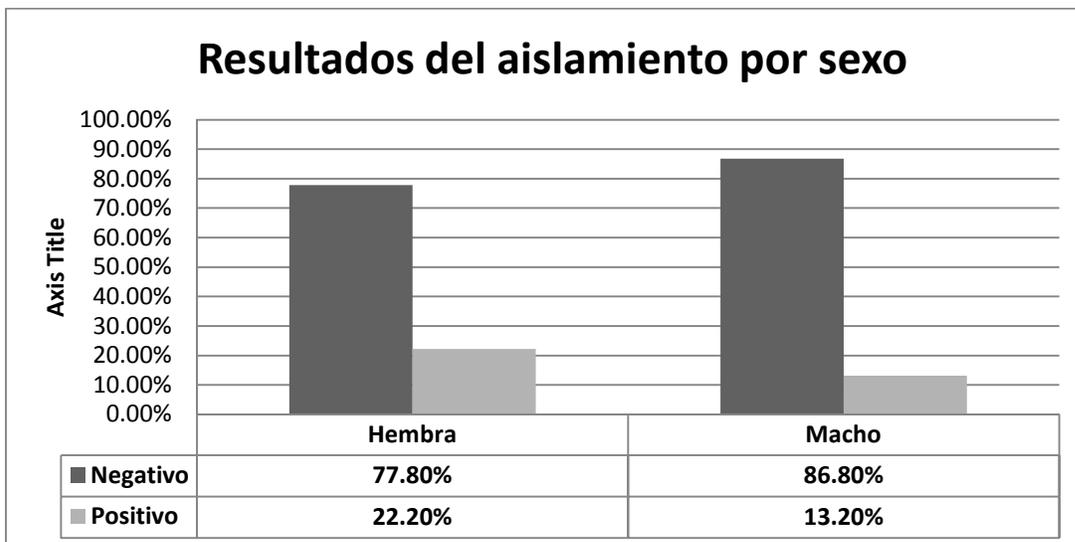




El aislamiento de *Leptospira* spp a partir de hígado, riñón y feto en los roedores de la especie *Sigmodon hispidus* aparece en la figura 4. En el hígado se encontró el 14.1% (10/71), en riñón 7.3% (6/82) y en feto el 4.7% (1/21) de positividad.

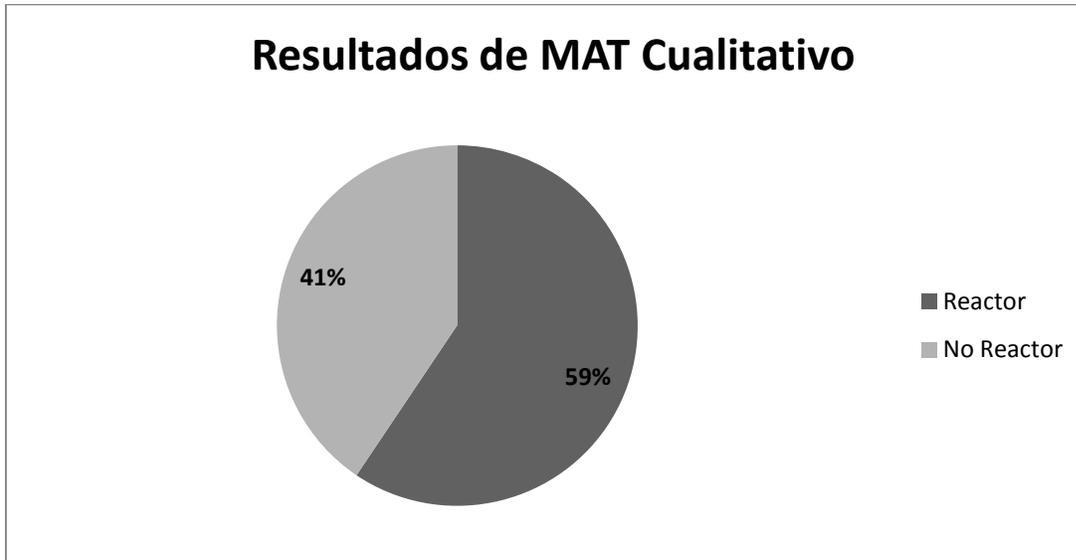


En el aislamiento por sexo se encontró positividad de 22.2% (10/44) en las hembras y 13.2% (5/39) en los machos, estos valores no muestran significancia  $p=0.132$ .

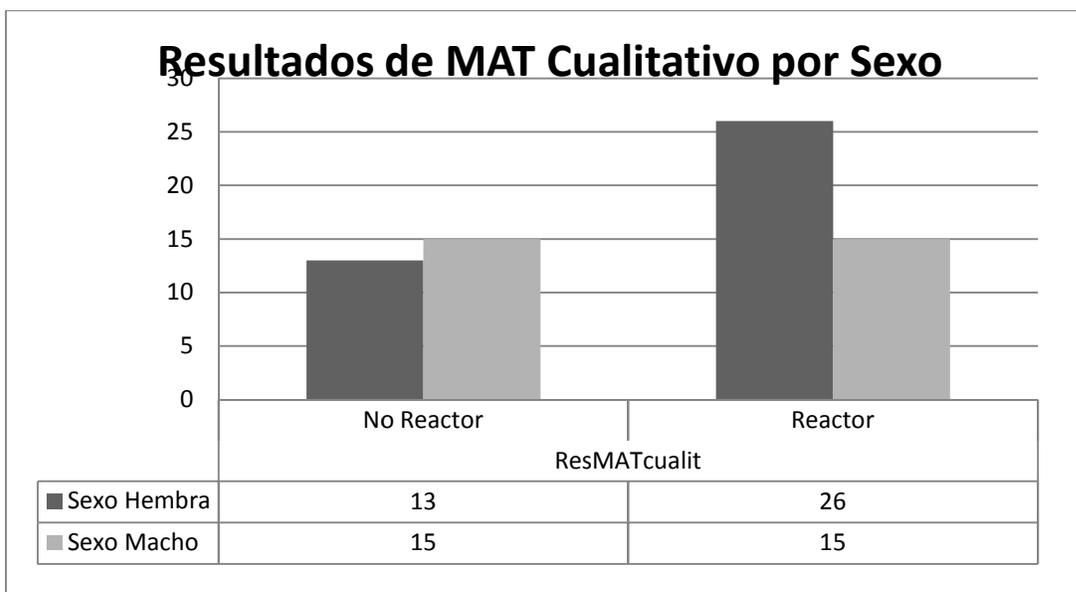




Las muestras de suero analizadas mediante el MAT cualitativo fueron 69. El 59.4% son reactores y el 40.6% no reactores.

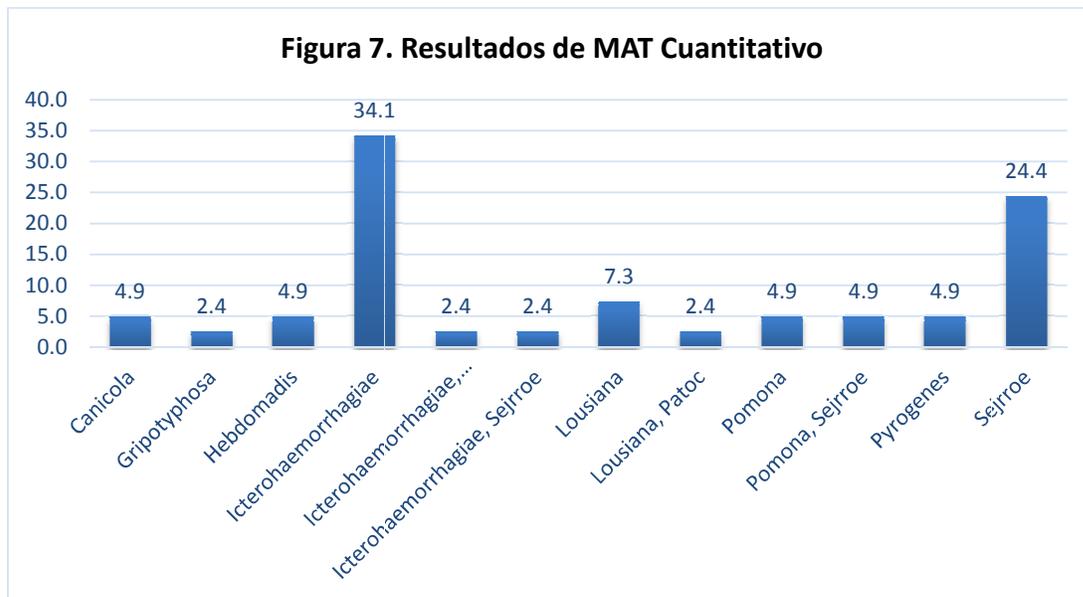


En el MATcualitativo por sexo se encontró un 26% de hembras rectoras y un 15% de machos rectoras. Estos datos no son significativos  $P = 1.953$ .





Los resultados del MAT cuantitativo evidencian que todas las muestras reaccionaron a los 12 serovares seleccionados de *Leptospira interrogans* del cepario Holandes del CEVEDI. Los serovares con mayor porcentaje fueron el serovar *Icterohaemorrhagiae* con 34.1%; el *Sejirroe* con 24.4% y el *Lousiana* con 7.3%-





## 5. DISCUSIÓN

Este estudio reporta por primera vez la presencia de *Leptospira* spp en ratas de la especie *Sigmodon hispidus*, localizadas en los cañaverales de la región noroccidental de nuestro país. Los roedores, y en especial las ratas por su amplia distribución y por su carácter de excretoras de *Leptospira* de por vida, juegan un papel epidemiológico relevante como reservorios.

Los cultivos de caña de azúcar (*Sacharum officinarum*) son particularmente sensibles al ataque de los roedores. Producen un alimento de alto valor nutritivo y mantienen una excelente cobertura y protección ante el ataque de aves depredadoras. Además, el tipo de explotación utilizado (monocultivo), la existencia, a veces, de zonas cercanas no cultivadas, facilitan el desplazamiento y aumento de las poblaciones salvajes de roedores (Hampson, 1982), Constituyendo zonas de riesgos para la población humana.

El muestreo reveló que la población de ratas existentes en los cañaverales de la región noroccidental de nuestro país, pertenecen a la especie *Sigmodon hispidus*, Su nombre común es rata cañera o rata sabanera, esta especie es originaria de Centro América (Fuentes y Poleo. 2005).

Se encontró evidencia de *Leptospira* spp. en un 18% (15/83) de las muestras analizadas en aislamiento, los reactores positivos revelan a las ratas portadoras y excretoras que ya han pasado el estado de leptospiremia. Otros estudios realizados por García, 2011; y Pichardo 2011, reportan prevalencias más altas 71.74% y 75% respectivamente; esto se debe a la baja cantidad de muestras y que el muestreo pertenece a lugares con antecedentes con leptospirosis humana como también es en el caso de Carrasco y Ocampo, 2012 con una prevalencia de 27.3% (12/44) perteneciente a puntos localizados con antecedentes. Cabe destacar que estos estudios reportan *Leptospira* en roedores de las especies *M. musculus* y *R. rattus*.



Obtuvimos porcentajes mas altos de aislamiento de órganos en hígado, en otros estudios se evidencio mayores porcentajes en riñón, de lo cual nos surge la hipótesis; ya que los roedores son el reservorio natural de la *L. Icterohaemorrhagiae* y no de *L. Sejrooe* y *L. Louisiana*, es posible que estas se hallan encontrado en hígado y no en riñón. Estos resultados se obtuvieron de las revisiones semanales por un mes, cabe la posibilidad que durante el seguimiento que se da de hasta un año se encuentren porcentajes mas altos de crecimiento.

En los resultados de aislamiento por sexo no muestran significancia ya que el valor de  $P >$  es mayor a 0.05 lo cual nos indica que no hay significancia estadística y que el sexo no esta asociado a la enfermedad.

Con respecto a nuestros resultados los valores de ratas rectoras al MAT fueron altos ya que ante un proceso infeccioso los primeros anticuerpos en actuar son las inmunoglobulinas IgM o anticuerpos de fase aguda. El resultado de la prueba de microaglutinación reflejan respuesta inmunitaria ante *Leptospira* en un 59% los que estarían en un estado de portadores o enfermos sin embargo los no rectoras no pueden declararse como no afectados, es por ello que se complementan estas dos pruebas para dar un diagnóstico certero.

Estudios similares a este como los realizados por García, 2011 revelan prevalencias con altos porcentajes de el MAT 69.77% de rectoras a *Leptospira*. Espinoza y Sánchez, 2011 también obtuvieron porcentajes altos de 85% de roedores rectoras utilizando la técnica MAT.

Los principales serovares que reaccionaron al MAT fueron la *L. Icterohaemorrhagiae* con un 34.1%; *L. Sejrooe* un 24.4% y *L. Louisiana* con un 7.3%. Otros estudios como el realizado por Cardoza y González (2011) reportaron que el serovar con mayor frecuencia fue *Icterohaemorrhagiae* con un 30% (6/20). García 2011 reportó 69.77% (30/43) de el serovar predominante *Louisiana* es posible que las variaciones en los serovares dependen de los serovares circulantes en cada región.



## 6. CONCLUSIONES

- ❖ El éxito de trapeo de los roedores en los campos de estudio fue del 69.16%.
- ❖ El 100% de los roedores capturados pertenecen a la especie *Sigmodon hispidus*.
- ❖ Se detectó por primera vez la presencia de *Leptospira* spp. en roedores (*Sigmodon hispidus*) de los cañaverales de la región noroccidental de Nicaragua.
- ❖ Se aisló *Leptospira* spp. en un 18% (15/83) de ratas.
- ❖ El porcentaje más alto de aislamiento fue en hígado con un 14.1%.
- ❖ Se encontró el 59% de reactores a la técnica MAT. Con una dilución mínima de 1:100 y máxima 1:400.
- ❖ Los serovares predominantes fueron la *L. Icterohaemorrhagiae* (34.1%), *L. Sejrooe* (24.4%) y *L. Lousiana* (7.3%).



## **7. RECOMENDACIONES**

- ❖ Establecer programas de control y monitoreo por parte de las autoridades involucradas.
- ❖ Continuar con el abordaje integral para la prevención y el control de la leptospirosis por parte del MINSA, IPSA, UNAN-León y representantes del poder ciudadano.
- ❖ Establecer programas de control de roedores tanto en las zonas rurales como urbanas.
- ❖ Sensibilizar a la población sobre el papel que juegan las ratas y ratones en la transmisión de leptospirosis.
- ❖ Ofrecer charlas a las poblaciones con mayor prevalencia de leptospirosis, sobre el papel que juegan los animales en la transmisión de la enfermedad.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al Hombre y a los Animales. Vol. 23ra ed. Washington D.C. Organización Panamericana de la Salud. 2005. Pp 371.

Adler B, de la Peña MA. *Leptospira* and leptospirosis. Vet Microbiol.2010; 140: Pp 287–296.

Alfaro C, Aranguren Y, Clavijo A. Epidemiología y Diagnóstico de la leptospirosis como fundamentos para el diseño de estrategias de control. Rev. Venezuela. 2004. (6).

Bal AM. Inusual clinical manifestations of leptospirosis. J Posgrad Med, 2005; 51: Pp.:179- 183.

Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, *et al.* Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis. 2003; 3(12): Pp 757-71.

Branger C, Blanchard B, Fillonneau C, Suard I, Aviat F, Chevallier B. Andre-Fontaine G. Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic *Leptospira* based on the gene hap1 encoding the hemolysis-associated protein-1. *FEMS Microbiol. Lett.* (2005).234, Pp 437–445.

Blood, D.C.; Radostits, O.M. and Henderson, J.A. Medicina Veterinaria. Trad. Dr. F. Colchero A. MX, 4a. Edición, Interamericana. 1976. Pp 459-466.

Bolin C.A., Zuerner R.L., Trueba G., Comparison of three techniques to detect *Leptospira interrogans* serovar *hardjotypehardjo-bovis* in bovine urine. Am.J. Vet.1989b. Res 50, Pp 1001-1003.



Cardoza Y, González A. Detección de *Leptospira* en ratas y ratones de las Comarcas Caraos y Cacaos alrededor de los casos positivos de Leptospirosis en humanos del municipio de Achuapa departamento de León, diciembre 2010 a marzo 2011. (Tesis de licenciatura). Nicaragua: Universidad Nacional autónoma de Nicaragua. Mayo 2011.

Carrasco A, Ocampo W. Prevalencia *Leptospira* spp. en roedores capturados en las localidades con casos positivos a leptospirosis humana de los SILAIS León, Estelí, Chinandega, Agosto-Diciembre 2012. (Tesis de licenciatura). Nicaragua: Universidad Nacional autónoma de Nicaragua. 2013.

Cole J.R., Ellinghausen H.C. Rubin H.L. Laboratory diagnosis of leptospirosis of domestic animals. *Proc. U.S. Anim. Health Assoc.*1980. 83, Pp 189–199.

Collares- Pereira M, Mathias ML, Santos Reis M. Ramalhinho MG; Duarte Rodrigues P. Redents and *Leptospira* transmissionrisk in terceiraisland (Azores).*Eur J Epidemiol* 2000. 16(12): Pp 1151-7.

Edwards CN, Nicholson GD, Hassell TA, EverardCO, Callender J. Penicillin therapy in icteric leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 39(4): Pp 388-90.

Ellis W A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North Am;food Anim.*1994. Pract.10: Pp 463-478.

Ellis W A. Leptospirosis. *OIE Manual: Amedment I.* 1996. 1-8.

Faine S, Adler B, Bollin C, Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis, 2<sup>nd</sup>ed Melbourne. *Med. Sci.* 1999. Pp. 272.

Fuentes L. y Poleo, C. Bioecología de las principales especies de roedores cricétidos de Venezuela. *Revista Digital CENIAP HOY* Número 8 mayo-agosto 2005. Maracay, Aragua, Venezuela. *Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela.* 2005.



Gamarra Roberto. Leptospirosis. En: Curso de maestría en salud animal. 2008.

Guidudli F, Castro A A, Atallah A N. Antibioticos para la leptospirosis (Revision Cochrane traducida). "citado el 13 de febrero de el 2015.http: //www.update – software.com.

Hanson LE, Tripathy DN, Killinger AH. Current status of Leptospirosis inmunization in swine and cattle. Sl. Journal of the amer. Vet. Med. Assoc. Se. 1972.vol161. Pp. 1235-1242

Holt J.G, Hrieg N.R, Sneath. P, Staley J.T, Williams S. Manual of Determinative Bacteriology. ED, Baltimore, USA. 9th edición 27- 37. 1994.

Laguna V. Instituto Nacional de Salud. Leptospirosis. Lima: instituto nacional de salud; 2000. Serie Documentos Monográficos: 2.

Laplumé H, Blumenfeld M, Leptospirosis. SADI. 2002. 1(2): Pp 3-10.

Levett P.N, Morey R.E, Galloway R.L, Turner D.E, Steigerwait A.G, Mayer L.W. Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *J. Med. Microbiol.*, (2005). Pp, 45–49.

Manuel Céspedes Zambrano. Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú. Lima 11.Pp, 295.

Matthias M.A, Levett P.N. Leptospiral Carriage by mice and mongoose on the island of Barbados. *WestIndias Med. J* 2002; 51 (1): Pp 10-3.

Merchant I, Packer, R. Microbiología y Virología Veterinaria. 3 ed. ES. Editorial Acribia.1975. Pp 599-605,728-735.

Millar B.D, Chappel R.J, Adler B. Detection of leptospires in biological fluids using DNA hybridisation. *Vet. Microbiol.* 1987.15, Pp 71-78.



Moles L .P, Gavaldon R. D. Diagnóstico de leptospirosis en diagnostico veterinario. Editor Valero E; German 3ra. Edición,1997. sociedad de patólogos veterinarios AC. Pp: 132- 136.

Morales S, Canales D. Detección de **Leptospira spp.** en roedores Primero de Mayo y William Fonseca de la ciudad de León. (Tesis licenciatura). Nicaragua: universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; noviembre 2011.

Nieto H. Epidemiología de la Leptospirosis. Boletin de temas de salud de la asociación de médicos municipales de la ciudad de Buenos Aires. Suplemento del diario del mundo hospitalario; 2001.

O'Farill N. Hipólito. La leptospirosis. Colegio de ciencias agrícolas. 2005;(11).

OMS. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control / Organización Mundial de la Salud; traducción del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. - Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa –VP/OPS/OMS, 2008.

Osejo Lansa, FA. Prevalencia de Leptospirosis bovina en el departamento de Matagalpa, Nicaragua. Tesis Lic. Guatemala. GT. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC.1975. Pp 85.

Pérez L E; Salgado S K. Estandarización de un múltiplex PCR para el diagnóstico de leptospira saprofita y patogenia en muestras de animales domésticos. UNAN-León. Nicaragua, 2013.

Pichardo O. Detección de leptospira en ratas y ratones de las comarcas San José y El Guacimal alrededor de los casos positivos de Leptospirosis en humanos del municipio de El Sauce departamento de León, diciembre 2010 a marzo 2011. (Tesis licenciatura). Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; mayo 2011.



Reyes A, Sánchez R. Detección de *Leptospira* spp. en ratas y ratones de las comunidades Ojoche y Jiñocua alreedor de los casos positivos de leptospirosis en humanos del municipio de Somotillo departamento de Chinandega, febrero 2011. (Tesis licenciatura). Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; agosto 2011.

Roca B. Leptospirosis. Unidad de enfermedades infecciosas. REV MED UNV NAVARRA. 50 N° 2. 2006. Pp. 3-6.

Rodríguez Germán. Estado actual de la leptospirosis. MVZ-CORDOBA 2000; 5:(1), Pp 61-63.

Rosario L A; Arcibia D F; Batista N; Jirón W, et al. Caracterización de aislamientos clínicos de leptospira por métodos fenotípicos y moleculares en la república de Nicaragua. Vaccimonitor. 2012; 21(3): Pp 612.

Sandow K; Ramírez W. LEPTOSPIROSIS, Centro de Estudios Prevención y Mitigación de Desastres Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Granma. Revista electrónica veterinaria, REDVET. 6: 2005. Pp 1-61.

Segura ER, Ganoza CA, Campos K, Ricaldi JN, Torres S, Silva H, et al. Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with quantification of leptospiral burden. Clin Infect Dis 2005; 40(3): Pp 343-51.

Stalheim, O. Chemotherapy of renal Leptospirosis in cattle. S.I. Amer. Journal vet. res., S. e vol 30.1975. Pp. 1318-1323

Tercero, EE. Estudio serológico de la Leptospirosis bovina en el occidente de Guatemala. Tesis Lic. Guatemala. GT. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC.1980. Pp. 37-45.



Trejejo R; Rigau. Pérez J; Ashford D, McClure E; Jarquín – Gonzales C. Amador J. et. al. epidemic Leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage Nicaragua, 1995. J Inf. Dis 1998; Pp 178.

Webster J. P, Ellis W.A, Macdonal D.W. prevalence of *Leptospira* spp. in wild brown rats (*rattus norvegicus*) on UK farms. Epidemiol Infect 1995; 114 (1): Pp 195-201.

Zelaya Mendoza, Flores Sánchez. Detección de *Leptospira* spp. en ratas (*Rattus rattus*) y ratones (*mus musculus*) en el Barrio Sutiaba, Marzo 2011. (Tesis licenciatura). Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; noviembre 2011.



## ANEXOS

**Tabla 1.** Cepas de *Leptospira* empleadas como antígenos MAT

Especie	Serogrupo	Serovar	Cepa
<i>Leptospira interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M 20
	Australis	Bratislava	Jez Bratislava
	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno
	Bataviae	Bataviae	Swart
	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
	Djasiman	Djasiman	Djasiman
	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus 127
	Javanica	Javanica	VeldratBatavia 46
	Mini	Mini	Sari
	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
<i>Leptospira kirschneri</i>	Pomona	Mozdok	5621
	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>Leptospira weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
	Sarmin	Sarmin	Sarmin
<i>Leptospira noguchii</i>	Louisiana	Louisiana	LSU 1945
	Panama	Panama	CZ 214
<i>Leptospira meyeri</i>	Ranarum	Ranarum	ICF



<i>Leptospira santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342 K
<i>Leptospira fainei</i>	Hurstbridge	Hurstbridge	BUT 6 <sup>T</sup>
<i>Leptospira inadai</i>	Manhao	Lichuan	L 130

## Anexo 2.

### Ficha de recolección de datos

UNAN – LEON  
 Laboratorio de Leptospirosis  
 Escuela de Medicina Veterinaria  
 Centro Veterinario Diagnóstico e Investigación (CEVEDI)

Fecha: Día \_\_\_\_\_ / Mes \_\_\_\_\_ / Año \_\_\_\_\_  
 Departamento \_\_\_\_\_ Municipio \_\_\_\_\_ Comarca \_\_\_\_\_  
 Finca: \_\_\_\_\_

NOMBRE DEL CASO: \_\_\_\_\_

Datos generales					N° de ficha:		
Propietario:					ID	Especie	Sexo
<b>Día 1</b>							
N° de trampas colocadas:					N° de trampas activadas:		
<b>Día 2</b>							
N° de trampas colocadas:					N° de trampas activadas:		
<b>Total de roedores capturados:</b>							
<b>Datos de laboratorio</b>							
Muestras extraídas					Diagnóstico utilizado		
ID	Sangre	Riñón	Orina	Otras	Aislamiento	MAT	



						Resultados obtenidos
Observación:						

### Anexo 3.

#### *Sigmodon Hispidus*



### Anexo 4.

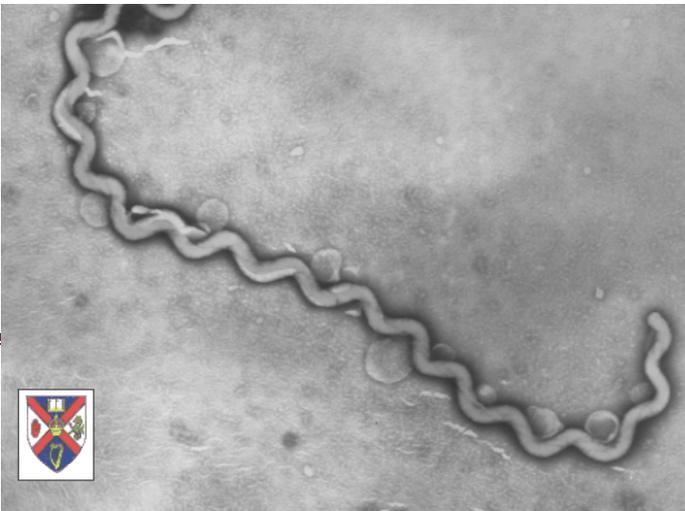


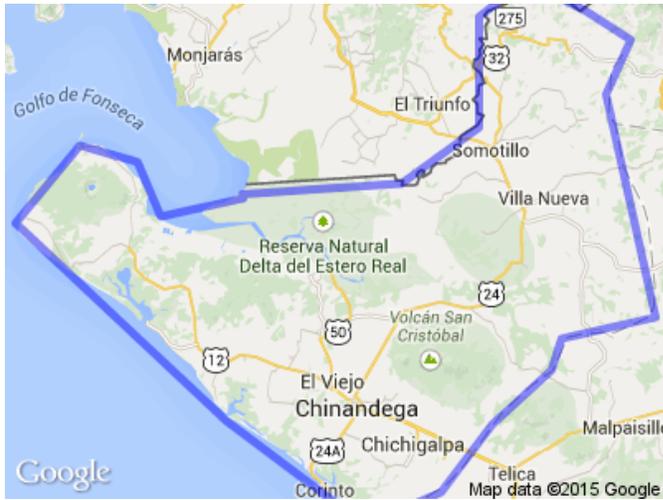
Imagen de *Leptospira*, vista en microscopio de campo oscuro.





### Anexo 5.

Región noroccidental de Nicaragua.



### Anexos 6.

