

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Epidemiología de la leptospirosis bovina en
México**

POR:

Ricardo Heberto Soto Muñoz

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Epidemiología de la leptospirosis bovina en
México**

MONOGRAFÍA

POR:

Ricardo Heberto Soto Muñoz

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR PRINCIPAL

Dr. Francisco J. Carrillo Morales

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MONOGRAFÍA

**Epidemiología de la leptospirosis bovina en
México**

Monografía Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO

Dr. Francisco J. Carrillo Morales

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**

MC. José Luís Fco. Sandoval Elías

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Epidemiología de la leptospirosis bovina en México

Monografía Aprobada por el H. jurado examinador

**Dr. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES
PRESIDENTE**

**IZ. JORGE H. BORUNDA RAMOS
VOCAL**

**MVZ. CUAUHTÉMOC FELIX ZORRILLA
VOCAL**

**MC. SILVESTRE MORENO ÁVALOS
VOCAL SUPLENTE**

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2007

RESUMEN

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 muchos serovariedades en todo el mundo, siendo al hombre y los animales de explotación económica y social hospederos accidentales. Las prevalencias y tasas de incidencias publicadas para esta enfermedad en el mundo varían notablemente según la zona y pueden llegar a alcanzar valores elevados en tiempos de inundaciones y en los países tropicales y subtropicales. Además, presenta un importante aspecto socio-económico y sanitario, que radica principalmente en las pérdidas económicas de carácter reproductivo y productivo en la ganadería y en el hecho de que es una zoonosis (zoonosis). Una serie de documentos existentes de diversos trabajos en el mundo de la epidemiología y seroprevalencia con distintos serovares de leptospirosis han sido publicados en varias revistas de reconocida calidad de los cuales en este documento se dan a conocer algunos a continuación.

Palabras Claves: Leptospirosis, *Leptospira*. Seroprevalencia, Epidemiología.

DEDICATORIA

IN MEMORIAM

*MANUEL SOTO RUEDA, POR TU AMISTAD Y
MOTIVACIÓN (Q.E.P.D.).*

*A MIS PADRES ING. GREGORIO SOTO Y JOSEFINA
MUÑOZ POR SU APOYO Y COMPRENSIÓN.*

A MIS HERMANOS CATALINA, ALONSO Y GREGORIO.

*A MI FAMILIA Y TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE ME
BRINDARON SU APOYO.*

AGRADECIMIENTOS

A DIOS POR ABRIRME EL CAMINO Y AYUDARME A SEGUIR ADELANTE A PESAR DE LOS TROPIEZOS QUE HE TENIDO.

A MIS PADRES GREGORIO Y JOSEFINA POR SU APOYO Y SER UNA GUIA EN EL CAMINO DEL BIEN.

A MIS AMIGOS VLADIMIR, JOSÉ (GALLO), CARLOS, EDGAR (PILO), JUAN ZAVALA, EVER, JUAN A. RUBIO.

A THÉDDY POR APOYARME SIEMPRE DE ALGUNA U OTRA FORMA...

A MI ASESOR DR. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES POR SU AMISTAD, APOYO Y ORIENTACIÓN EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TABAJO.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE ALGUNA U OTRA FORMA COLABORARON PARA CUMPLIR MIS OBJETIVOS.

A todos: "Gracias"

INDICE

Contenido	Pag.
INTRODUCCIÓN	1
ASPECTOS HISTORICOS	2
SINONIMIAS	5
IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SANITARIA	6
RESERVORIOS	7
TAXOMIA Y CLASIFICACIÓN	10
Clasificación taxonómica y especies de <i>Leptospira</i>	11
Clasificación serológica	12
Clasificación alternativa	13
ETIOLOGÍA	13
Resistencia del agente etiológico	15
EPIDEMIOLOGÍA	17
Antecedentes	17
Especies susceptibles	24
Hospedero de mantenimiento	24
Infección crónica	25
Hospederos accidentales	26
Distribución geográfica y prevalencia	26
Fuentes de infección	28
Agua.....	28
Orina.....	29
Leche.....	29
Tejido animal.....	30
Descargas posparto.....	30
Saliva.....	30
Factores asociados a la infección	30
Dependiente del agente etiológico.....	30
Dependientes del hospedero.....	31
Dependientes del medio.....	32
VIAS DE TRANSMISIÓN	32
Horizontal	32
Horizontal directa.....	33
Horizontal indirecta.....	33
Vertical	34
PATOGÉNESIS	34

Mecanismo general de patogénesis	35
Mecanismo fisiopatológico de la ictericia y la hemoglobinuria.....	35
Mecanismo del aborto.....	36
SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA	36
Frustrada	38
Sobreaguda	38
Aguda	38
Subaguda	39
Forma crónica	39
LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS	39
RESPUESTA INMUNE	40
DIAGNÓSTICO	41
Diagnóstico epidemiológico	41
Humanos.....	42
Animales.....	42
Diagnóstico clínico	42
Diagnóstico de laboratorio	42
Técnicas indirectas.....	43
Técnicas directas.....	46
Diagnóstico diferencial	49
PROFILAXIS	49
Inmunoprofilaxis	50
Profilaxis higiénico-sanitario	51
RECOMENDACIONES	51
TRATAMIENTO	52
LITERATURA CITADA	54

INTRODUCCIÓN

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 al hombre y los animales de explotación económica y social hospederos accidentales (Institut Pasteur, 2000).

Las prevalencias y tasas de incidencias publicadas para esta enfermedad en el mundo varían notablemente según la zona y pueden llegar a alcanzar valores elevados en tiempos de inundaciones y en los países tropicales y subtropicales. Además, presenta un importante aspecto socio-económico y sanitario, que radica principalmente en las pérdidas económicas de carácter reproductivo y productivo en la ganadería y en el hecho de que es una zoonosis (zoonosis) (Acha *et al.* 2001).

En la ganadería su importancia radica sobre las pérdidas económicas que produce en la reproducción donde pueden aparecer, mortinatos, abortos y/o nacimientos de animales débiles e infertilidad. Resulta difícil estimar las pérdidas por este concepto, en gran parte por las dificultades inherentes al diagnóstico de la enfermedad también, se debe añadir los gastos en medicamentos referentes a las personas que enferman por *Leptospira* (Pumarola *et al.* 2002).

Se analizó la información publicada recientemente considerando las diferentes regiones ecológicas de México, con el objetivo de conocer la situación de la leptospirosis bovina. Los resultados de frecuencias y serovariedades de Leptospirosis son mencionados por estados, considerando las diferentes regiones ecológicas y hacen referencia a 17 estados. En la región árida y semiárida la frecuencia fue 37,8% con un rango de 22,1 a 54,3% y las serovariedades de mayor prevalencia fueron cepa H-89 (*hardjo* genotipo *hardjoprajtno*), *hardjo*, *wolffi* y *tarassovi*. Trópico seco con una frecuencia de 45,9% y un rango de 27 a 72%, las serovariedades con mayor prevalencia fueron *wolffi*, *hardjo* y *tarassovi*.

trópico húmedo, la frecuencia fue 63,8% con rango de 31,7 a 84,6%, las serovariedades más prevalentes fueron cepa H-89 (*hardjo* genotipo *hardjoprajitno*), *hardjo*, *wolffi* y *tarassovi*. Clima templado, la frecuencia promedio de leptospirosis fue de 39,4% con un rango de 22,1 a 54,3%. Las serovariedades con mayor prevalencia fueron la cepa Palo Alto (*icterohaemorrhagiae*), cepa Sinaloa ACR (*portland-vere*), *bratislava*, *pyrogenes*, *pomona*, cepa H-89 (*hardjoprajitno*), *hardjo*, *wolffi* y *tarassovi*.

La presencia de anticuerpos contra *L. interrogans* determina que es endémica en las diferentes regiones ecológicas de México y que existe una prevalencia elevada de las serovariedades *hardjo*, *wolffi* y *tarassovi*; aunque en la región templada existen también la cepa Palo Alto (*icterohaemorrhagiae*), cepa Sinaloa ACR (*portland vere*) y *bratislava*. Aparentemente existe influencia del clima en la frecuencia de presentación de las serovariedades. Este es el primer análisis realizado en México de Leptospirosis bovina referida a las diferentes regiones (Moles *et al.* 2002).

ASPECTOS HISTÓRICOS

La leptospirosis es una enfermedad infecto – contagiosa de carácter zoonótico), de distribución mundial, producida por cepas patógenas del género *Leptospira*, incluida en las especies *L. interrogans* las cuales poseen las mismas características morfológicas y fisiológicamente uniforme, pero que serológica y epidemiológicamente son muy diversas, caracterizada por un estadio septicémico y otro lesional durante el cual pueden presentarse ictericia, hemorragias, albuminuria y meningitis, etc. Afectando varios órganos: riñón, ojo, cerebro, el aparato reproductor grávido y no grávido de los mamíferos y otros (Acha *et al.* 2001).

La leptospirosis es conocida desde 1886, año en que el médico Alemán Adolf Weil describió una enfermedad a la que denominó Ictericia Hemorrágica en Heidelberg entre trabajadores agrícolas alemanes (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 XVIII, algunos años antes de la descripción de Weil (Aldorevich, 2001).

Ya por el año 1800 Larrey observó una enfermedad en el hombre caracterizada por fiebre, ictericia y hemorragias petequiales. Adolfo Weil en 1886 diferenció esta enfermedad de otras similares, estableciéndola como una entidad separada y llamándola "ictericia infecciosa". En 1887 Goldschmidt fue el primero en usar el término "enfermedad de Weil".

En 1898 se propagó en la especie canina epizooticamente en Alemania donde se llamó al principio "enfermedad de Stuttgart".

La primera leptospira patógena fue observada por Stimson en New Orleans en el año 1907 en cortes de riñón de humano que se creía había muerto de fiebre amarilla, el organismo lo llamó *Espirochaeta interrogans*.

La causa de la enfermedad de Weil según comprobaron en 1914 Inada e Ido en Japón es un microorganismo al que llamaron *Leptospira icterohaemorrhagiae*, esto lo reportaron Inada *et al.*, en 1916 al afirmar haber observado espiroquetas en el tejido hepático de coballos inoculados con sangre de humanos que padecían la enfermedad de Weil.

En 1917 Coyrmont y Durant vieron que los cachorros podían ser infectados con las espiroquetas que producían la ictericia típica humana. Ulenrhuth y Fromme en 1918 identificaron como leptospirosis la ictericia infecciosa del perro cuando demostraron que el proceso era originado por el mismo tipo de *Leptospira* que el descrito por Inada e Ido en el hombre, estos investigadores Alemanes la llamaron *Spirochaeta icterogenes* y fueron los primeros en Europa en observar las *Leptospiras* a campo oscuro y por fijación y coloración de Giemsa y Levaditi.

En 1931 Klarenbeek y Schuffner admitieron que un considerable porcentaje de leptospirosis caninas era producida por otra especie llamada *Leptospira canicola*, esta fue aislada por Mayer *et al.* (1937) en San Francisco.

Desde que Mikhin y Azhinov en 1935 comunicaron la presencia de la enfermedad en los bovinos se afirmaron las sospechas que el proceso se hallaba extendido por todo el mundo. Además se demostró que en otros mamíferos se producen enfermedades parecidas. Los trabajos de investigación en este sentido

permitieron comprobar la existencia de diferentes tipos de leptospiras, así como llegar al conocimiento de las características epidemiológicas de la leptospirosis de cada especie animal y del hombre .

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 *et al.* 1975).

Las primeras informaciones sobre la enfermedad de leptospira en los animales procedían de la leptospirosis humana, datan de 1852 en que Hofer describió una enfermedad de los perros antes desconocida que llamó *Tyfus Seu Febris Nervosa Canum*. Keff en 1898 cambió el nombre de esta enfermedad por la enfermedad de los perros de Stuttgart (Stuttgarte Handesenchue). Sin embargo, su etiología de esta enfermedad fue aclarada en 1922 por el Checoslovaco Lukes, el cual demostró que el agente era una espiroqueta. Pero en la realidad, la primera descripción de las Leptospiras como agentes productores de enfermedad en los animales se realizó en 1933, cuando Klarenbeck y Schuffner demostraron que la *L. canicola* era el agente etiológico de la enfermedad Stuttgart en los perros (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 "hemoglobulinuria infecciosa aguda", y del agente aislado *L. icterohaemorrhagiae* bovina. Estudios posteriores apuntaron a *L. grippotyphosa* como responsable de aquella enfermedad. Freund *et al.* (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. Mientras el primer reporte en Gran Bretaña fue al cargo de

Field *et al.* (1950). Smith *et al.* (1952) divulgaron los primeros casos en Canadá (Hudson *et al.* 2001).

Los primeros diagnósticos hallados en el continente Africano datan casi al mediado del siglo XX por Donatien *et al.* (1950) en Argelia; Cordier (1952) en Túnez y Farina *et al.* (1960) en Somalia.

Ramírez en 1971, hace la primera notificación de la existencia de anticuerpos específicos de valor diagnósticos de *Leptospira* bovina en Cuba (Feraud *et al.* 2005).

SINONIMIAS

La leptospirosis se conocen por otros nombres tales como: enfermedad de Weil (*L. icterohaemorrhagiae*); Fiebre de los arrozales (*L. bataviae*); enfermedad de los heneficadoras; enfermedad de los porqueros (*L. pomona*); enfermedad de los manipuladores de pescados, ictericia enzótica; enfermedad de Stuttgard (*L. canicola* en Europa); ictericia hemorrágica; ictericia infecciosa; agua roja; fiebre de los 7 días (*L. hebdomadis* en Japón); fiebre otoñal japonesa (*L. autumnalis*); fiebre de los ratones; tifus canino; fiebre de cieno, fiebre de los pantanos (*L. grippotyphosa* en los trópicos) fiebre del agua; fiebre de los cosechadores; fiebre de los campos, etc. (González *et al.* 1990; Ferguson, 1993; Bofill *et al.* 1996; Fresno, 1996). Todas estas denominaciones han sido utilizadas para describir la enfermedad producida por leptospirosis según sus características epidemiológicas, clínicas, territoriales, especies afectadas, estacionalidad, etc. (Feraud *et al.* 2005).

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica con distribución mundial. Esta enfermedad es causada por espiroquetas que morfológica y fisiológicamente son muy uniformes, pero que serológica y epidemiológicamente son muy diversas.

Se han descrito ocho especies patógenas: *Leptospira borgpetersenii*, *L. inadae*, *L. kirshneri*, *L. meyeri*, *L. noguchii*, *L. santarosae*, *L. weilii* y *L. interrogans sensu stricto*, siendo esta última de mayor importancia, pues puede producir algunas sustancias como hemolisinas, hemaglutininas y enzimas que le confieren mayor patogenicidad. Asimismo, *L. interrogans* se ha dividido en 23 serogrupos y más de 200 serovares, con base en su composición antigénica (Aaron, 1991).

Los animales domésticos más afectados son los caninos, bovinos, porcinos y equinos. Las ratas y los ratones son los reservorios primarios (huéspedes de mantenimiento) de esta bacteria, produciéndose en ellos una infección renal crónica, con excreción de grandes cantidades de bacterias en la orina. Las bacterias generalmente mueren al estar expuestas al calor, la luz, detergentes, o desinfectantes, pero pueden permanecer viables en aguas alcalinas o en suelo húmedo. Los humanos se infectan por consumo o exposición de las aguas y alimentos contaminados. La bacteria, ayudada por su movilidad (posee dos flagelos), entra por medio de pequeñas abrasiones en la piel, o por mucosas, por lo que las infecciones también pueden ocurrir al nadar, trabajar o jugar en aguas contaminadas. La bacteria llega a la sangre y después de un período promedio de 1 a 2 semanas, puede causar enfermedad. En el hombre, esta varía desde un simple resfrío hasta el cuadro más severo, que se conoce como enfermedad de Weil, la cual consiste en un fallo hepático-renal agudo con severas hemorragias. Se considera que solamente un 5-10% de las personas con leptospirosis la padecen, y este cuadro tiene muy mal pronóstico.

En cerca del 90% de los casos, la infección se resuelve sin mayores consecuencias, pero si las bacterias se multiplican en el hígado, pueden producir hepatitis, ictericia y hemorragias; en los riñones, uremia y bacteriuria; y en el líquido cefalorraquídeo y humor acuoso, meningitis aséptica y hemorragias conjuntivales o escleróticas, respectivamente. El cuadro clínico depende de alguna manera del tipo particular de *Leptospira* involucrado. (OPS/OMS, 2002).

IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SANITARIA

La leptospirosis considerada la epizootia más difundida en el mundo, tiene tanto importancia económica como sanitaria. La repercusión económica más importante en la explotación, es el fallo reproductivo, secuela crónica de la enfermedad en las reproductoras, que causa mortinatos, abortos o nacimientos de animales débiles, disminución de la fertilidad, entre otras causas. Resulta difícil estimar las pérdidas por este concepto en gran parte por las dificultades inherentes al diagnóstico de la enfermedad. También puede ser considerada importante la pérdida económica

asociada al "Síndrome de caída de la leche" o agalactia producida por estos microorganismos. A estas pérdidas, habría que añadir las originadas por desecho temprano y por aumento en la tasa de eliminación de animales por causas reproductivas.

La leptospirosis es una zoonosis, por los efectos sobre la producción animal, se le añade un importante aspecto sanitario donde en el ser humano está considerada una infección accidental. Algunas prácticas laborales como los mineros, ganaderos, agricultores, deportistas acuáticos, trabajadores en mataderos, veterinarios etc. Así como ciertas actividades recreativas que implican contacto con aguas posiblemente contaminados de *Leptospiras* pueden provocar enfermedad en ellos. 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. (Feraud *et al.* 2005).

Blenden (1984), plantea que la gama de especies susceptibles a la leptospirosis o portadoras de leptospiras parecen interminables. Casi todas las especies que se ponen a prueba están infectadas dependiendo el nivel de infección del tipo de medio ambiente. Todos o casi todos los mamíferos son susceptibles al igual que los anfibios, reptiles y las aves. (Feraud *et al.* 2005). También que se han aislado leptospiras en hospederos no mamíferos como pájaros, reptiles, peces y anfibios.

En sentido general, las especies de mayor importancia económica (bovinos, equinos, ovejas, cabras y cerdos) se afectan en menor o mayor grado (Bofill, 1988).

RESERVORIOS

Blenden (1976), establece una diferencia entre los términos hospedero y reservorio, ambos de importancia vital en esta enfermedad. Un animal hospedero es un animal infectado con determinado agente. Cuando la relación hospedero-agente ofrece una salida a este último (orina en la leptospirosis) el hospedero se convierte en

reservorio. El reservorio, por lo tanto, es una entidad epidemiológica de gran importancia en el ciclo de transmisión de la infección.

Arzumanian (1973), investigó sobre las reservas de leptospiras entre los roedores (*Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*) donde se lograron aislar 7 cepas de leptospiras correspondientes a los serogrupos *icterohaemorrhagiae*, *hebdomadis* y *canicola*; realizándose las pruebas de patogenicidad correspondientes resultando dos cepas altamente patógenas. Por todo esto se concluyó que en condiciones naturales los roedores son en la mayoría de los casos agentes de leptospiras patógenas, por lo que es indispensable considerarlos como principal fuente de infección de esta enfermedad.

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

González *et al.* (1990) plantea que los reservorios sirven para mantener un foco de infección; los huéspedes accidentales (animales y hombres que se infectan y muchas veces se enferman con una leptospirosis corta) no son necesarios para mantener la continua existencia de leptospiras aunque su papel de diseminador de una zona a otra no es despreciable. Cuanto más densa población de reservorios es más posible la infección, a veces formando pequeños islotes de infección en pequeños hábitats. El promedio de vida del reservorio es un factor que puede extender su papel o limitarlo, tanto más larga la vida del animal más oportunidad de infectar el medio ambiente.

Los animales salvajes y domésticos son reservorios de distintas serovariedades. Los casos notables en los EUA son las ratas (*icterohaemorrhagiae*), cerdos (*pomona*), bovinos (*hardjo*), perros (*canicola*) y los mapaches (*autumnalis*). En los EUA los cerdos parecen ser los reservorios de la serovariedad *bratislava* y en Europa los tejones. Las serovariedades que infectan a los reptiles y anfibios (ranas) al parecer no infectan al

hombre aunque se ha sospechado de casos en Barbados y Trinidad (Feraud *et al.* 2005).

Prokopcakova *et al.* (1994), en dos viejos focos naturales de Eslovaquia detectaron la persistencia de anticuerpos en reservorios (pequeños mamíferos) y el contacto con leptospiras de grupos poblacionales en riesgo ocupacional; utilizando la prueba de microaglutnación (MAT) se examinaron 1106 pequeños mamíferos y se detectaron en 50 casos anticuerpos contra *L. Grippotyphosa* y *L. Sejroe*. De 1740 humanos examinados 56 reaccionaron a los mismos serogrupos mencionados en los reservorios.

Moles *et al.* (1994), detectaron infección por leptospira en un Panda gigante (*Ailuropoda melanolenca*) en el Zoológico de Chapultepec de la ciudad de México, encontrándose seropositividad para las serovariedades *icterohaemorrhagiae*, *hebdomadis*, *pyrogenes*, *canícola* y *pomona*.

Hubener (1996), asegura que muchos animales silvestres, entre ellos los roedores, están perfectamente adaptados a las leptospiras y no manifiestan síntomas o lesiones. Los reservorios más perfectos de la infección son los animales que tienen una leptospiruria prolongada y generalmente no sufren ellos mismos la enfermedad, tal es el caso de la rata que alberga la *L. Icterohaemorrhagiae* y que rara vez tienen lesiones entre los animales de compañía, el perro es una fuente común de infección para el hombre por los serovares *canícola* e *icterohaemorrhagiae*.

López *et al.* (1996), determinaron por el sistema de cuadrante nacional la intensidad, extensión, focalidad y hábitat de la mangosta y roedores; reservorios de rabia y leptospirosis. Existe un incremento en el índice de infestación de mangostas y roedores por dificultades de recursos para su control manteniendo las fuentes de reservorio que agravan el cuadro epidemiológico.

Chandrasekaran *et al.* (1997), diagnosticaron leptospira en dos de tres perros policías por exámenes microscópicos de campo oscuro.

En Barbados Everaldo *et al.* (1995) y Levett *et al.* (1998), con el fin de estudiar el estado actual de Leptospirosis en caninos se evaluaron 78 perros, de éstos 48 fueron positivos a la prueba de la estera. El serogrupo más común fue *autumnalis* (45%) seguido por el serogrupo *icterohaemorrhagiae* y *australis* (16% cada uno) y *pomona* (13%).

Se tomaron muestras de sangre de 120 cerdos silvestres de Oklahoma (EUA) encontrándose títulos de anticuerpos para varios serovares de *Leptospira* en 44% de las muestras. Los dos más frecuentes fueron el serovar *bratislava* (29%) y *pomona* (27%) (Saliki *et al.* 1998).

Masón *et al.* (1998), en un estudio realizado en Nueva Gales del Sur (Australia) detectaron anticuerpos de *Leptospira* en cerdos, encontrándose en la mayoría de los reactores (63%) el serovar *pomona*. No existió diferencia en la presencia de anticuerpos de *L. Interrogans* entre los sexos, ni entre los cerdos de áreas de precipitación baja y alta.

Forrest *et al.* (1998), confirman leptospiras en perros.

En la sección veterinaria del Instituto Nacional de Higiene, ubicado en Tecamac, Estado de México, se realizó un estudio en 106 equinos encontrándose anticuerpos con título 1:100 contra por lo menos una serovariedad de leptospira en el 83% de los equinos muestreados (88). Los serovares más frecuentemente detectados fueron: *autumnalis*, *australis*, *pomona* e *icterohaemorrhagiae*. Otras serovarietades registradas con títulos más altos fueron *autumnalis*, *pyrogenes* y *cynopteri* (1:6400) y *australis*, *cellodonis* e *icterohaemorrhagiae* (1:3200).

Se registraron casos de leptospiras en 36 perros de New York siendo *pomona* y *grippotyphosa* los serovares más frecuentes (Birnbbaum *et al.* 1998).

En Panamá se demostró que la población de bovinos se encontraba expuesta a la infección por leptospira, donde los serovares más frecuentes fueron: *bataviae*, *wolffi*, *hardjo*, *autumnalis*, *bratislava* y *shermani* (OPS/OMS, 2002; Centers for Disease Control and Prevention, 2000).

TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN

Las leptospiras pertenecen a familia *Leptospiraceae*, segunda familia del orden *Spirochaetales* (Hartskeerl *et al.* 2000). En la edición del "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" 1984, se reconoce como único género dentro de la familia *Leptospiraceae* al género *Leptospira*; dentro del cual se incluyen tres especies: *Leptospira interrogans*, *Leptospira biflexa* y *Leptospira illini*, esta última considerada de 'estado taxonómica incierta' aislada de un buey en Illinois, EE.UU. En la última edición del "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" 1994, ya se recoge como género independiente el *Leptonema*, cuya especie tipo (y única especie del género) sería *Leptonema illini*. De esta forma, la familia *Leptospiraceae* está formada por dos generos, *Leptospira* y *Leptonema*. En los últimos años y gracias a la utilización de nuevas herramientas y métodos de clasificación, se han reconocido varias especies del género *Leptospira* (Hartskeerl *et al.* 2000).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y ESPECIES DE LEPTOSPIRA

Division: *Procariontes*; Clase: *Schizomicete*; Orden: *Spirochaetales* Familia: *Leptospiraceae*; Género: *Leptospira*, *Leptonema*, *Turneria*

Otros

Familia: *Spirochaetaceae* Género: *Cristispira*, *Spirochaeta*, *Brachyspira*, *Brevinema*, *Anguilita*, *Serpulina*, *Treponema*, *Borrelia*.

Tabla 1. Especies de *Leptospira*.

Patógenas	Saprophytas
L. interrogans [©]	L. biflexa [•]
L. borgpetersenii	L. wolbachii
L. noguchii	L. parva
L. santarosai	
L. alexanderi [®]	
L. kirschneri	
L. meyeri [*]	
L. fainei [*]	
L. Weillii	
L. inadai [*]	

(Perolat *et al.* 1998; Brenner *et al.* 1999; Faine *et al.* 2000).

Sus estados patogénicos no están claros o cuestionables (Hartskeerl *et al.* 2000). Más de 250 serovariantes agrupadas en 25 grupos, 63 serovariantes agrúpados en 38 serogrupos (Feraud *et al.* 2005).

CLASIFICACIÓN SEROLÓGICA

Antes del 1987, el género *Leptospira* fue dividida en dos especies, *L. interrogans*, que incluye todas las *Leptospiras* patógenas y/o de vida parasitaria, y *L. biflexa*, especie en la que engloban todas las saprófitas aisladas del medio ambiente. A pesar de que esta denominación es la que ha estado utilizando durante varios años, fue admitida oficialmente en 1986, cuando *L. interrogans* fue diferenciada de *L. biflexa*, este último creció a 13 °C en presencia de 225ug/mL de 8-azoguanina, siendo *L. interrogans* negativa a ambas propiedades (Levett, 2001).

Levett (2001) y Arias *et al.* (2002), daban a conocer que en la última aprobación por el comité de Taxonomía y Nomenclatura de *Leptospira* se establecen más de 250 serovares agrupados en 25 serogrupos.

Los serogrupos no poseen taxonomía propia ni se encuentran definidos, pero tienen importancia epidemiológica. El serovar es el taxón básico (Timoney *et al.* 1988). Dikken *et al.* (1978); Kmety *et al.* (1993), plantean que para la determinación de los serovares tanto de, *L. interrogans* como, *L. biflexa* se logra por la aglutinación después de una absorción cruzada con antígenos homólogos.

Dentro de cada especie de *Leptospira*, se incluyen uno o más serovares, que se diferencian entre sí por su composición antigénica. La definición de serovares fue formulada por vez primera en 1954 por Wolff y Broom, no ha sido para la clasificación sistémica solamente sino para su aplicación práctica y la descripción de la relación entre hospedero- parásito. La clasificación reciente todavía utiliza lo que estos dos autores dejaron planteado acerca de la determinación de los serogrupos y serovares (Feraud *et al.* 2005).

Esta forma de clasificación también se refiere como la clasificación clásica u oficial. Se basa en las técnicas de aglutinación cruzada y aglutinación cruzada tras absorción utilizando el método de prueba MAT (Faine *et al.* 2000).

CLASIFICACIÓN ALTERNATIVA

La aparición de nuevos métodos de clasificación e identificación de *Leptospira*, responde a la necesidad de encontrar métodos más fiables y de menos subjetividad que el método clásico que además está considerado como lento y difícil de estandarizar (Ellis *et al.* 1988). En la reunión de "Subcomité para la Taxonomía del género *Leptospira*" (TSCL) en Praga en 1994 aunque se recomienda el sistema de clasificación taxonómica siga basándose en el serovar, se permite la utilización de otros métodos opcionales para la identificación y clasificación, como: anticuerpos monoclonales, el análisis de factor e investigación de los patrones de fragmentos de ácidos nucleicos obtenidos por tratamiento con enzimas de restricción mediante sonda de ADN, estudios

de la actividad aminopeptidasa, microscopía electrónica. También se le llama clasificación genotípica donde la clasificación ha sido remplazada por el genotipo. Esto incluye todos los serovares de las dos especies más estudiadas. La reclasificación de *Leptospiras* a base de genotipos, taxonomicamente es correcto y promueve un fundamento científico para la futura clasificación. Sin embargo, la clasificación molecular es problemática para los microbiólogos, clínicos y epidemiólogos porque no se comparte con el sistema ya utilizados por esos especialistas hace varios años (Levett, 2001). Aunque en los últimos años han sido introducidos una gran variedad de modernos métodos para el análisis genético, tipaje y clasificación de cepas de *Leptospira*, estos no están al alcance de la mayoría de los laboratorios clínicos de los países en desarrollo debido a su alto costo. La clasificación serológica mediante la técnica de microaglutinación con el empleo de antisueros policlonales de conejo sigue siendo el método más utilizado a pesar de ser laborioso y limitado para la clasificación hasta serovar, si no se dispone de una batería de anticuerpos monoclonales. El empleo de técnicas serológicas de clasificación han permitido el reconocimiento de al menos 11 serogrupos de circulación en humanos en varias partes del mundo de los 23 serogrupos de *Leptospira interrogans* existentes en la actualidad (Institut Pasteur, 2000).

ETIOLOGÍA

El termino "*Leptospira*" procede del griego *lepto* (fino) y *spira* (espiral). Las *Leptospiras* son espiroquetas aerobios obligados, flexibles, muy finos, helicoidalmente enrollados, y de gran movilidad, de 5 a 20µm de largo por 0,1 a 0,5µm de ancho (Faine *et al.* 1999), ambos extremos semicirculares de forma de gancho, aunque a veces uno de los dos extremos está doblado y el otro se mantiene recto o ambos rectos (Hartskeerl *et al.* 2000). Poseen un movimiento activo flexuoso de rotación, ondulatorio y translucidación, que se produce en ausencia de flagelos externos y depende de dos flagelos piroplasmáticos (filamento axial), que están insertados en ambos extremos de la bacteria. Son agentes tan finos que pueden pasar filtros que retienen otras bacterias (0,1- 0,45µm). Las leptospiras solo pueden ser visible por microscopía de campo oscuro o de contraste de fase, pero no por microscopía de luz de campo brillante. No se tiñen con facilidad con los colorantes de anilina aunque son gramnegativo; mas pueden

impregnarse por plata (Fontana – Tribondeau, Levatidi, Rojo Congo, Tinta China), por fluoresceína, peroxidasa conjugada más reactivos coloreados o por hibridación del ADN con reactivos coloreados biotina–avidin.

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

Al microscopio electrónico se observa que están constituidas por: una membrana externa o envoltura (lípidos, proteínas y lipopolisacáridos (LPS) (esta envoltura externa es de gran importancia antigénica) 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 (Haake, 2000; Harstkeerl *et al*, 2000).

Los cuerpos basales flagelares semejan los de las bacterias gramnegativas, con la excepción de *L. illini*, una especie de ubicación incierta, los cuales son similares a los de las bacterias grampositivas. La denominación de esta especie está basada en que el cuerpo basal del flagelo periplasmático es similar a los de las bacterias grampositivas y a que poseen un mechón de túbulos citoplasmáticos, presentes en *Treponema* pero no en *Borrelia* (WHO, 2001).

Estos agentes poseen actividad oxidasa, catalasa, peroxidasa y esterasa; en condiciones de laboratorio crecen en medio cultivos simples a un pH de 7,2 – 7,6 y una temperatura de 15 -18 °C (Faine, 1991), utilizando los ácido grasos de cadena larga como fuente de carbono y las sales de amonio como fuente de aminoácidos metabolizados por beta oxidación. También estos medios son enriquecidos con Vit.B₂ y B₁₂ que estimulan el crecimiento. Además, necesitan Fósforo y algunos iones metálicos durante un período de incubación entre 4-14 días, aunque para determinadas cepas o serovares puede ser superior a cuatro semanas. El piruvato puede estimular el inicio del crecimiento en el caso de algunas cepas.

Los medios de cultivo pueden presentarse de tres formas: líquido, semisólido y sólido. Los medios sólidos son en general de uso menos frecuente que los otros dos. La mayoría del medio líquido (Korthoff, Stuart, Ellinghausen y McCullough, Johnson y Harris) habitualmente utilizado para el mantenimiento de cepas utilizadas en las pruebas serológicas, fue descrita por vez primera por Fletcher, Korthoff, Noguchi y Stuart. El medio semisólido (Fletcher) resulta adecuado para el mantenimiento de cepas de referencia. Tanto uno como el otro, son utilizados para el aislamiento a partir de muestras sospechosas (Hartskeerl *et al.* 2000).

RESISTENCIA DEL AGENTE ETIOLÓGICO

Las leptospiras son microorganismos que sus supervivencias dependen ampliamente sobre variaciones del pH del suelo y las condiciones ambientales ya sea temperatura o humedad relativa. Particularmente, son muy sensibles a la desecación, luz solar directo, pH ácido y alcalino ya que un pH menor que 6 o mayor que 8 tiene carácter inhibitorio sobre el microorganismo. Una temperatura $\leq 13^{\circ}\text{C}$ o $\geq 35^{\circ}\text{C}$ provoca la muerte rápidamente (Marga, 2004). Además, existen distintas sustancias químicas de carácter leptospiricidas: fenol al 5 %, alcohol al 70 %, formol al 2%, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, sosa cáustica al 2%, durante 5 minutos, solución al 0,05 % de ácido sulfúrico, en 5 minutos (OPS/OMS 2002; Centers for disease control and prevention, 2000).

Son muy sensibles a la solución hipertónica de sal común (2,8%), bilis, putrefacción y a la mayoría de los antibióticos *in vitro* o *in vivo* como la penicilina, estreptomina, aureomicina y los grupos macrólidos. Sensible también a una temperatura de menos 70°C líquido N_2 (OPS/OMS, 2002; Centers for disease control and prevention, 2000).

Si la orina de por sí, tiene una reacción ácida las Leptospiras presentes en ellas, pronto sucumben. Esta probabilidad es la principal razón por la cual la orina humana no disemina la infección y la orina de ratas, mientras no sea diluida, no tiene mucho riesgo, pero las leptospiras viven en orina débilmente básica como: del cerdo, vaca y equino

durante diferente período, sin embargo, en orina ácida (carnívoros) mueren rápidamente.

Para la supervivencia en el medio ambiente necesita una humedad alta del suelo, una temperatura de 25 °C, con agua de un pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de materia orgánica. En suelo con todas estas condiciones y saturado, pueden vivir hasta 183 días y suelo seco 30 minutos. En agua estéril pueden vivir hasta 3 meses o más, en aguas alcalinas en semanas, en lagunas varias semanas, en orina alcalina más de 16 días y en nitrógeno líquido 32 meses (Bombinbre, 1998). También hay reportes de supervivencia en leche refrigerada por los menos 3 días, y leche adulterada con agua puede sobrevivir hasta 60 días. En tejidos no contaminados y guardados a 4 °C pueden sobrevivir a varias semanas, en sangre no coagulada y 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 (WHO/FAO 2001). Se ha demostrado que las *Leptospiras* pueden sobrevivir: 9 días en músculo, 13 días en los riñones, 12 días en el hígado y 8 días en el bazo luego de la muerte del animal. Se han incluido las garrapatas en este campo, ya que las *Leptospiras* eran capaces de sobrevivir 518 días en el interior de *Ornithodoros turicata* y por lo menos 26 días en el intestino de moscas no hematófagas.

Las leptospiras son resistentes al ácido nalidíxico, propiedad que puede utilizarse en la elaboración de medios de crecimiento para controlar la proliferación de otros microorganismos. Además, no incorporan el 5-fluoracilo del medio, por lo que puede añadirse a los medios para el aislamiento a partir de muestras patológicas. La tenacidad de este agente está avalada por algunas condiciones ambientales ya mencionadas (OPS/OMS, 2002; Centers for disease control and prevention, 2000).

EPIDEMIOLOGÍA

ANTECEDENTES

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

influyen en su presentación, lo cual dificulta la extrapolación entre las diferentes regiones geográficas y obliga el conocimiento individualizado de cada continente, país, región o zona. Las distintas cepas patógenas de *Leptospira* pueden afectar potencialmente a los mamíferos, donde algunos actuarán como hospederos de mantenimiento o accidental en función del serovar considerado (WHO/FAO, 2001).

Una serie de documentos existentes de diversos trabajos en el mundo de la epidemiología y seroprevalencia con distintos serovares de leptospirosis han sido publicados en varias revistas de reconocida calidad de los cuales en este documento se dan a conocer algunos a continuación.

Betancourt *et al.* (2000), evaluaron los resultados de una vacuna cubana contra los serovares de *Leptospira interrogans* (*pomona*, *icterohaemorrhagiae* y *canicola*). El trabajo se desarrolló en una empresa pecuaria cuyo propósito productivo es la obtención de sementales y reproductoras de la raza Cebú, de alto valor genético. Para alcanzar esta intención, se realizó un estudio retrospectivo de los datos registrados en los expedientes epizootiológicos sobre las investigaciones serológicas practicadas durante Octubre de 1997 a Diciembre de 1998, y el comportamiento de los indicadores de salud correspondientes a la enfermedad. También se consultaron los registros económicos para extraer la información necesaria acerca de los resultados de la comercialización de sementales. Los resultados indican que en el 90% de la población inmunizada contra los referidos serovares, se detectaron títulos protectores de los anticuerpos correspondientes, que se mantuvieron con valores altos durante un período de 12 meses; que no hubo manifestaciones ni de la enfermedad, ni de nefropatías en la población investigada con posterioridad a la vacunación; no se detectaron reacciones adversas (locales o generales) a consecuencias de la aplicación de la vacuna y se aumentó la promoción de sementales, razón por la que se obtuvo beneficios de \$42 156,00 en moneda nacional y \$1 800,00 USD, con respecto al año 1995.

Ochoa *et al.* (2000), realizaron un estudio de epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria, se realizó un estudio transversal con el objetivo de estimar la prevalencia de la infección por *Leptospira* en las poblaciones de

operarios, bovinos y porcinos de explotaciones ganaderas y explorar algunas variables ambientales y del sistema de producción asociadas a la seropositividad. La investigación se desarrolló entre Noviembre de 1997 y Febrero de 1998 en el municipio de Don Matías, norte del departamento de Antioquia (Colombia), en una zona de clima frío, donde existe un sistema de producción “cerdos-pastos-leche” que utiliza el estiércol de cerdo como fertilizante de las praderas de pastoreo. Se estudiaron 23 granjas y se obtuvieron muestras de sangre de 67 operarios de establos lecheros y porquerizas, de 174 vacas en producción y de 68 cerdos de ceba y 214 de cría. Se empleó MAT para seis serotipos de *Leptospira*. La prevalencia de individuos seropositivos fue de 22,4% (intervalo de confianza de 95% (IC95%: 13,1 a 34,2) en los operarios, de 60,9% (IC95%: 53,2 a 68,2) en las vacas en producción, de 10,3% en los cerdos de ceba y de 25,7% en los cerdos de cría. Se construyeron cuatro modelos de regresión logística para identificar las variables que predecían la infección en las vacas en producción. Se encontró una alta prevalencia de infectados por *Leptospira* (serotipos *pomona*, *bratislava* y *hardjo*) en este sistema de producción en el que existen condiciones favorables para la transmisión de este microorganismo en las diferentes especies animales y en los humanos.

Sadow *et al.* del Centro de Estudios Prevención y Mitigación de Desastres de la Fac. Med. Vet. Universidad de Granma Cuba, realizaron un trabajo en el año 2005 de Leptospirosis humana y bovina y su relación con los factores edafoclimáticos en una provincia de la región oriental de Cuba. El trabajo consistió en evaluar la presencia de la Leptospirosis bovina y humana, considerando los factores edafoclimáticos (temperatura del aire, precipitaciones pluviales, humedad relativa, el tipo de suelo, pH, materia orgánica, capacidad de campo y su humedad natural); se realizó un estudio epidemo-epizootico y serológico durante el período 1998-2003 en la provincia. Los resultados arrojaron una seroprevalencia de 7,97% de bovinos y las serovariantes más reactivas fueron: *pomona*, *sejroe*, *ballun* y *hebdomadís*. En los seres humanos los grupos de mayor infección correspondieron a los comprendidos entre 20-49 años, destacándose los trabajadores arroceros en cuanto a la ocupación, y con una tasa de incidencia promedio en la provincia de 1,3 por cada 100 000 habitantes. Los

indicadores de ambientes significativamente diferentes ($p < 0,05$), donde los de la mayor infección correspondieron a la época de seca, principalmente en los municipios con predominio de suelo Vertisuelo con un pH ligeramente alcalino. Cuatro de los municipios obtuvieron los mayores casos positivos en la provincia. Las encuestas revelaron una alta infestación de roedores y una tenencia de animales en sus hogares por parte de los trabajadores del arroz y caña.

Rivera *et al.* (2004), realizaron un estudio de prevalencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de la estación experimental de trópico del centro de investigaciones ivita¹. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de agentes infecciosos con impacto reproductivo en bovinos de la Estación Experimental del Trópico del Centro de Investigaciones IVITA, en Pucallpa, Perú. Con este fin, se obtuvieron muestras de suero ($n=268$) de bovinos cruzados y cebú, mayores de 6 meses de edad, para la detección de anticuerpos contra los virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y herpes bovino-1 (VHB-1), las bacterias *Brucella* sp. y *Leptospira* serovares: *hardjo*, *pomona*, *canicola* e *icterohemorrhagiae* y el protozoo *Neospora caninum*, mediante técnicas de neutralización viral, ELISA indirecta, microaglutinación e inmunofluorescencia indirecta, respectivamente. No se detectaron anticuerpos contra el VDVB ni *Brucella* sp. en los animales muestreados. El $46.3 \pm 6.0\%$ de los animales presentaron anticuerpos contra el VHB-1, correspondiendo el 63.2% a animales adultos. Los títulos de anticuerpos contra el VHB-1 variaron entre 2 a >256 . El 52.2% de los animales tuvieron anticuerpos contra *Leptospira*. La *L. hardjo* tuvo mayor prevalencia (35%) seguido por la *L. canicola* y *L. icterohemorrhagiae* (14.9%). No se detectaron seroreactores contra la *L. pomona*. Los títulos de anticuerpos leptospirales estuvieron en el rango de 100 a 400. El 1.5% de los animales fueron reactores a *N. caninum*. Estos resultados indican que la *Brucella* sp. y el VDVB no son prevalentes en el hato en estudio. La baja prevalencia de *N. caninum* en los animales hace posible su erradicación del hato, mientras que el VHB-1 y la *Leptospira* constituyen agentes infecciosos de riesgos sanitarios.

Segura *et al.* (2005), del Centro de Investigación Regional del INIFAP Sureste, en Mocochoá, Yucatan, Mexico realizaron un estudio de seroprevalencia y factores de

riesgo contra anticuerpos de *Leptospira* en ganado a partir de sueros obtenidos de bovinos en el estado de Yucatán, México, se seleccionaron mediante la prueba de aglutinación microscópica, contra 13 serovares de *Leptospira interrogans*. Un total de 62,8% (461/734) de vacas fueron positivas para uno o más serovares. Esto probablemente refleja la seroprevalencia de la infección debido a la vacunación contra la leptospirosis. Los anticuerpos que se detectaron más comunes contra los antígenos de serovares *hardjo* (54,1%) y *tarassovi* (53,3%). Fue la única región de factores de riesgo asociados con la seroprevalencia de leptospirosis ($p < 0,05$).

Oliveira *et al.* (2001), de la Universidad de Pernambuco en Recife, Brasil, realizaron un estudio de seroprevalencia de leptospirosis bovina, esta prevalencia de *Leptospira interrogans* serovares en el ganado lechero se determinó mediante el análisis de 464 muestras de suero de las vacas en 15 propiedades en el municipio de Garanhuns, Estado de Pernambuco, Brasil. Se utilizaron 12 serovares de *Leptospira interrogans* como antígenos. Las muestras con títulos 1:100 se consideraron positivas. 222 (47,63%) de las muestras fueron positivas a uno o más serovares. La prevalencia de los serovares fue *hardjo* (21,98%), *bratislava* (15,73%), *castellonis* (11,64%), *tarassovi* (10,56%), *pyrogenes* (1,72%), *icterohaemorrhagiae* (1,08%), *pomona* (0,86%), *wolffi* (0,86%), *grippotyphosa* (0,86%), *djasiman* (0,43%), *canícola* (0,21%), y *copenhageni* (0,21%).

En el año 2002, Lottersberger desarrollo y valido un enzimoimmunoensayo para el diagnóstico de Leptospirosis bovina. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un ELISA para la determinación de anticuerpos específicos IgG anti-leptospiras en sueros bovinos y validarlo frente a la técnica de referencia MAT. Los sueros fueron evaluados por MAT, utilizando 8 serovares de *Leptospira interrogans*. Para el ELISA, se utilizó como antígeno el extracto sonicado de un cultivo serovar *hardjo* (cepa *Hardjoprajitno*). Se evaluaron 535 sueros de bovinos, 356 MAT positivos y 179 MAT negativos. La sensibilidad del ELISA frente a la MAT fue de 99.4% y la especificidad de 96.1%. Lo que indicó una alta confiabilidad del ELISA. En zonas donde se desconocen los serovares prevalentes o existen varios serovares circulantes, este ELISA presentaría la ventaja respecto de las técnicas serovar-específicos, ya que puede detectar infección

mediante la aplicación de un solo ensayo, utilizando material no infectivo. Este ensayo es además repetitivo, de interpretación objetiva y simple de implementar en laboratorios no especializados. En conclusión, este ELISA con inmonoglobulinas de tipo G específico fue desarrollado como una alternativa útil para el diagnóstico de bovinos infectados con leptospiras.

Moles *et al.* (2002), realizaron un estudio serológico de leptospirosis bovina en México en donde, donde se analizaron los resultado de 4 043 sueros de bovinos de distintas regiones de México, que fueron remitidos a un laboratorio de diagnóstico. Se empleó la técnica de aglutinación microscópica y se consideró la dilución 1:100 o mayor como positiva. El análisis indicó 31,1 % de seroprevalencia y las serovariedades más frecuentes fueron *hardjo* (cepa *H 89* aislada en México), *wolffi* y *tarassovi*. Existe semejanza con datos previos de México sobre una prevalencia de 34 % encontrada en un estudio similar de 1994 y comparándola con la literatura científica de otros países, existe coincidencia. En el estudio previo también se indicó que *tarassovi* y *wolffi* eran las leptospiras más comunes, por lo que existe coincidencia con las cifras de la literatura revisada. Se concluyó que no existe variación importante en la prevalencia entre el estudio de 1994 y este, por lo tanto se sugiere la difusión de este análisis para incrementar la vacunación en bovinos y lograr una reducción de la leptospirosis en México. Los resultados obtenidos del análisis de 4 043 muestras serológicas indicó que existía 31,1 % (1 261/4 043) de bovinos positivos a una o más serovariedades de *Leptospira interrogans*. Las serovariedades y cepas aisladas en México más importantes, se muestran en la sig. Tabla:

Tabla 2. Frecuencia de diferentes serovariedades de *Leptospira interrogans* en bovinos de México.

Serovariedades	Porcentaje	Positivos / Total
hardjo H 89 *	16,7	677/4 043
wolffi	11,0	447/4 043
hardjo	10,8	437/4 043
tarassovi	7,9	320/4 043
pomona	4,4	179/4 043
grippotyphosa	3,7	150/4 043
portland vere Sinaloa ACR*	3,4	138/4 043
icterohaemorrhagiae	3,1	126/4 043
icterohaemorrhagiae Palo Alto*	1,6	67/4 043
canicola	1,4	57/4 043
hebdomadis	0,9	39/4 043
bratislava	0,5	24/4 043

*Aislamientos mexicanos

(Moles *et al.* 2002).

Obregón *et al.* en el 2004, realizaron un ensayo con un sistema de aglutinación con látex para el diagnóstico rápido de la leptospirosis en Cuba, Con los objetivos de evaluar la sensibilidad, la especificidad, la reproducibilidad y la estabilidad de cinco sistemas de aglutinación con látex diseñados para detectar anticuerpos contra *Leptospira* en sueros de humanos y de animales, basados en los serogrupos de *Leptospira* de mayor circulación en Cuba. Realizando un estudio analítico descriptivo con 706 sueros humanos (65 sueros positivos a anticuerpos contra *Leptospira* mediante MAT y hemaglutinación (HA); 156 sueros negativos, según MAT y HA; 485 sueros de 424 pacientes con signos clínicos o epidemiológicos de leptospirosis; y 29 sueros de animales (16 equinos, 6 bovinos, 5 porcinos, 1 canino y 1 ovino). Todas las muestras se evaluaron con cinco conjugados de látex con células enteras de *Leptospira interrogans* de los cuatro serogrupos de mayor circulación en Cuba en el período entre 2002 y 2004. Con las células obtenidas de los cultivos celulares de cepas tipo se obtuvieron

cuatro conjugados específicos (látex-*Canicola*, látex-*Icterohaemorrhagiae*, látex-*Pomona* y látex-*Sejroe*) y un conjugado de látex con la mezcla de las células de esos cuatro serogrupos a partes iguales (látex-Pool). Adicionalmente, las muestras se evaluaron con el sistema comercial de aglutinación con látex Lepto Tek Dri Dot (bioMerieux, Francia). La estabilidad y la reproducibilidad de los conjugados de látex se evaluaron mediante controles mensuales durante 6 meses con sueros positivos y negativos. De los resultados obtenidos en los sistemas evaluados, la mejor combinación de sensibilidad y especificidad se observó con el conjugado látex-Pool (93,8% y 90,4%, respectivamente). La mejor combinación de valores predictivos positivos y negativos se observó con el conjugado látex-*Sejroe* (90,9% y 95,8%, respectivamente), seguido del conjugado látex-Pool (94,2% y 96,6%, respectivamente). Los valores predictivos positivo y negativo del sistema comercial Lepto Tek Dri Dot fueron 78,5% y 88,4%, respectivamente. De las 137 muestras de pacientes positivas a alguno de los serogrupos estudiados según MAT, los conjugados de látex lograron identificar correctamente 107 (78,1%), mientras que el conjugado látex-Pool detectó como positivos 116 sueros (84,7%). Al evaluar los sueros de animales, el conjugado látex-Pool detectó como positivos el mayor número de sueros y tuvo la mayor coincidencia con MAT (93,1%). Se observó una adecuada estabilidad y reproducibilidad de los conjugados estudiados.

Cheemaa *et al.* (2007), detecto leptospiras patogénicas en animales por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) basadas en genes lipL21 y lipL32. La eficacia fue capaz de amplificar conservadas la membrana proteica externa (OMP), es decir los genes, lipL21 y lipL32 cepas de *Leptospira*, y de las cuales se realizaron las pruebas de diagnóstico precoz y rápido por medio de PCR. Los genes OMP que resultaron ser conservados en las diversas reacciones fueron serovares, *Canicola*, *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pyrogenes*, látex-*Sejroe*, *Grippotyphosa*, *Ballum* y *Tarassovi* como productos PCR de 561 pbs. y 756 pbs. se obtuvieron mediante el empleo de PCR y lipL21 y lipL32, respectivamente. Todos los sueros y muestras de tejidos, ya sean de campo o de recogida de muestras de animales infectados experimentalmente, que se encontraron positivos para G1/G2 PCR también fueron positivos para lipL21 y lipL32

PCR. El presente estudio indicó que los genes lipL21 y lipL32 pueden ser utilizados para el diagnóstico por PCR en la leptospirosis, el uso de genes empleados en el presente estudio podría tener una ventaja adicional en la detección de casos de la enfermedad. El objetivo en este estudio transversal fue investigar la seroprevalencia de *Leptospira spp.* en ganado y las relaciones entre la seroprevalencia frente a la carne y sus productos lácteos. Se colectaron muestras de sangre de 762 vacas lecheras pertenecientes a 81 hatos y 1238 en el sector del ganado de carne de 134 rebaños; en los sueros se realizaron las pruebas de anticuerpos contra 11 serovares de *Leptospira* (*autumnalis*, *ballum*, *bratislava*, *canícola*, *castellonis*, *copenhagheni*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *louisiana*, *pomona* y *tarassovi*) usando la prueba de MAT. Cuarenta y tres por ciento (36.2-49.5%), del hato y de 8% (6.4-8.8%) de las personas seropositivas fueron en contra de uno o varios de los serovares estudiados. *bratislava* es la más prevalente de serovar (24% de los rebaños y 4% de las personas), seguido de *hardjo* (11 y 1%, respectivamente). *Grippotyphosa*, *copenhagheni* y *tarassovi* fueron más frecuentes en ganado lechero que en el ganado de carne (P <0,001, P <0,05, P <0,05, respectivamente), pero no se encontró asociación significativa entre el tamaño del hato y seroprevalencia de *Leptospiras* de los serovares considerados (Andicoberry *et al.* 2001).

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, gatos, venados, mofetas, mapaches, zurigüeyas, musarañas, canguros, mangostas, murciélagos, peces, reptiles, ranas, conejos,, zorros, erizos, chacales, ratas y ratones, etc. y por último contribuye una zoonosis (Levett, 2001).

HOSPEDERO DE MANTENIMIENTO

Es aquel que asegura la perpetuación de una población determinada de parásitos, sin la intervención de ningún hospedero accidental. Por lo tanto, la población de mantenimiento será aquella especie animal que actúa como un reservorio continuo

de un serovar, en un ecosistema determinado. Una o varias especies de mamíferos domésticos o salvajes actúan de hospederos de mantenimiento de cada serovar o serogrupo de *Leptospira* patógena, donde una especie animal puede ser reservorio de varios serovares y diferentes especies animales serlo de un mismo serovar. La complejidad de la epidemiología de la leptospirosis es basada sobre el gran número de especies de diversas familias de mamíferos (roedores, carnívoros, marsupiales, etc.), que tienen la capacidad de mantener una amplia variedad de serovares. Los hospederos de mantenimiento se caracterizan por los siguientes elementos: gran receptividad a la infección por el serovar frente al que mantiene como hospedero (dosis infectiva es menor). Relativa baja patogenicidad del microorganismo en el hospedero. Presencia de infección renal con leptospiuria prolongada (WHO/FAO, 2001).

INFECCIÓN CRÓNICA

Transmisión eficaz de la infección a los animales de la misma especie por contacto directo. En algunos hospederos, se mantiene la *Leptospira* en el tracto genital.

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

Hay algunas especies silvestres que actúan como hospedero de mantenimiento en algunos países europeos: Rata gris (*Rattus norvegicus*) de *icterohaemorrhagiae* en toda Europa, y según Bolin (2000), declara a las ratas como hospederos de mantenimiento principalmente al serogrupo *icterohaemorrhagiae* y *ballum*; cerdo de *pomona*, *tarassovi* y *Bratislava* (Quinn *et al.* 2002).

En Ovejas puede ser *hardjo* y *pomona*; ovino serogrupo *australis*, especialmente serovar *bratislava* y el perro *canicola*. Proclamaron al ganado bovino como hospedero de mantenimiento del serovar *hardjo* y también puede ser de *pomona* y *grippotyphosa*,

siendo en EE.UU *L. pomona*. Quinn *et al.* (2002), señalan a la especie equina como posible especie de mantenimiento del serovar *bratislava* (WHO, 2003).

HOSPEDEROS ACCIDENTALES

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

A.-La transmisión es intraespecie y esporádica, B.- Signos de forma aguda grave (hepatitis, crisis hemolítica), C.- Duración de la leptospiruria es apenas semanas, D.-Muestra para el diagnóstico es el animal enfermo, E.- Bajo porcentaje de animales seropositivos (WHO/FAO, 2001).

Ejemplo de serovares accidentales según especie animal:

ESPECIE	SEROVAR
Bovinos	grippotyphosa, pomona, icterohaemorrhagiae
Porcinos	autumnalis, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa
Perro	icterohaemorrhagiae
Caballo	pomona
Ciervo	hardjo

(Heath *et al.* 1994).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y PREVALENCIA

La Leptospirosis es una enfermedad cosmopolita. Teóricamente, cualquier mamífero puede infectarse por cualquier serovar; pero en realidad, solo algunos serovares pueden ser considerados como endémicos y/o enzoóticos en una región

(Ellis,1994). A nivel internacional los países endémicos son: España, Barbados, Holanda, Francia, Rusia, Perú, Argentina, Chile, Canada, Eslovaquia, Escocia, Pakistan, Tailandia, Nigeria, Costa Rica, Alemania, Dinamarca, Italia, Cuba, Australia, Zaire, Yugoslavia, Irlanda del Norte, Bangladesh, Gabon, Japón y Venezuela.

Epidemicos: Brazil, China, India, Puerto Rico y casos aislados Estados Unidos (Colin et al. 2004) y México (Centers for disease control and prevention, 2002).

En este sentido, serovares como: *pomona*, *icterohaemorrhagiae*, *canicola* y *grippotyphosa* se consideran de distribución mundial. La presencia de uno u otros serovares dependen de la existencia de mamíferos silvestres en esta región (WHO, 2003). Pero se declaró que tanto la distribución como la incidencia de la enfermedad dependen del tipo del suelo y su pH, la temperatura y condición ambiental y de la capacidad de las aguas naturales de mantener a los microorganismos sin dañarlos (Centers for disease control and prevention, 2002).

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

En bovinos también hay esta gran variabilidad como: en España en 1995 se obtuvo 10,4 % en Asturias mientras Andicoberry et al. (2001), diagnosticaron 7,6 % en animales individuales y 42,8 % en un rebaño, y 4,7 % de Bohórquez et al. (2000).

Ellis et al. (1976) y Pritchard (1986), publicaron un 49,1 % y 34,4 % respectivamente de Reino Unido, donde algunos le consideran el país europeo de alta prevalencia;

Francia se considera como el país con baja prevalencia en Europa con 1,8 % (Trap et al. 1986) pero a diferencia del 17,8 % obtenido en una zona de Loira en este mismo país (Fontaine et al. 1988).

Rocha (1998), obtuvo 15,3 % en Portugal; Kingscote (1985), reveló 15,3 % y en 1988 el estudio realizado por Albert dió a conocer un 8,3 % (Kingscote, 1988), mientras

Millar *et al.* (1991), reflejaron una prevalencia de 49 % después de realizar un trabajo que comprendió a 49 estados.

García (1966), obtuvo un 14,7 % en Colombia.

En el continente africano se han realizado varios estudios, Ndarathi *et al.* (1991), publicaron una prevalencia de 18,3 % y 28,5 % referente a Kenya. También existen datos como: 79,2 % por Sudáfrica (Turner, 1988); 1,9 %, 58,3 %, 72 % y 74,6 % de Wanyangu *et al.* (1988); King (1991), respectivamente.

De forma particular, Paparamborda (2001), publicó una prevalencia de 24 % en seres humanos, 61 % en bovinos y 40 % en los cerdos (Feraud *et al.* 2005).

FUENTES DE INFECCIÓN

La principal fuente de contagio para el hombre constituye, la orina de animales enfermos, reservorios naturales así como el contacto directo con estos animales. También las aguas contaminadas, leche cruda, descarga vaginal, feto de animales infectados y fetos abortos etc. Siendo considerada como enfermedad profesional. La infección en granjeros, veterinarios, trabajadores de mataderos, médicos de inspección de carne, trabajadores de control de roedores (Campagnolo *et al.* 2000).

Ocupaciones que requieren contactos con animales, el contacto directo y/o indirecto es importante para mineros, soldados, trabajadores de higiene y de pesca, trabajadores de ferias de animales, arroceros, trabajadores de platanales y cortadores de caña de azúcar (WHO/FAO, 2001).

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. Algunos autores han considerado las garrapatas, aves e insectos como; moscas, mosquitos, etc. (Bofill *et al.* 1989; WHO/FAO, 2001).

Agua

Para que ocurra la infección en el medio, las leptospiras necesitan una supervivencia en este medio primero, la cual tiene una vinculación tremenda con la humedad relativa alta y la temperatura a su punto óptimo en el lugar de aparición. La temperatura del agua tiene un efecto beneficioso, ya sea baja o alta. Las bajas disminuyen la multiplicación de los microorganismos, pero el tiempo de supervivencia aumenta y las altas temperaturas favorecen la multiplicación, pero con menos tiempo de supervivencia. Esto permite que las leptospiras puedan sobrevivir y mantener sus capacidades infectantes en el agua durante 22 días y en el barro 5–6 días. 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, a pesar de todo esto, no todas las aguas son favorables para la supervivencia de las leptospiras, ya que éstas también se ven afectadas por el pH y la salinidad.

Orina

Muchas infecciones en última instancia se deben a la contaminación con la orina de los animales enfermos, portadores o reservorios; siendo el pH el factor determinante de la supervivencia de las leptospiras en la orina (Michna, 1970). Ellas no pueden sobrevivir en pH ácido, por eso, algunos autores plantean que la orina del hombre y la de los ratones y ratas no son fuentes de excelencia para la infección al no ser que sean diluidas por agua. La orina de los bovinos se considera como la de mayor excelencia para una fuente de infección ya que su orina es de pH alcalino lo que favorece la supervivencia del germen y en 1 ml de orina puede contener hasta 100 millones de microorganismos de *Leptospira*. Además, la orina de muchos animales presenta aglutininas y lisinas específicas, cuya presencia causan una disminución en el tiempo y del número de microorganismos (WHO/FAO, 2001).

Leche

Los animales infectados, muchos eliminan leptospiras a través de la leche; (Guijarro *et al.* 1999). Debido a la presencia de sustancias antimicrobianas, la supervivencia en la leche cruda es muy corta. La infección humana por el consumo de la leche cruda de animales infectados y/o convalecientes hasta tres días después del ordeño ha sido notificada (WHO/FAO, 2001).

Tejido animal

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

Descargas posparto

Ellis (1983), demostró que las descargas posabortos pueden mantener sus capacidades infectantes pasado 8 días de éste, mientras diagnosticaron la posibilidad de infección por contacto con las descargas uterinas posparto y posabortos (Lidner *et al.* 2002).

Saliva

Desde que fue comprobada la infección en el humano tras mordeduras de animales como la rata o el perro, la saliva ha sido considerada como posible fuente de infección. También se sospecha de los lamidos de los perros a los niños, con la lengua contaminada mecánicamente, podría ser una forma más (WHO/FAO, 2001).

FACTORES ASOCIADOS A LA INFECCIÓN

Dependientes del agente etiológico

Resistencia a condiciones medioambientales

Referido en que la supervivencia del agente depende de la existencia de una humedad relativa alta, temperatura óptima entre 24-25 °C, pH neutro o ligeramente alcalino y presencia de materia orgánica, siendo estas condiciones indispensables para la existencia de la infección en una región geográfica. Por ello, las áreas con lagunas, riachuelos (bebederos en general) donde se congregan un gran número de animales, son las que más frecuentemente están implicadas en los focos de Leptospirosis.

Estos factores ambientales propician la existencia de una cierta estacionalidad en la presencia de la enfermedad, siendo más frecuente en otoño en países templados y en invierno en los países tropicales y subtropicales.

Capacidad infectante

Los estudios han demostrado que la capacidad infectante y la patogenicidad varían en función del serogrupo o serovar en cuestión (Centers for disease control and prevention, 2000).

Dependiente del hospedero

Edad

En estudios realizados revelaron un 40 % de seropositividad con anticuerpos leptospirales en terneros hasta un año de edad y 72 % en los adultos de hasta tres años de edad, donde ésta ha sido relacionada con el estado de portador renal en la última; mientras los animales pequeños se caracterizan por eliminar mayor cantidad de Leptospiras en su orina. En bovino, la morbilidad se calcula hasta 75 % en los adultos y hasta 100 % en los terneros, donde en este último la letalidad es de 5 %.

Gestacion

Las publicaciones disponibles demuestran que el aborto por leptospirosis se produce principalmente en los últimos estadios de la gestación entre los 6 y 9 meses, además, se supone que la infección parece producirse varias semanas antes, ya que el período de incubación en los casos de abortos suele ser largo, además el aborto casi siempre en la mayoría de las especies 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. También tiene relación con el nivel de inmunoglobulina (IgA e IgG) ya que el aumento de estos en la orina hace disminuir la cantidad de leptospira que se elimina en ella.

Factores genéticos

Se plantea que algunas cepas de ratones parecen tener más resistencia a la infección siendo la letalidad baja en este grupo y la protección que se desarrolla es más duradera. También esta conclusión fue hecha en terneros de diferentes grupos donde algunos mostraron signos benignos transitorios mientras hubo letalidad en los otros.

Dependientes del medio

Alimentación

En los animales alimentados con ensilaje de grano como suplemento, provocaba que el pH bajara más al nivel ácido, reflejando en la orina la eliminación de poca cantidad de leptospira.

Infecciones concurrentes

A quedado demostrado que después de una infección cualquiera, aumenta la receptividad de estos animales en contraer la leptospirosis, Haake (2000), descubrió en un brote grave de leptospirosis por *L. canicola* en cerdos, de los que se aisló simultáneamente *Salmonella suispestifer*.

Aptitud y manejo

En la explotación ganadera, se plantea que por la separación temprana de los terneros de sus madres en la industria lechera hace que en estos animales la

leptospirosis sea más frecuente que en los de carne, una vez introducida en la explotación, convierten en alto factor de riesgo para ellos. Además el sistema intensivo que se practica favorece la transmisión entre ellos por el hacinamiento (Haake, 2000).

VIAS DE TRANSMISION

Las principales vías de transmisión se clasifican en: Horizontal y Vertical.

HORIZONTAL

Horizontal directa

Esta forma de transmisión es la más frecuente en los casos de serovares adoptados como *hardjo*.

Contacto directo

Esta vía es la más estudiada además de tener diversas formas. La forma venérea fue tomada en consideración después que fue demostrada la presencia de *Leptospira* en el semen de un toro. Se considera como la fundamental en algunas especies cuyos habitats se encuentran en áreas de condiciones climáticas favorables o de densidad poblacional desfavorables para la transmisión de la enfermedad de otra manera como ocurre con la musaraña común en zonas de Polonia o Rusia, donde se han observados varia epizootias de leptospirosis en estos animales; asociadas a las épocas más secas del año, que por lo general, coincide con la época de la reproducción . En humanos se diagnosticó la infección de una mujer luego de contacto sexual con su pareja durante la fase de leptospiruria. Además de la venérea, la costumbre de los bovinos y perros de lamer los genitales y/o otras áreas corporales de sus compañeros, puede permitir también la transmisión de la infección.

Núcleos goticulares

Tienen importancia ya que las gotas de orina dispersan a varios metros del animal que orina, pudiendo penetrar las leptospiras procedentes de animales con leptospirosis, tanto por inhalación como por vía conjuntival (Lomar, 2000).

Horizontal indirecta

Esta desempeña un papel fundamental en las infecciones accidentales ya que se produce tras la exposición al ambiente contaminado con material infectante (Ellis, 1994).

Fomites

El agua, alimentos, pastos y suelos contaminados pueden facilitar el contacto entre el animal-humano y el agente. La forma importante y más frecuente para la infección humana y animal es el contacto de la piel o las mucosas con aguas o barro contaminados con orina y el contacto con órganos de animales enfermos en el matadero (Terry *et al.* 2000). Los pastos contaminados juegan un papel importante para la transmisión intra e interespecie (Lomar, 2000).

Vectores

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

VERTICAL

Transplacentaria

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

Galactófora

Puesto que la infección por *L. hardjo* y *L. pomona* pueden producir una mastitis clínica, los microorganismos presentes en la glándula mamaria podrían ser excretada con la leche e infectar al ternero por vía oral. En caso de ser humano, esta forma de transmisión es poco estudiado, pero sí hay informes al respecto.

Vía oral

En humano, por la ingestión de alimentos contaminados con la orina de animales enfermos o de reservorios. Antes se consideraba como una vía importante, pero hoy se le da poco valor como modo de transmisión (Lomar, 2000).

PATOGÉNESIS

Las leptospiras penetran en el cuerpo por las membranas mucosas o cortes en la piel, si tienen un número y virulencia suficiente para vencer la resistencia del hospedero, se multiplican y producen una infección clínica generalizada o subclínica (etapa leptospirémica). La infección se localiza en el riñón. En ese momento, los organismos aparecen en la orina y se depositan en el medio ambiente con cada infección (etapa leptospirúrica). Hay también tendencia a localizarse en el útero gestante y en esta forma puede causar el aborto (OPS/OMS, 2002; Centers for disease control and prevention 2000).

MECANISMO GENERAL DE PATOGÉNESIS

Después de penetrar por la piel (abrasiones) o mucosas, o al consumir alimentos o agua contaminada los microorganismos se multiplican rápidamente en el torrente sanguíneo, cursando con varios días de fiebre hasta que declina (fase leptospirémica, puede durar hasta 7 días). En la fase septicémica puede haber casos clínicos con muerte subsecuente de uno a siete días por la producción de algunos serotipos de hemolisinas, provocando la hemólisis grave, anoxia anémica con nefrosis hemoglobinúrica particularmente en animales jóvenes; o simplemente cursar de forma asintomática, frecuente en adultos. Luego que declina la fiebre aparecen anticuerpos en el torrente circulatorio (fase de formación de anticuerpos, se inicia al final de la primera semana hasta el final de la segunda) y microorganismos en la orina.

La fase septicémica remite los microorganismos particularmente a los riñones que da lugar a la tercera fase de eliminación con carácter continuo o intermitente, las lesiones renales dan origen a leptospiruria prolongada. El agente se localiza también en el hígado lo que complica el cuadro, pudiendo sobrevenir la muerte por insuficiencia hepática o uremia (Bolin, 2000).

Es frecuente la localización de las leptospiras en el sistema nervioso de ovinos y caprinos provocando síntomas de encefalitis.

Mecanismo fisiopatológico de la ictericia y la hemoglobinuria

Hemólisis intravascular, Anemia, Aumento de la hemoglobina (Hb) en el plasma, Hb libre en orina, Aumento de la bilirrubina no conjugada, Hemoglobinuria Ictericia de la anemia hemolítica.

La ictericia por excesiva destrucción de glóbulos rojos (ictericia hemolítica) o prehepática comienza con la excesiva destrucción de glóbulos rojos (en este caso por las leptospiras), al aumentar la hemoglobina en sangre esta se metaboliza en el hígado, aumentando la cantidad de pigmentos biliares, parte de estos pasan del hígado a la sangre, aumentando la bilirrubina libre en sangre dando el tinte icterico a las mucosas y piel del animal.

La muerte puede sobrevenir antes de producirse ictericia o no producir cantidades de bilirrubina superiores a la capacidad de excreción del hígado. Describen que además algunos serovares no pueden producir hemolisinas. Estos casos serían anictéricos (Centers for disease control and prevention, 2000).

Mecanismo del aborto

Señalan que las sustancias tóxicas liberadas por la acción destructiva de los anticuerpos causan destrucción de los eritrocitos y presumiblemente atraviesan la barrera placentaria produciendo la muerte fetal por anoxia. Según otros autores, el aborto se debe a las alteraciones placentarias, interfiriendo el paso de sustancias, resultando la inanición y muerte fetal, seguido de su expulsión (Bofill *et al.* 1988).

SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA

De forma general las infecciones pueden ser asintomáticas o pueden resultar en una variedad de trastornos: fiebre, ictericia, hemoglobinuria, aborto y muerte (Manual merk de veterinaria, 1996).

Las Leptospiras son muy invasivas debido a la producción de enzimas o a factores mecánicos, como la motilidad por excavación y a su tropismo orgánico. Ambas causas se han sugerido como mecanismos por los que éstas alcanzan sitios normalmente protegidos del organismo, como el LCR y el ojo. La capacidad lesional de estos gérmenes puede ser debida a factores tóxicos (hemosilina, fibrolisinas, lipasas) y endotoxinas (catalasa, hialuronidasa) (Centers for disease control and prevention, 2000).

Las leptospiras penetran en el organismo animal o humano, mediante la ingestión de los alimentos contaminados o agua, o a través de las membranas mucosas de ojo, boca, fosas nasales, vagina y pene, o a través de la piel dañada o reblandecida por el agua, piel escoriada. El agente se difunde a partir del punto sin dejar lesión, invadiendo la torrente sanguíneo, multiplicándose en éste y en el parénquima hepático durante un período de incubación entre 2-30 días según sea el caso, circulando en la sangre provocando leptospiremia por al menos 7 días produciendo pirexia, eliminación de leptospiras en la leche, anorexia, daño funcional de algunos órganos (hígado, bazo o cerebro,) especialmente en animales jóvenes (Butler *et al.* 2000).

Los signos de la enfermedad aguda generalmente coinciden con la fase de leptospiremia, donde estos pueden atribuirse a la existencia de determinados factores de patogenicidad bacteriana, como las hemosilina y las lipasas siendo la primera causa de la anemia. Estos factores son más frecuentes en determinados serovares como: *pomona* o *grippotyphosa*. Más tarde, se le suma la acción de los anticuerpos situados en la superficie eritrocitaria que sensibilizan al eritrocito, causando su rotura-anemia. Durante esta fase (leptospiremia) ocurre una reacción inflamatoria en la mama (mastitis). La hemólisis producida por la hemosilina y por el daño hepatocelular se le atribuye a las causas isquémicas y tóxicas–ictericia (OPS/OMS, 2002).

Tras esta fase, las leptospiras se concentran en el riñón, lugar de difícil acceso para los anticuerpos, la ubicación en los túbulos renales se ve facilitada por la producción de ureasa por parte de las leptospiras posteriormente, se multiplican en la luz de los túbulos contorneados renales, principalmente en las proximidades de las microvelocidades, donde la nefritis está provocada por el daño capilar y la producción de determinadas endotoxinas y hemosilinas, que terminan por producir anoxia y nefrosis hemoglobinúrica, por la posible isquemia debida a la agregación intravascular de hemoglobina que obstruiría los capilares y también por la presencia de mononucleares infiltrados por una reacción autoinmune, lo que da lugar a la tercera fase (leptospiuria) que puede tener carácter continuo o intermitente y de duración variable según la especie afectada. El bovino puede tener una leptospiuria hasta 7 meses.

La localización de agentes patógenos en el hígado y humor acuoso complica el cuadro y el desenvolvimiento clínicos, también el aborto es causa de la fiebre y la reacción sistémica general, por el paso de hemosilina y otras toxinas a través de la placenta destruyendo los eritrocitos fetales y los cambios degenerativos microscópicos en la placenta interfieren en el intercambio fisiológico entre la madre y el feto, pudiendo originar la muerte fetal. Siempre hay que tener en cuenta que, en algunos casos, la aparición del aborto es muy posterior al momento de la infección (Center for diseases control and prevention, 2001).

El período de incubación generalmente es de 2-30 días, que a veces es de 5-14, los síntomas son muy variables, dependiendo de la especie animal, el serovar infectante, la virulencia del germen y la inmunidad del hospedero.

FRUSTRADA

Cursa con hemoglobinuria, sin ictericia y cura posteriormente.

SOBREAGUDA

Se caracteriza por la aparición repentina de fiebre alta, hemoglobinuria, ictericia, disnea por congestión pulmonar, anorexia, altos niveles de urea en sangre y de

albúmina y bilirrubina en orina. 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) (Perdomo *et al.* 2002). Los serovares que más causan esta forma son: *L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. autumnalis*, por lo que nunca se produce en el portador crónica; por ser clasificado como serovares no adaptados.

AGUDA

Es frecuente en los terneros, casi siempre mortal. Presenta: anorexia, laxitud, fiebre, 40,5-41,5 °C, posteriormente se presenta la hemoglobinuria, ictericia, septicemia, hemorragias petequiales en todas las membranas mucosas, anemia (Manual merck de veterinaria, 1996). Al principio, se puede presentar diarrea, en algunos casos sanguinolentas y/o amarillentas y con olor fétido, pero más tarde puede haber estreñimiento, rara vez afecta a los adultos.

SUBAGUDA

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

FORMA CRÓNICA

Casi siempre está relacionado con *L. hardjo* y en algunos casos *L. pomona* sin manifestación clínica (Chamizo, 1998). Caracterizada por la aparición de abortos, retención de placenta, mortinatos, nacimientos de animales débiles (Vanasco *et al.* 2000). El aborto puede ocurrir en esta última etapa de la gestación entre 6-9 meses y el

animal elimina el germen por la orina durante un largo período (Manual merk de veterinaria, 1996).

LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS

Haciendo una descripción muy general se plateará lo más característico. En la forma aguda son constantes la anemia, ictericia, hemoglobinuria, hemorragias submucosas y subserosas. En las nefritis intersticiales progresivas se caracterizan por zonas elevadas, blanquecinas y de pequeño tamaño en la corteza renal.

Según el serovar de leptospira y el hospedero afectado las lesiones pueden variar en intensidad y extensión. Hay hepatomegalia, con pequeñas áreas de necrosis focal. En la mucosa del abomaso pueden encontrarse úlceras y hemorragias. En los pulmones puede haber edema y enfisema. Los riñones están aumentados de tamaño y observarse un moteado marrón rojizo de la corteza. En los casos crónicos la corteza renal presenta gran cantidad de focos fibróticos blancos (Meslin *et al.* 2000).

Los riñones muestran su lesión más significativa en forma de infartos rojos o blancos que causan un moteado de la corteza. En casos fulminantes se observan petequias en el epicardio y ganglios linfáticos (Manual merk de veterinaria, 1996).

Las mayores lesiones placentarias incluyen masas císticas-alantoideas nodulares, edema, áreas de necrosis del corion, trombosis, vasculitis, infiltración celular, necrosis y calcificación de los vellos.

El cadáver animal revela ictericia manifiesta, necrosis de la piel; de los ollares, de la cavidad nasal y bucal.

En los fetos abortados se observan congestión generalizada y deposiciones líquidas.

También se puede encontrar ictericia, mastitis, fluído libre en cavidades corporales, lesiones petequiales dispersas, edema perirenal, nódulos linfáticos aumentados de tamaño, bilis de consistencia pastosa y color negrusco (Meslin *et al.* 2000).

RESPUESTA INMUNE

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

Durante toda la fase de leptospiuria, los niveles de IgM pueden no detectarse en sangre. En cambio, se puede detectar las IgG en orina, aproximadamente a las 6 semanas después de la infección. Además, los animales suelen presentar una respuesta inmune local, lo que provoca la aparición de IgA en la orina, hacia las 12 semanas de la infección. Esta presencia de IgA y la aparición de IgG en la orina, parece tener un efecto negativo sobre la variabilidad de las leptospiras en ésta, tal y como lo demostraron Moles *et al.* (2002).

En la mayoría de los casos, en el momento del aborto los niveles de anticuerpos son bajos, incluso negativos. Esto redundo en una dificultad a la hora de realizar el diagnóstico de los abortos por leptospiras (*Moles et al.* 2002).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de los casos de Leptospirosis animal puede ser complicado o difícil, debido, principalmente, a las características intrínsecas de las leptospiras y a la epidemiología de las mismas. En la actualidad, se cuenta con un gran número de técnicas de laboratorios distintos, pero su realización previa, es conveniente recabar información sobre una serie de datos que puedan orientar en el diagnóstico. Para ello,

se debe combinar los siguientes: el diagnóstico epidemiológico, clínico y de laboratorio (Centers for disease control and prevention, 2000).

El diagnóstico real debería basarse en el aislamiento, cultivo e identificación, pero las peculiares características de las leptospiras tales como crecimiento difícil y lento, hacen que esta metodología esté indicada en aquellos casos que otros más sencillos, como los serológicos, carecen de confiabilidad. En el caso de los estudios epidemiológicos, en los que se cuenta un gran número de muestras y el objetivo es la obtención de un resultado de prevalencia, las técnicas indicadas son, las serológicas, a pesar de que su interpretación es muchas veces subjetiva (WHO/FAO, 2001).

DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO

En aquella aparición tanto humana como animal, en las que se encuentran con cuadros sintomatológicos compatibles con un caso de leptospirosis, se debe enfatizar en la anamnesis de los aspectos siguientes:

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 *et al.* 2002).

Animales

época del año en la que ha aparecido el brote, con especial atención a las condiciones climáticas: precipitación, temperatura, humedad relativa, aptitud del rebaño, manejo y estado sanitario de la explotación incluyendo entrada de animales nuevos, manejo de la cría, alimentación, si hay monta natural o inseminación artificial etc. Presencia de otras especies domésticas, ejemplo: ovejas, perros, cerdos etc. Control de animales silvestres portadores. Si el rebaño comparte el bebedero con otros animales silvestres, edad y sexo de los animales afectados. Sintomatologías predominantes y

características de los signos clínicos. Antecedentes de leptospirosis, si se realiza vacunación contra la leptospirosis (Andicoberry *et al.* 2001).

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Tiene un carácter presuntivo y se realiza fundamentalmente a través de los signos y síntomas que presenten los animales. Además las lesiones anatomopatológicas características de la enfermedad que aportan una gran contribución. .

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Las técnicas bacteriológicas son las más complejas, pero nos brindan resultados muy importantes, tales como: la observación, el aislamiento y la identificación del microorganismo (Centers for disease control and prevention, 2000).

El diagnóstico debe basarse en el conocimiento de la patogenia del microorganismo, así como de sus propiedades. Estos métodos se pueden dividir en: técnicas indirectas, que detectan anticuerpos frente a las leptospirosis y técnicas directas encaminadas a la detección de leptospirosis o sus antígenos y/o ácidos nucleicos en los tejidos y/o fluidos corporales. En caso de muestras procedentes de fetos, las técnicas directas están más indicadas que las indirectas, ya que el diagnóstico individual cobra mayor importancia. Para las muestras procedentes de animales adultos, las técnicas indirectas se utilizan más frecuentemente pues son más sencillas de realizar y su costo es menor, en los animales vivos, se enviará sangre y leche en fase aguda de la enfermedad y orina en la crónica. De los fetos, los órganos de elección son: hígado, riñón, cerebro, glándula adrenal y pulmón, así como cualquier fluido interno. Los animales muertos y sacrificados, las muestras que se deben enviar son: cerebro, médula espinal, LCR y ojo cuando hay síntomas nerviosos, y la mayoría de los órganos parenquimatosos en los casos que cursan con ictericia (hígado, riñón, bazo etc. y la vejiga y su contenido, humor acuoso, aborto y contenido estomacal (Moles *et al.* 2002).

Las muestras postmortem más adecuada son: riñón (parte cortical), hígado, bazo, así como sangre de corazón o líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, líquido peritoneal, cerebro, fetos abortados, semen y leche materna, deben preservarse congelados en glicerol a partes iguales.

Para propósitos epidemiológicos, pueden obtenerse muestras de agua y suelo, y en caso de epidemias o epizootias, sangre, riñón, hígado de animales capturados (roedores u otros animales silvestres).

Técnicas indirectas

Los métodos serológicos nos brindan un diagnóstico en corto tiempo y son capaces de detectar anticuerpos antileptospirales (que pueden ser de la clase IgM e IgG), las que constituyen las técnicas de elección. Además, son las pruebas de laboratorio más utilizadas en el diagnóstico, al igual que para la realización de estudios epidemiológicos. El mayor problema que presenta es los niveles de anticuerpos , aunque se mantengan durante años, alcanzan niveles tan bajos en animales y personas infectados crónicamente que no siempre se detectan , además en los casos de infección por serovares adaptados un porcentaje de los animales pueden no presentar respuestas 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 .

MAT

Es el método serológico de referencia a la hora de evaluar otras pruebas para el diagnóstico de leptospirosis. Se emplea para detectar anticuerpos en sueros de sospechosos o enfermos, donde el suero del paciente sospechos o enfermo reacciona con antígenos vivos de leptospiras de 10 días de crecimiento en medio líquido con enriquecimiento, y es el más utilizado cotidianamente. Además es la prueba oficial para

la exportación e importación de animales (El MAT fue ideado por Martin *et al.* en (1917), en la actualidad, para obtener una adecuada sensibilidad, se recomienda utilizar cepas representativas de todos los serogrupos presentes en un lugar determinado concreto y de la especie objeto de estudio. También hay reportes de una sensibilidad y especificidad de MAT hasta 92 % y 95 %, respectivamente, con un valor predictivo positivo de 95 % y negativo 100 %. (OIE, 2004).

Para la realización de la prueba se utilizan cultivos de cuatro a ocho días de edad cuya suspensión produzca una transmitancia del 60-70 % en un espectrofotómetro a 400nm de longitud de onda. Además, es necesario determinar el punto de corte, título por debajo del cual es considerado que la aglutinación es debido a reacciones inespecíficas. El título de anticuerpos del suero será la dilución más alta en la cual aun encontramos 50 % de aglutinación (Herrera, 2002).

El punto de corte más recomendado es el título 1:100 en bovino para los perros, felinos, ovinos, suinos y equinos se considera positivo un resultado superior a 1:50 (Herrera, 2002), el 1:100 en bovinos no siempre resulta adecuado, principalmente en infecciones por serovar adaptado como. En caso de abortos en bovino 1:40 se considera diagnóstico, aunque el porcentaje de fetos que presentan reacción de inmunidad humoral es bajo. .

Al igual que otras pruebas serológicas, para diagnosticar una infección individual mediante MAT, se requiere estudiar dos muestras pareadas de 7-14 días de intervalo de la primera y si se observa que ha habido seroconversión, se considera de valor diagnóstico un cambio en el título de al menos, cuatro veces el título inicial (Harskeerl *et al.* 2000). Es una prueba principalmente de rebaños, pues la obtención de títulos individuales frente a las leptospiras, se considera poco significativo.

A pesar de ser la prueba más recomendada y extendida, presenta una serie de desventajas: no distingue anticuerpos vacunales de los de infección, resulta difícil su estandarización ya que su valoración es subjetiva, requiere el mantenimiento de cultivos de leptospiras y no siempre detecta a los animales infectados, en especial cuando el

serovar implicado es *L. hardjo*, que presenta como características ser poco antigénico (OIE, 2004).

MSAT

Útiliza leptospiras formoladas y centrifugadas, resuspendidas a una cierta densidad estándar, con un "pool" de antígenos de varios serogrupos. La aglutinación que se produce es semicuantitativa y puede leerse a simple vista. Esta reacción es menos específica que MAT, menor nivel de títulos obtenido, mayor reacción cruzada, los antígenos son estables a 4 °C por lo menos un año, es especie específica y de la misma forma que MAT, no diferencia reacción entre anticuerpos de la infección reciente y tardía, pero tiene una buena reacción temprana de la enfermedad que MAT (Harskeerl *et al.* 2000).

Fijación del Complemento (FC)

Es una prueba género-específica que emplea como antígenos de *L. biflexa*, considera tan fiable como el MAT para la detección de animales con leptospirosis, pero, detecta infección reciente, es útil en el proceso de grandes cantidades de sueros ya que puede semiautomatizarse. Es una herramienta epidemiológica para diagnóstico rápido, menos laboriosa que el MAT. Las desventajas son las sustancias anticomplementarias del suero, la corta vida e inestabilidad del antígeno, no permite la diferenciación de serovares y no detecta niveles bajos de anticuerpos (WHO, 2001).

ELISA

Las deficiencias que permite el MAT han obligado a los científicos emplear esta técnica que ayude a la detección de anticuerpos tanto en tanque de leche como en el suero. Ella es capaz de detectar la IgM durante la primera semana de la enfermedad y la detección tardía de IgG que permite diferenciar infecciones recientes de pasadas. La detección de anticuerpos específicos IgM con una sola muestra es confirmatoria de una infección reciente por leptospiras. Además se considera como más sensible que MAT, es fácil de estandarizar los antígenos, pueden almacenar durante meses, no tiene

ningún riesgo para los técnicos pocas reacciones cruzadas, tampoco diferencia los anticuerpos vacunales de las infecciones. A pesar de que es una prueba muy eficaz, aun no está considerada como prueba oficial (OIE, 2004).

Técnicas directas

Observación en microscopio de campo oscuro

Este método se realiza para la observación de leptospiras en los fluidos orgánicos. Es difícil 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 (Centers for disease control and prevention, 2000; Harskeerl *et al.* 2000).

Aislamiento

Para muchos autores, es la técnica más sensible para el diagnóstico de leptospiras, además es la que confirma la presencia del germen, tanto en casos agudos como crónicos, a pesar de que requiere mucho tiempo y de laboratorios.

La inoculación en animales de experimentación puede considerarse una forma especial del aislamiento y está considerada como la técnica más sensible por algunos científicos.

Detección y estudio de ácidos nucleicos

Son pruebas relativamente modernas que aun precisan más estudios sobre su efectividad y utilidad. Comprende: marcado con sondas de ADN, hibridación de ARN, marcado con radio y PCR con mayor efectividad en la orina (Zuerner *et al.* 1995; Wagenaar *et al.* 2000).

PCR

Consiste en una cadena de ciclos respectivos de replicación apoyada por el uso de la enzima ADN polimerasa para hacer millones de copias de una secuencia molde.

El aspecto más significativo es que son necesarias cantidades extremadamente pequeñas de material biológico de partida para llevar a cabo la amplificación.

El reto mayor es encontrar la secuencia de ADN deseada, la cual es solo una mínima parte del ADN total del material inicial. La técnica se concibió por Kary Mullis en 1983 y se mejoró y se optimizó por otros científicos.

Su nombre está dado por la dependencia de la enzima de replicación del ADN y la reacción en cadena creada durante el proceso de aplicación.

Por las técnicas de ADN recombinante se pueden determinar las secuencias de un gen en particular y tenerlo como molde para el PCR. Para esto se sintetizan cebadores que portan un corto fragmento de la secuencia conocida. Estas secuencias de los cebadores oligonucleótidos son complementarias a las cadenas opuestas del ADN. El paso del cebador da los sitios obligados de comienzo para la replicación, de esta forma la secuencia de ADN de interés es copiada. Las copias de las copias tienen dos extremos definidos y contienen solo la región de interés, mientras que las copias del ADN original son más largas y contienen un solo extremo definido y una extensión más allá de la región de interés.

Como los sitios se repiten las copias de un solo extremo se incrementan aritméticamente, puesto que el molde no incrementa el número, y las copias con dos extremos definidos (cadena seleccionada). Se replican exponencialmente por lo que predominarán rápidamente. Las aplicaciones del PCR son innumerables y tienen relevancia en el diagnóstico de enfermedades, específicamente en nuestro caso de la leptospirosis. Así como también en la taxonomía microbiológica, esperando resolver en un futuro inmediato los incipientes métodos de clarificación de la familia *Leptospiraceae*, basados actualmente en las características antigénicas aglutinantes, variando su taxonomía constantemente (Centers for disease control and prevention, 2000; OIE, 2004).

Zuerner *et al.* (1993), estudiaron la variabilidad genética de la *L. borgpetersenii* serovar *hardjo* tipo *hardjobovis* de aislamientos representativos de regiones geográficas. Estos se determinaron por análisis de restricción de la endonucleasa. Todos los aislamientos fueron categorizados en 14 grupos distintos sobre la base de la común hibridación y patrones de digestión de la endonucleasa. Estos grupos sugieren una ligera diferencia en las poblaciones clonales de *hardjobovis* según las distintas regiones geográficas.

Wagenaar *et al.* (1994), desarrollaron la detección de leptospiras patógenas basados en el PCR. Amplificó una secuencia de ARN ribosomal, detectando leptospiras en orina de cerdo y bovino.

En 1994 Perolat *et al.*, evidenciaron por el PCR una considerable heterogeneidad genómica en las cepas aisladas del grupo *hardjobovis*. El grupo *hardjoprajitno* fue homogéneo. El PCR y la determinación de los mapas de restricción en genes ribosomales es un método de triplicación de cepas de leptospiras y del estudio de estructuras interespecíficas de la población.

Bal *et al.* (1994), investigaron muestras de orina de pacientes en diferentes estados de Leptospirosis por el PCR, utilizando este método como una alternativa para el cultivo. En el 90% de los casos fueron detectadas leptospiras de muestras de orina. Muestra de orina de pacientes tratados con antibióticos fueron positivos al PCR. En muestras biológicas de riñón de cerdo y bovino fueron demostradas leptospiras sin requerirse cultivo y aislamiento. Estos trabajos se ampliaron en 25 aislamientos de *pomona*, llegando a la conclusión que el PCR es una simple y rápida detección de *L. interrogans* y el serovar.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Para llegar al diagnóstico diferencial, es necesaria una buena anamnesis que abarque los antecedentes particulares y/o animales patológicos de 15-20 días anteriores a la presentación de la enfermedad. Dada las diversas presentaciones, se deben diferenciar por especies según las manifestaciones clínicas predominantes (Savio, 2002)

En bovinos, se deben diferenciar con cuadros que cursan con: hemoglobulinuria, hematuria, hemólisis, aborto, Mamitis y disminución de la producción láctea como: Anaplasmosis, Babesiosis, Pasteurellosis, Brucelosis, Listeriosis, Vibriosis, Trichomoniasis, Toxoplasmosis, intoxicación por Cobre, hemoglobulinuria posparto y trastornos alimentarios.

PROFILAXIS

Para que las medidas que se quieren tomar sean efectivas para el control de la enfermedad en cuestión, es sumamente imprescindible la identificación lo antes posible de los animales afectados, así como el serogrupo y/o serovar actuante, puesto que la presencia de un serovar u otro depende principalmente de la existencia de su hospedero de mantenimiento específico y según sea el hospedador, las medidas de control serán diferentes (Savio, 2002).

Desde el punto de vista epidemiológico, la leptospirosis es una enfermedad difícil de controlar ya que el microorganismo se puede albergar en el riñón y ser eliminado en la orina de muchos animales, perpetuándose entre ellos el estado de portador. Sin embargo, se deben realizar esfuerzos para conocer la prevalencia de serotipos específicos en una determinada población y describir los focos de contagio a fin de evitar aparición de nuevos casos (WHO, 2000).

INMUNOPROFILAXIS

Dentro de la inmunoprofilaxis se puede considerar tanto la vacunación como la inmunización pasiva con suero hiperinmune.

La vacunación es una práctica muy extendida en muchos países, siendo, para algunos autores, la mejor herramienta de control. Sin embargo, presenta una serie de inconveniencias en primer lugar: las vacunas comerciales son bacterinas y no proporcionan inmunidad cruzada entre serovares distintos y sola permiten una protección limitada frente a cepas distintas de un mismo serovar. Los serovares y las cepas varían entre países, por lo que la protección ofrecida por las vacunas elaboradas

con cepas de otro país o región, en otras regiones puede ser poca eficaz. En segundo lugar, diversos estudios sobre las vacunas existentes, han demostrado que tanto monovalente, bi y hasta pentavalente, no evitan la infección, la migración al útero y oviducto ni la persistencia de la infección renal y por consiguiente, tampoco evitan la leptospiruria ni el nacimientos de algunas crías débiles y mortinatos. (WHO, 2003).

A pesar de estas limitaciones, la vacunación sigue siendo parte importante del sistema control en los rebaños.

En un programa de vacunación de todo un rebaño (bovino) durante cinco años, es posible el control de las infecciones por *L. hardjo* y su eliminación del rebaño. También, se considera que el calendario de vacunación debe ser al principio del período seco y en el parto, puede disminuir las pérdidas económicas por abortos. Primera vacunación: se vacunan todos los animales del rebaño, machos, hembras y terneros. Segunda dosis a los 21 días de la primero. Revacunación en forma anual o semestral de acuerdo al productor. Machos: vacunar antes de entrar al servicio para proteger al hato (WHO, 2003). Hembras: vacunar antes del servicio y previo al parto. Terneros: vacunar a los 2 meses de edad y luego revacunar en dependencia del productor (Hudson, 2001).

La otra variante es la vacunación total del rebaño y luego tratar con dihidroestreptomicina 2 mg/kg a todas las vacas preñadas .

PROFILAXIS HIGIÉNICO-SANITARIO

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

meteorológicas del ambiente y los cambios estacionales deben tomar en cuenta (WHO/FAO, 2001)

RECOMENDACIONES

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

Protección individual de los trabajadores como: ganaderos, trabajadores de alcantarillados, abaderos agrícolas veterinarios, arboles, cañeros etc. mediante el uso de calzado y vestimentas apropiadas (botas, delantales guantes, antiparras, tapaboca) según la tarea que se desempeñen.

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

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

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

Disposición, colecta y eliminación de los residuos (recipientes apropiados, colecta permanente y coordinada con la población, relleno sanitario correcto y en condiciones).

Control ecológico de la población animal salvaje.

Aislamiento de los animales domésticos.

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

Drenaje, canalización de cursos o espejos de agua que tienden a provocar inundaciones o que representen posible focos de esta enfermedad.

Realizar estudios epidemiológicos para tener noción sobre prevalencia de la enfermedad en la especie así como para saber que serogrupo o serovar esta circulando.

Desratización general de la explotación y construcción de edificio a prueba de roedores.

Reducir el pastoreo conjunto con otras especies domésticas y con otros rebaños.

Mantener una política de ciclo cerrado y en su defecto someter a la cuarentena estricta a los animales de reposición que entran nuevos en la explotación.

Evitar el uso de machos enfermos para la monta directa.

Las mascotas deben vacunarse anualmente (Fenga *et al.* 2000; Acha *et al.* 2001; Lyford *et al.* 2002; Willat, 2002; Pumarola *et al.* 2002; WHO/FAO, 2001).

TRATAMIENTO

El objetivo premodial para el tratamiento contra la infección por leptospirosis, es controlar la infección antes del daño irreparable que puede ocurrir en el hígado y riñón. Prácticamente todos los antimicrobianos tienen efecto sobre la infección por leptospiras, excepto las sulfanamidas y el cloranfenicol en animales.

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

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

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

Clorhidrato de tetraciclina: 11mg/kg/5 días

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

Oximicina: 100g/5 días / IM.

LITERATURA CITADA

- Aarón D.C. 1991. Manual of clinical microbiology. American Society for Microbiology. Washington D.C. 554-59.
- Acha P.N; Szyfres B. 1992. Zoonosis de Importancia médica. OPS.
- Acha P.N; Szyfres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles en el hombre y los animales. Bacteriosis y micosis. 3.- ed. OPS.
- Aldorevich A.L. 2001. Diagnóstico de leptospirosis: muestreo e interpretación de resultados serológicos. CEISA (Colombia).1(1, 2):5-7.
- Andicoberry C.A; García P.F; Ortega M.L. 2001. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. Investig Agr Prod Sanid Anim.16:205-25.
- Arzumanian G.1973. Estudio del problema de la reserva de leptospiras entre los roedores de Cuba. Academia de Ciencias de Cuba. (47).
- Betancourt B. 2000. Evaluación de campo de una vacuna cubana contra la leptospirosis. Rev. prod. anim. Vol. 12.
- Birnbaum N; Barr S.C; Center S.A, *et al.* 1998. J. Small Anim. Pract. 39(5):231-6.
- Blenden D.C.1976. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. P. Científica. OPS. No. 316.
- Bofill P; Rivas A; Ramirez W, *et al.* 1988. Manual de enfermedades infecciosas. Tomo I, ISCAH. 139-187.
- Bolin C; Cassell J.A. 1990. Isolation of *Leptospira interrogans* serovar *bratislava* from stillborn and weak pigs in Iowa. J. Am. Vet. Med. Assoc. 5(196):1001-1604.
- Brenner D.J. 1999. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:839–858.
- Butler C.S; Endara S.A. 2000. Leptospirosis complicated by severe aortic stenosis. Anaesth. Intensive Care. 28:434–437.
- Campagnolo E.R; Warwick M.C; Marx H.L, *et al.* 2000. Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans exposed to infected swine. J. Am. Vet. Med. Assoc. 216:676–682.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2000. Outbreak of acute febrile illness among participants in Eco Challenge Sabah 2000. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 49:816–817.
- Chandrasekaran S; Pankajalakshmi V. 1997. Usefulness of dark field microscopy after differential centrifugation in the early diagnosis of leptospirosis in dog and its humans contacts. Indian J. Med. Sci. 51(1):1– 4.

- Cheemaa P.S; Srivastava S.K; Amutha R.S, *et al.* 2007. Detection of pathogenic leptospire in animals by PCR based on lipL21 and lipL32 genes. *Indian J. Exp. Biol.* 45(6):568-73.
- Ellis W.A. 1991. Diseases of Sheep. Blackwell Scientific publications (Oxford).60(7)78-80
- Ellis W.A. 1994. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 10(3):463-478.
- Ellis W.A; Mc Donald A.W; Yan K.T, *et al.*1994. Prevalence of *Leptospira spp* in findings with 3 forms in equine leptospiral abortions. *Equine. Vet. J.* (2):105-108.
- Everald C.D; Edwards C.N; Everald J.D. 1995. Twelve years study of leptospirosis on Barbados. *Eur. S. Epidemiol.* 11(3):311–320.
- Faine S; Adler B; Bolin C, *et al.* 2000. *Leptospira* and leptospirosis, 2nd ed. Melbourne: MediSci.
- Feraud T.D; Jiménez M.F; Rodríguez J.L, *et al.* 1991. Resultados serologicos, bacteriologicos y anatopatologico en un foco de Leptospirosis porcina. ALVEC `91 4to congreso de la asociacion de veterinarios especialistas en cerdos y 1er congreso de la sociedad Cubana de Veterinaria porcina, La Habana, Cuba 10-14 junio. 8-58.
- Feraud T.D; Perez N. 1990. Diagnóstico clínico y de laboratorio en un brote de leptospirosis. XII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, La Habana, Cuba jul 31-4 agost.
- Feraud T.D; Abelado G.A. 2005. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET - issn 1695-7504. 6(4).
- Forrest L.J; O'Brien R.T; Tremelling M.S, *et al.* 1998. Sonografic renal findings in 20 dogs with leptospirosis. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 39(4):337-340.
- González J.A; Tamayo S; Machado A.1990. Leptospirosis. CIDA, La Habana.
- Haake D.A. 2000. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology.* 146:1491–1504.
- Hartskeerl R. 2000. International Course on Laboratory International Course on laboratory Methods for diagnosis of Leptospirosis. Royal tropical Institute. Amsterdam, Holanda.
- Herrera F; Delgado L; Duarte C, *et al.* 2002. Serogrupos de leptospira circulantes en diferentes municipios de las provincias Habana y Ciudad Habana. 2do Taller Internacional de Leptospira. *Hombre y los animales.* 3.- ed.
- Hubener S. 1996. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 3.- ed. Ed. Acribia, España. 112–120.
- Hudson D.B. 2001. Leptospirosis of domestic animals. <http://www.jarn.vnl.edu/pubs/>. [04/10/01].
- Institut Pasteur Paris. 2000. Biological Diagnosis. Leptospirosis-lime disease. interpretacion de resultados serologicos. CEISA. 1(1, 2)5-7.

- Sandow k; Ramírez S.W. 2005. Leptospirosis humana y bovina y su relación con los factores edafoclimáticos en una provincia de la región oriental de Cuba, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>. 6(9).
- Levett P.N. 2001. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 14(2):296-326.
- Levett P.N; Walton D; Waterman L.D, *et al.* 1998. Surveillance of leptospiral carriage by feral rats in Barbados. *West Indians Met. J.* 4(10):15-17.
- Lidner C; Savio M. 2002. Situación de leptospirosis en Uruguay. *Vigilancia Epidemiológica. El Diario Médico*.
- Lomar A.V; Diament D; Torres J.R. 2000. Leptospirosis in Latin America. *Emerging and re-emerging Diseases in Latin America. Inect Dis Clin. N.A.* 14(1):23-38.
- López R; Bollet A; Chan S, *et al.* 1996. Sistema de vigilancia en rabia y leptospirosis, del 91 al 95 en provincia Habana, IV Congreso Nacional de Higiene y Epidemiología, La Habana.
- Lottersberger j. 2002. Validez de un enzimoInmunoensayo para el diagnóstico de leptospirosis bovina. *Arch. Med. Vet.* 34:89-95.
- Malojov J.A; Alejin R.M.1989. Leptospirosis del cerdo. Ed. Científico Técnico. La Habana.
- Mason R.J; Fleming P.J; Smythe L.D, *et al.* 1998. *Leptospira interrogans* antibodies in feral pig from New South Wales. *J. Wildl. Dis.* 34(4):738-743.
- El manual Merk de Veterinaria.1996. Ediciones Océanos. 4.- ed. Barcelona, España.
- Meslin F.X; Stohr K; Heymann D. 2000. Consecuencias de las zoonosis emergentes en el campo de la salud publica. *Rev. Sci. Tech. off. Int. Epiz* 19(1)310-317.
- Moles C.L; Cisneros P.M; Rosas D.G, *et al.* 2002. Serological study of bovine leptospirosis in Mexico. *Rev Cubana Med Trop.* 54(1):24.
- Moles C.L; Torres B.J; Figueroa A.D. 1994. Diagnóstico serológico de leptospirosis en un panda gigante (*Ailuropoda melanolenca*). *Rev. Técnica Pecuaria en México.* 32 (3):145-149.
- Moles C.L; Urrutia R.M; Diosdado F, *et al.* 1996. Serologic survey of swine leptospirosis in the central area of México. *Proceeding of the 14 IPVS Congress. Italy.*
- Obregón A.M; Fernández C; Rodríguez I, *et al.* 2004. Sistema de aglutinación con látex para el diagnóstico rápido de la leptospirosis en Cuba. *Pan American Journal of Public Health.* 16(4):259-65
- Ochoa J.E; Sanchez A; Ruiz J. 2000. Epidemiology of leptospirosis in a livestock production area of the Andes. *Rev. Panamericana Salud Pública.* 7(5):325-31.
- OIE. 2007. Manual para el diagnóstico de la leptospirosis, http://int/eng/normes/mmanual/A_00041.html [09/10/2007].

OIE. 2004. Manual para el diagnóstico de la leptospirosis.

Oliveira A.A; Mota R.A; Pereira G.C, *et al.* 2001. Seroprevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns Municipal District, Pernambuco State, Brazil. *Onderstepoort. J Vet Res.* 68(4):275-9.

OPS/OMS. 2002. Taxonomia and identification-theoretical background international course on laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis (13.5) Kit biomedical research. Amsterdam. Netherlands.

Perolat P; Chappel R.J; Adder B, *et al.* 1994. *Leptospira fainei* sp Nov. Isolated from pigs in Australia. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48(3):851-858.

Perolat P; Merien F; Ellis W.A, *et al.* 1994. Characterization of *Leptospira* isolates from serovar *hardjo* by ribotyping, arbitrarily primed PCR, and Mapped restriction site polymorphisms. *J. Clin. Microbiol.* 32(8):1949-1957.

Prokopcakova H; Peterkova J; Petino B. 1994. Occurrence of leptospira serovars in old foci of leptospirosis. *Epidemiol. Microbiol. Inmuno.* 43(2):87-89.

Pumarola S.T. 2002. Leptospirosis. *Medicine.* 8(69):3688-92.

Rivera G.H. 2004. Estudio de prevalencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de la estación experimental de trópico del centro de investigaciones ivita1. *Rev Inv Vet Perú.* 15(2):120-126.

Saliki J.T; Rodgers S.J; Eskew G. 1998. Serosurvey of selected viral and bacterial diseases in wild zwine from Oklahoma. *J. Wild. Dis.* 34(4):834-838.

Segura C.V. 2005. Estudio de Seroprevalencia y factores de riesgo contra anticuerpos de leptospira en ganado a partir de sueros de sueros obtenidos de bovinos en el estado de Yucatán, México, *Invest Clin.* 46(4):317-28.

Wageneer J.A; Segers R.P; Vander B.A. 1994. Rapid and specific detection of pathogenic *Leptospira* species by amplification of ribosomal sequences. *Mol. Biotech.* 2(1):1-14.

Webster J.P; Ellis W.A; McDonald A.W. 1995. Prevalence of *Leptospira* spp in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on ukforms. *Epidemiol. Infect.* 114(1):195-201.

WHO/FAO. 2001. Manual of Clinical Microbiology. 534-539.

World Health Organization, International Leptospirosis Society. 2003. Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control.