



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

“Consideraciones en el Diagnostico de *Leptospira spp.* en Caninos.
Aspectos Clínicos y de laboratorio”

Anteproyecto de Trabajo de Titulación

Presentado como requisito para optar al

TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO.

Profesor guía: M. Veterinario Mariana Faundez R.

Rodrigo Olmedo Orellana

Santiago-Chile

2017

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Víctor y Carolina que sin importar siempre me han apoyado de una u otra forma y pese a la distancia y a mis decisiones.

A mis hermanos, Víctor y Camila que fueron importantes ayudándome a no bajar los brazos pese a lo difícil de este camino.

A la Dra. Mariana Faundez, Que sin intención y sin ella darse cuenta, se transformó en el ejemplo que necesitaba para darme cuenta que las adversidades no pueden ganar.

Especialmente a mi pareja, Natalia amiga y compañera de buenos y malos momentos. Que durante estos años ha sido un importante soporte en el día a día y que sin ella no lo hubiese logrado.

Y a todas mis mascotas que me acompañaron Durante estos largos y difíciles años, sacándome más de una sonrisa: Venezia, Roma, Rocky, Nico.

Y a todos mis amigos de los cuales siempre me di el tiempo para aprender de ellos

RESUMEN

La leptospirosis es una de las zoonosis mayormente distribuidas alrededor del mundo, es considerada una enfermedad reemergente y en nuestro país es considerada una ENO (Enfermedad de Notificación Obligatoria). Constituye además, un problema de salud pública.

Afectando a más de 160 especies de animales tanto domésticos como silvestres. En nuestro país es una enfermedad que se denuncia y se investiga en las entidades de salud pública desde el año 2002, no hay mucha información al respecto, tanto de la incidencia en humanos como en la de animales domésticos.

Por el mismo desconocimiento de la prevalencia de la enfermedad sobre todo en animales domésticos, y en este caso en caninos, se pretende analizar la situación de una importante enfermedad que es poco tomada en cuenta al momento de las presentaciones clínicas, y que por la signología poco específica es difícil de diagnosticar. Además tomaremos en cuenta los diferentes exámenes que se pueden barajar al momento de diagnosticar, y en este caso cuál de ellos es más específico y sensible tomando en cuenta que pacientes vacunados pueden contraer la infección debido a los distintos serovares que pueden infectar una especie.

Al momento de la sospecha del diagnóstico debemos tener variados factores presente, como la exposición, hábitat, vacunaciones, y fechas de estas últimas.

Debemos además considerar al momento de los exámenes como diferenciar los anticuerpos vacúnales de los patógenos y como interpretar los exámenes que enviemos al laboratorio.

También debemos tener en cuenta las consideraciones del laboratorio al momento de realizar el test. Si en este se realiza enzimoimmunoensayo o MAT, y en este último caso, saber qué serovares se utilizaran para realizar el diagnóstico, y para esto debemos tener en cuenta cual es el serovar más importante en cada región o sector.

Con todos los datos aportados por los distintos autores, y con las consideraciones que hay que tener al momento de realizar el diagnóstico, y lo dificultoso que este puede llegar a ser podemos afirmar que la enfermedad es de una importancia sanitaria, zoonótica y subdiagnóstica.

INDICE

CONTENIDO	Pag.
CAPITULO 1	
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1. GENERALIDADES	3
2.1.1. Historia	3
2.1.2. Agente etiológico	3
2.1.3. Cepas de Interés Clínico	6
2.1.4. Epidemiología	6
2.1.5. Transmisión	7
2.1.6. Patogenia	8
2.1.7. Signos Clínicos	8
2.1.7.1. Exámenes Complementarios	11
2.1.7.2. Exámenes Inespecíficos	12
2.1.8. Diagnósticos Diferenciales	13
2.1.9. Diagnóstico Clínico	13
2.1.10. Diagnóstico de Laboratorio	13
2.1.10.1. Pruebas serológicas	14
2.1.10.2. Prueba de Aglutinación Microscópica	14
2.1.10.3. Prueba de MSAT	18
2.1.10.4. Fijación del Complemento	18
2.1.10.5. ELISA	18
2.1.10.6. Aglutinación Macroscópica	19
2.1.10.7. Aglutinación en Microcápsula	19
2.1.10.8. Hemoaglutinación Indirecta	20
2.1.11. Técnicas Directas	20
2.1.11.1. Observación en Microscopio de campo Oscuro	20
2.1.11.2. Tinción Argénica	20
2.1.11.3. Técnicas de Tinción Inmunohistoquímica	20
2.1.11.4. Técnicas de Detección de Ac. Nucleicos	21
2.1.11.5. Aislamiento	21

2.2.1. Vacunas disponibles	22
2.2.2. Vacunación	22
3. OBJETIVOS	23
3.1. Objetivos Generales	23
3.2. Objetivos Específicos	23
4. MATERIALES Y METODOS	23
4.1. MATERIALES	23
4.2. METODOS	23
5. DISCUSION DE LOS RESULTADO	24
6. CONCLUSIÓN	29
7. BIBLIOGRAFIA	31

ÍNICE DE TABLAS

Pag.

Tabla N°1 Clasificación de Leptospira	4
Tabla N°2 Reservorios típicos y serovares de Leptospira	6
Tabla N°3 Vacunas disponibles en Chile	20

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1 Fotografía Microscopio electrónico de <i>L. interrogans</i> .	5
Figura N°2 Reacciones de la Prueba de Aglutinación Microscópica	17
Figura N°3 Tasas de Incidencia y Mortalidad por Leptospirosis En Chile	22

CAPITULO 1

1. INTRODUCCION

La Leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa, y una zoonosis de distribución mundial. Es producida por bacterias del genero *Leptospira sp.* Que afecta a animales domésticos y silvestres y así mismo, al hombre. Siendo los roedores los principales hospederos de la enfermedad. (Gamarra R. 2009).

Numerosos animales silvestres son portadores y vectores de *leptospira sp*, siendo los roedores los principales reservorios para estos agentes infecciosos que han evolucionado o coevolucionado con el hospedero, adaptándose perfectamente a algunas especies de la fauna silvestre que no sufren la infección ni mueren por la enfermedad, por lo que pasan a ser reales e importantes hospederos de mantención de este patógeno virulento, prácticamente de por vida. (Zamora y Rieddeman, 1999).

La *leptospira sp.* puede permanecer durante largos periodos en los túbulos renales, siendo excretados por la orina sin estar el animal enfermo. El vehículo de transmisión es el contacto con orina, agua, tierra contaminada con la orina de animales infectados. También se transmite al ingerir líquidos o alimentos que se encuentran almacenados en lugares con ratas, o al penetrar por pequeñas heridas, conjuntiva o tras el baño en agua contaminada o por inhalación de líquidos contaminados en aerosol. Afecta principalmente a trabajadores de granjas, alcantarillas, plantaciones de arroz, veterinarios, trabajadores de frigoríficos, agricultores. La infección directa entre personas es poco frecuente. (López y Col, 2008)

En Chile la leptospirosis es una enfermedad de denuncia obligatoria, universal e inmediata desde el año 2002. (Circular N° B 51/10).

Según el ISP en su circular, la infección en distintas especies animales está muy difundida, y aun así la incidencia en humanos es poco conocida, presentándose de forma esporádica o por brotes, los cuales van relacionados a la exposición de aguas contaminadas.

Así mismo el ISP confirma alrededor de 30 casos al año, siendo, según esta entidad, más frecuente los serovar *icterohaemorrhagiae* y el serovar *canicola*.

Según Morales, (2012) en un estudio realizado en la Región de Los Lagos la prevalencia de perros sospechosos de *leptospira*, de mayor a menor porcentaje fue la sgte: *pomona*, *ballum*, *hardjo*, *canicola*, *autumnalis*, *pomona-hardjo*, *hardjo-ballum*, *icterohaemorrhagie*.

Por este motivo en el siguiente trabajo, el objetivo se enfocará en demostrar, que los serovares diagnosticados en humanos no coinciden con los de mayor prevalencia en caninos, y a que hay un sub diagnóstico de la enfermedad, tanto en humanos como en caninos y que este sub diagnóstico se debe principalmente a pequeños errores al momento tanto de realizar los exámenes como al momento de interpretar los exámenes. Ya que para el diagnóstico en caninos se usan principalmente los serovares que vienen en las principales vacunas utilizadas en nuestro país (Novibac ®, Canigen ®, Recombitek®), y que a la vez nos podrían dar resultados de falsos positivos dependiendo del tiempo en que se colocó la última vacuna.

CAPITULO 2

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Generalidades

2.1.1 Historia

Adolf Weil describió la leptospirosis como una enfermedad en el año 1886, su nombre aun es relacionado a la forma severa de leptospirosis, también conocida como “Enfermedad de Weil” atribuida a una infección transmitida por ratas, causada por los serovares *icterohaemorrhagiae* y *copenhageni*. Hoy en día se considera preferible referirse a todas las infecciones con *leptospira* como leptospirosis, independiente de los síntomas y de los signos clínicos. (Terpstra W. y Col. 2008).

2.1.2. Agente Etiológico

Las leptospiras son bacterias helicoidales, con extremos libres que terminan en forma de ganchos; son móviles, aerobios, cultivables, y de unos 6 a 20 micras de largo por 0,1 micras de diámetro. Se pueden visualizar por microscopía de campo oscuro; pueden atravesar filtros que retienen otras bacterias. Se reconocen dos especies: *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*. La primera es patógena para el hombre y para los animales, mientras *L. biflexa* es de vida libre, se encuentra en aguas superficiales y raramente está asociada a infecciones en los mamíferos. (Gamarra, 2009).

La especie que interesa como agente zoonótico es *L. interrogans*, que contiene más de 200 variantes serológicas, denominadas serovares y que constituyen el taxón básico. A su vez, los serovares están agrupados por conveniencia en 23 serogrupos, sobre la base de los componentes aglutinogénicos predominantes que comparten. (Acha. Y Szyfres. 2001).

Por medio del uso de patrones de restricción de genes ARN ribosomal se está tratando de caracterizar los serovares de *L. interrogans*, para sentar las bases de una tipificación molecular. (Acha. Y Szyfres. 2001). (Ver tabla 1).

Espece	Serogrupo	Serovar	Cepa de referencia
LEPTOSPIRAS PATOGENAS			
	<i>Australis</i>	Australis	Ballico
	<i>Australis</i>	Bratislava	Jez Bratislava
	<i>Bataviae</i>	Bataviae	Van Tienen
	<i>Canicola</i>	Canicola	Hond Utrecht IV
	<i>Hebdomadis</i>	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	Icterohaemorrhagiae	RGA
	<i>icterohaemorrhagiae</i>	Copenhageni	M20
	<i>icterohaemorrhagiae</i>	Lai	Lai
	<i>Pomona</i>	Pomona	Pomona
	<i>Pyrogenes</i>	Pyrogenes	Salinem
	<i>Sejroe</i>	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. alexanderi</i>	<i>Manhao</i>	Manhao 3	L60
<i>L. fainei</i>	<i>Hurstbridge</i>	Hurstbridge	BUT6
<i>L. inadai</i>	<i>Lyme</i>	Lyme	10
	<i>Autumnalis</i>	Bim	1051
	<i>Cynopteri</i>	Cynopteri	3522C
<i>L. kirschneri</i>	<i>Grippotyphosa</i>	Grippotyphosa	Moskva V
	<i>Pomona</i>	Mozdok	5621
<i>L. meyeri</i>	<i>Semaranga</i>	Semaranga	Velrad
			semaranga
	<i>Ballum</i>	Ballum	Mus 127
	<i>Ballum</i>	Castellonis	Castellon 3
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Javanica</i>	Javanica	Veldrat bat 46
	<i>Sejroe</i>	Sejroe	M 84
	<i>Tarassovi</i>	Tarassovi	Perepicillin
<i>L. weillii</i>	<i>Celledoni</i>	Celledoni	Celledoni
<i>L. noguchii</i>	<i>Autumnalis</i>	fortbragg	Fort bragg
	<i>Panama</i>	panama	Cz 214 k
<i>L. santarosai</i>	<i>betaviae</i>	brasiliensis	An 776
	<i>mini</i>	Georgia	LT117
Genomoespecie 1	<i>ranarum</i>	Pingchang	80 -412
Genomoespecie 4	<i>icterohaemorrhagiae</i>	Hualin	LT 11-33
Genomoespecie 5	<i>semaranga</i>	Saopaulo	Saopaulo
LEPTOSPIRAS SAPROFITAS			
<i>Genomoespecie 3</i>	<i>holland</i>	Holland	Waz hollan

<i>L. biflexa</i>	<i>semaranga</i>	Patoc	Patoc I
<i>L. wolbachii</i>	<i>codice</i>	Codice	CDC

Tabla N° 1.- *Clasificación de Leptospira Fuente: Céspedes Z. Manuel. 2005.*

Es posible encontrarlas, ocasionalmente, en cultivos provenientes de material clínico, el significado de su presencia es incierto. Su mayor importancia en microbiología médica es como contaminante de materiales supuestamente estériles o al menos libres de saprofitas. Pueden encontrarse en cultivos cuando no se pudo mantener la esterilidad durante la preparación del medio de cultivo, cuando se utilizaron ingredientes no estériles en la preparación del medio de cultivo o cuando las muestras clínicas no fueron obtenidas asépticamente. (Terpstra W. y Col. 2008).

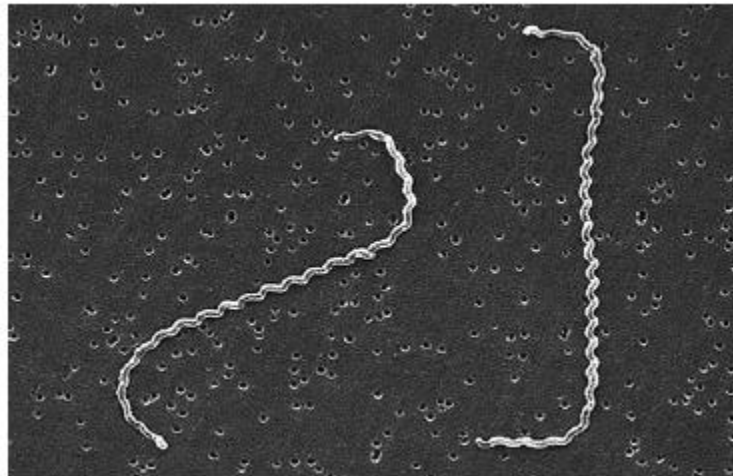


Figura 1. *Fotografía de microscopio electrónico de leptospira interrogans, mostrando su forma helicoidal y su estructura curva en forma de gancho. Fuente: Céspedes Z. Manuel. 2005.*

Numerosos factores ambientales intervienen en la reemergencia de esta enfermedad, como lo son los cambios climáticos, en particular las intensas lluvias, el crecimiento demográfico con urbanización descontrolada hacia zonas periféricas sin saneamiento, presencia de basurales, criaderos clandestinos de animales, construcción de viviendas precarias en terrenos inundables que llevan a trasladar la presencia de las leptospiras a zonas suburbanas e incluso urbanas. (Gamarra, 2009).

2.1.3 CEPAS DE INTERES CLINICO

L. interrogans en conjunto con sus serovariedades es patógena y tienen su reservorio (Ver tabla N°2), por ende, las encontraremos comúnmente en infecciones, tanto en humanos como en animales. Las principales son: *icterohaemorrhagiae*; *canicola*; *pomona*; *pyogenes*; *autumnales*; *ballum*; *grippotyphosa*; *hardjo*. (Adagio y Col. 2000)

RESERVORIO	SEROVARES
Cerdo	<i>Pomona, Tarassovi</i>
Vacuno	<i>Hardjo, Pomona, grippotyphosa</i>
Caballo	<i>Bratislava</i>
Perro	<i>Canicola</i>
Oveja	<i>Hardjo</i>
Rata	<i>Icterohaemorrhagiae, Copenhageni</i>
Ratón	<i>Ballum, Arborea, Bim</i>
Marsupiales	<i>Grippotyphosa</i>
Murciélago	<i>Cynopteri, wolffi</i>

Tabla N° 2. Reservorios típicos y serovares de *Leptospira*. Fuente: Céspedes Z. Manuel. 2005

2.1.4 EPIDEMIOLOGIA

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial y puede presentarse en zonas urbanas y rurales. A pesar de que se presume existe una importante subnotificación debido a la gran variedad de presentaciones clínicas, se la considera la zoonosis más frecuente. (Moral M. y Col. 2014)

La leptospirosis animal ha sido motivo de estudio, especialmente, en algunas regiones del sur de nuestro país y las publicaciones al respecto, comunican altas cifras de infección leptospirica: 37% en perros, 88,7 a 91,7% en bovinos, 24,9% en ovinos, 7,1 en equinos, 69,9% en porcinos y 47,2% en roedores silvestres. Se han establecido, asimismo, serotipos predominantes en relación con cada especie animal, pero puede existir cruce de serotipos de *leptospira sp* entre especies animales. (Zunino y Pizarro, 2007).

Según Gamarra, (2009) indica que es una de las zoonosis de mayor importancia, debido a que esta afecta a lo menos 160 especies de mamíferos.

La infección humana se relaciona, principalmente con riesgo laboral y recreacional, pudiendo infectarse el hombre por contacto directo con el reservorio animal o, más

frecuentemente, a través de agua o terrenos húmedos contaminados (agua estancada, estanques, arrozales, etc.). La prevalencia real no se conoce con precisión. Algunos estudios serológicos en relación con el riesgo laboral, han mostrado positividad de 72,2%, 19,7%, y 36% para personal de matadero, labores pecuarias y labradores de arrozales, respectivamente. En ellos los serovares más frecuentes fueron *L.pomona* y *L.hardjo* en personal de labores pecuarias, *icteroahemorragieae* en personal de arrozales, *hardjo*, *icteroahemorragieae* y *ballum* en trabajadores de mataderos. (Zunino y Pizarro, 2007).

El periodo de sobrevivencia de la *leptospira* patógena en el agua y en el suelo varía según la temperatura, el pH, la salinidad o el grado de contaminación: mueren con la desecación, toleran temperaturas bajas pero no superiores a 40° C; el pH óptimo para su multiplicación es 7,2 – 7,4 y son destruidas en medios ácidos o en alcalinidad superior a pH 8. En el agua salada no sobreviven, pero pueden permanecer semanas en agua dulce con condiciones físico químicas favorables. La radiación ultravioleta las inactiva. (Moral M. y Col. 2014)

La infección puede ocurrir en forma ocasional o en brotes, como se produjo en 74 atletas participantes en la triatlón de Wisconsin e Illinois (asociado a contaminación del lago Springfield) durante 1998 y en Nicaragua, en 1995, donde sobrevino un brote epidémico asociado a hemorragia pulmonar, en 400 casos, con 13 fallecidos, determinándose como un reservorio principalmente canino. En el año 2004 se publicó un brote asociado a exposición ocupacional en Brasil entre 1998 y 1999. (Zunino y Pizarro, 2007).

2.1.5 TRANSMISIÓN

La *leptospira* no se multiplica fuera del huésped y su supervivencia depende de las condiciones ambientales en la que se encuentre, por ejemplo, condiciones del suelo y agua. La *leptospira* es altamente susceptible a la desecación y a los cambios de pH. Los organismos de *leptospira* sobreviven hasta 180 días en suelos húmedos, por varios meses en superficies acuosas y sobreviven aún mejor en agua estancada. (Gamarra R. 2009).

Tanto Moral M. y Col, (2014) como Morales A. (2012). Señalan que las leptospiras ingresan a través de la piel erosionada o de las mucosas orofaríngea, nasal, ocular,

aunque también pueden penetrar por la piel íntegra si permanece inmersa en agua por un tiempo.

La transmisión puede presentarse de manera directa o indirecta. La transmisión directa generalmente origina casos aislados. Se produce por contacto con sangre, tejidos, órganos u orina de animales infectados y excepcionalmente por ingesta de agua o alimentos contaminados, en presencia de lesiones de la orofaringe o esofágicas. (Moral M. y Col. 2014).

La transmisión indirecta es la más frecuente y generalmente ocasiona brotes epidémicos. Se produce por contacto de las mucosas y/o piel con agua, lodo, terrenos o vegetación contaminada con orina de animales infectados. (Moral M. y Col. 2014).

El periodo de incubación varía de 2 y 20 días, siendo lo habitual de 7 días (Zunino y Pizarro, 2007).

Entre los animales se transmite de un animal portador a otro mediante el contacto directo o indirecto con orina u otros fluidos infecciosos que contienen leptospiras viables, aunque también se reconoce la infección por vía congénita o neonatal entre animales de granja y ratas y la transmisión sexual en el apareamiento de ratas, vacas, cerdos y perros. (Moral M. y Col. 2014).

2.1.6 PATOGENIA

La leptospirosis puede ser considerada como una enfermedad aguda y sistémica. La fisiopatología de la enfermedad estaría relacionada con varios mecanismos interrelacionados, como alteración de los endotelios de la microcirculación, formación de complejos inmunes, acción de toxinas, hipoxia tisular y fenómenos hemorrágicos. (Moral M. y Col. 2014).

Luego del ingreso de leptospiras al organismo, las mismas se diseminan a tejidos y órganos incluyendo el líquido cefalorraquídeo y el humor acuoso, constituyendo la fase leptospiremia. Entre el quinto y séptimo día, aparecen los anticuerpos en sangre y se eliminan leptospiras por orina, constituyendo por ello la fase inmune y de leptospiruria. (Moral M. y Col. 2014).

Después de la infección, se produce una vasculitis sistémica, con compromiso del endotelio predominantemente capilar, extravasación de sangre y anoxia local relativa

que puede generar hemorragia pulmonar, nefritis intersticial y tubular, daño vascular de capilares hepáticos, presencia de colestasis intrahepática, inflamación meníngea y trombocitopenia, así como manifestaciones hemorrágicas secundarias a vasculitis. (Moral M. y Col. 2014).

Las manifestaciones clínicas de la leptospirosis en el perro comprenden desde formas subclínicas hasta cuadros graves con afectación multisistémica. La presentación clínica está influenciada por la edad, estado inmunitario, la virulencia inherente de un serovar de *leptospira* en particular así como la ruta y el grado de exposición. En la enfermedad per aguda a subaguda, los perros pueden morir sin la presencia de signos clínicos (Rosas, 2011).

2.1.7 SIGNOS CLINICOS

La leptospirosis puede presentarse en pacientes de cualquier edad, raza o sexo si no hay inmunidad previa. La mayor parte de los perros tienen infección subclínica. Los perros con enfermedad per aguda por lo usual son presentados para evaluación de: anorexia, depresión, hiperestesia muscular generalizada, taquipnea y vomito. La fiebre, membranas mucosas pálidas y taquicardias son comunes. (Couto N, 2010).

La gravedad es muy variable en los perros. Algunas infecciones son asintomáticas o leves, mientras que otras son graves o mortales. Los primeros signos son a menudo inespecíficos y pueden incluir fiebre, depresión, anorexia, rigidez, mialgia, escalofríos y debilidad, mucosas con frecuencia hiperémicas. Estos síntomas pueden estar seguidos de signos de enfermedad renal, incluso anuria, hematuria, o aumento en la frecuencia para orinar, vómitos, deshidratación y úlceras bucales. También se pueden observar abortos, diarrea, heces grises, tos, disnea, conjuntivitis, pérdida de peso e ictericia. En algunos perros aparecen síndromes hemorrágicos: las membranas mucosas pueden tener hemorragias petequiales y equimóticas extendidas y, en las últimas etapas, puede haber epistaxis y gastroenteritis hemorrágica. Algunos perros tienen una muerte fulminante sin signos clínicos. La enfermedad renal crónica puede ser una secuela. (Zunino y Pizarro, 2007).

El reconocimiento clínico de la leptospirosis canina no es fácil de realizar, dado que las leptospiras pueden afectar diferentes sistemas orgánicos, resultando en una extensa

variedad de presentaciones clínicas, la mayor parte de las cuales son crónicas y subclínicas y sin sintomatología patognomónica. (Silva y Riedemann, 2007).

El hombre es susceptible a un gran número de serovares. La enfermedad en el humano se caracteriza por dos fases, la bacterémica, que dura de 7 a 10 días y la leptospirurica, que dura de algunas semanas a algunos meses. Las manifestaciones clínicas son variables y con diferentes grados de severidad. Además numerosos casos de infección transcurren en forma inaparente, subclínica. En general, se distinguen dos tipos clínicos: el icterico y el anicterico. El tipo icterico o hepatonefritico grave (enfermedad de Weil) es mucho menos frecuente que el anicterico. Algunos autores estiman que esta forma sucede en aproximadamente en 10% de los casos. Muchas veces se relaciona con la infección por *L. icterohaemorrhagiae*, pero este no es el único serovar que la puede producir. Por otra parte, numerosas infecciones por *icterohaemorrhagiae* transcurren en forma anicterica. En la forma clásica de la enfermedad de Weil, los síntomas se instalan bruscamente con fiebre, dolor de cabeza, mialgias, conjuntivitis, nauseas, vómitos, diarreas y constipación. Son comunes las petequias en la piel, las hemorragias en el aparato gastrointestinal y proteinuria. Cuando las leptospiras salen de circulación y la fiebre declina, se encuentra hepatomegalia e ictericia, insuficiencia renal con marcada oliguria o anuria, azotemia y desequilibrio electrolítico. Si el paciente evoluciona a hacia la curación, la diuresis se restablece y disminuye la ictericia. (Miranda, 2014)

En los casos anictericos la sintomatología es más leve. Durante la leptospiremia (primera semana de la enfermedad) se observa fiebre, mialgias, conjuntivitis, rigidez de la nuca, náuseas y a veces vómitos. Esta se asemeja a la influenza. La forma anicterica es de curso benigno y los pacientes se recuperan en cerca de un mes. La leptospiruria puede continuar por una semana o varios meses después de la desaparición de los síntomas clínicos. (Acha y Szyfres, 2001).

En caninos los serovares predominantes en todo el mundo son *canicola* e *icterohaemorrhagiae*. Además de estos serovares, en América Latina y el Caribe se han aislado *pyrogenes*, *paidjan* y *tarassovi* y en los Estados Unidos, *ballum*, *grippotyphosa*, *pomona* y *Bratislava* (Santos, 2006). La infección puede variar desde una forma asintomática a cuadros clínicos graves. La forma más grave es la hemorrágica, que se instala repentinamente con fiebre por 3 a 4 días, seguida por rigidez y mialgias en los miembros posteriores y hemorragias en la cavidad bucal con tendencia a la nefritis aguda. Tanto en la infección por *canicola* como por *icterohaemorrhagiae* puede haber

ictericia, sobre todo en la infección por este último serovar. La letalidad se estima en cerca de un 10%. (Acha y Szyfres, 2001).

En humanos, la enfermedad de Weil, genera compromisos multisistémicos: hepático, renal, hemorrágico, meníngeo, y eventualmente pulmonar, es poco frecuente y se ha asociado con mayor frecuencia a *L. icterohaemorrhagiae*. (Zunino Y Pizarro, 2007).

Compromiso hepático: se manifiesta clínicamente por hepatomegalia e ictericia, secundarias a la invasión de sinusoides, espacio de Disse y hepatocitos, experimentando estos últimos, una destrucción focal y limitada. (Zunino Y Pizarro, 2007).

Compromiso renal: Se manifiesta por insuficiencia renal con patrón de nefrosis hipoxémica, aunque asociada a elementos sugerentes de daño celular mediado por toxinas. Se observa vasculitis, hemorragias, edema intersticial, necrosis del epitelio tubular y ruptura de la membrana basal. El compromiso renal evoluciona como un evento reversible. (Zunino Y Pizarro, 2007).

Compromiso pulmonar: Ocurre con frecuencia variable, muy rara vez en la experiencia nacional. Generalmente, es leve a moderado y excepcionalmente, comanda la gravedad del cuadro. (Zunino Y Pizarro, 2007).

2.1.7.1 Exámenes complementarios

El diagnóstico de certeza se basa en el aislamiento o la seroconversión, con un aumento de cuatro o más veces en el título de anticuerpos. (Zunino y Pizarro, 2007).

El diagnóstico presuntivo se basa en:

- Aglutinación microscópica igual o mayor a 1/1.000, asociada a enfermedad clínica compatible.
- Aglutinación en placa positiva y cuadro clínico compatible. (Zunino y Pizarro, 2007).
- 2007).

2.1.7.2 Exámenes Inespecíficos

- Hemograma: puede observarse leucocitosis moderada. Se ha descrito trombocitopenia, sin otras evidencias de coagulopatía de consumo, en pacientes con daño renal.
- Velocidad de eritrosedimentación: se eleva en forma también moderada.
- Análisis de orina: puede evidenciar proteinuria, hematuria microscópica o cilindruria, en pacientes con compromiso renal.
- Creatininemia y nitrógeno ureico: se elevan en los casos con daño renal.
- Pruebas de función hepática: en enfermos con compromiso hepático se puede observar hiperbilirrubinemia y aumento de GPT y GOT.
- Citoquímico de LCR: en casos de meningitis muestra elementos inflamatorios: opalescencia, xantocromía, aumento de proteína y células con recuento, habitualmente, entre 100 y 800 mm³ con predominio linfocitario. En pacientes con compromiso hepático y meníngeo suele observarse el hecho. (Zunino y Pizarro, 2007).

Así mismo, según Caminoa (2007) el diagnóstico en caninos, se basa en la epidemiología, anamnesis y signos clínicos. Es imposible llegar a un diagnóstico certero sin el apoyo del laboratorio específico. Únicamente el aislamiento de leptospiras patógenas confirma en forma definitiva el diagnóstico.

La eritrosedimentación acelerada, la leucocitosis con neutrofilia, generalmente acompañan a la enfermedad. (Caminoa, 2007).

En caninos los signos clínicos pueden estar ausentes o sucederse en forma rápida. Los más frecuentes son: hipertermia, conjuntivas y mucosas hiperémicas, debilidad, depresión, adinamia, anorexia, vómitos, hemorragias, oliguria, anuria, lumbalgia, dolor renal a la palpación, mialgias, diarreas, ictericia, convulsiones, glositis, estomatitis, disnea, poliuria, hipotermia y muerte. (Caminoa, 2007).

Puede cursar con distintos tipos: subclínico, septicémico agudo, infección ambulatoria o crónica. (Caminoa, 2007).

Según Rosas, (2011) las manifestaciones clínicas de leptospirosis en el perro comprenden desde formas subclínicas hasta cuadros graves con afectación multisistémica.

2.1.8 Diagnósticos Diferenciales

En Humanos: Dengue, Malaria (paludismo), influenza, Hepatitis viral, Fiebre hemorrágica epidémica, hantavirus, septicemia con ictericia, Fiebre Q, tífus, Brucelosis, borreliosis, Toxoplasmosis, Fiebre Amarilla, Pielonefritis. (Sandow y Ramírez, 2005).

En Caninos: Hepatitis Canina, Trastorno gastrointestinales. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.9 Diagnóstico Clínico

Tiene un carácter presuntivo y se realiza fundamentalmente a través de los signos y síntomas que presentan los animales y el humano. Además las lesiones anatomopatológicas características de la enfermedad aportan una gran contribución. (Sandow y Ramirez, 2005).

2.1.10 Diagnostico de Laboratorio

El diagnóstico de los casos de Leptospirosis Humana y animal puede ser complicado o difícil, debido principalmente a las características intrínsecas de la enfermedad. (Sandow y Ramirez, 2005; Jimenez, 2007).

La interpretación de los resultados es fundamental a los fines de diseñar estrategias de control preventivo o curativo, los aspectos a considerar de títulos de anticuerpos, serovares, persistencia de los títulos y manifestaciones reproductivas, presentándose diferencias entre animales vacunados e infectados. (Herrera, 2007).

Según Caminoa, (2007) para el diagnóstico de laboratorio se debe intentar el aislamiento durante la primera semana de evolución de los síntomas.

El diagnóstico de la leptospirosis comprende el diagnóstico clínico, bacteriológico, serológico y molecular. Un número de métodos serológicos se han descrito para el diagnóstico de laboratorio para leptospirosis, incluida la prueba de aglutinación microscópica (MAT), hemaglutinación indirecta y ELISA, prueba de inmunofluorescencia indirecta. (Cuevas, 2012).

La demostración de la presencia de leptospiras en la sangre y la leche de los animales que muestran signos clínicos que sugieren leptospirosis aguda tiene un valor diagnóstico. Sin embargo, el aislamiento a partir de la sangre no es siempre satisfactorio, porque la bacteriemia es pasajera y no siempre se acompaña de síntomas clínicos. Con frecuencia, los perros se tratan con antibióticos antes de tomar las muestras para analizar la presencia de *Leptospira sp*, lo que después disminuye la probabilidad de identificar el agente en la sangre. (OIE, 2008).

También tiene valor diagnóstico la detección de una infección generalizada por *leptospira* en una serie de órganos tomados en la necropsia. Sin embargo, si el animal vive lo suficiente o se le ha tratado con antibióticos, puede resultar difícil la detección sistémica de microorganismos intactos; en estos casos la inmunohistoquímica puede ser particularmente útil en la identificación del antígeno residual de *leptospira*. La demostración de la presencia de *leptospira* en el tracto genital, los riñones o la orina solo debe interpretarse considerando en conjunto los síntomas clínicos y los resultados serológicos, ya que puede que estos hallazgos solo indiquen que el animal era portador. (OIE, 2008)

El fallo en la demostración de la presencia de *leptospiras* en la orina de un animal no es suficiente para descartar la posibilidad de que este sea portador renal crónico; solo indica que el animal no excretaba cantidades detectables de *leptospiras* en el momento del examen. (OIE, 2008).

2.1.10.1 Pruebas Serológicas

Las pruebas serológicas constituyen el procedimiento de laboratorio utilizado con más frecuencia para confirmar el diagnóstico clínico. Los anticuerpos de las leptospiras aparecen a los pocos días del comienzo de la enfermedad y persisten durante semanas o meses y, en algunos casos, años. Desafortunadamente, los títulos de anticuerpos puede que descendan hasta niveles indetectables mientras los animales permanecen infectados crónicamente. Para superar este problema, se necesitan métodos sensibles que detecten el microorganismo en la orina o en el tracto genital de portadores crónicos. (OIE, 2008).

Así mismo 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. (Sandow y Ramirez, 2005).

2.1.10.2 Prueba de aglutinación microscópica

Según Orellana, (2013) MAT, son diluciones seriadas del suero (o cepas) que se expone con igual volumen de una suspensión de *leptospiras* (o suero), a una temperatura adecuada y en un periodo de tiempo, realizando las lecturas microscópicamente, y estimando 50% de aglutinación como título a punto final en la mezcla de reacción.

El método es simple y consiste en mezclar el suero a estudiar con *leptospiras* cultivadas y para luego evaluar el grado de aglutinación usando microscopio de campo oscuro. El punto de corte se define como la dilución del suero que muestre el 50% de aglutinación, dejando 50% de células libres, cuando se le compara con un control que consiste de cultivo diluido 1:2 en tampón fosfato salino. (Pacheco, 2012)

La prueba de aglutinación macroscópica (MAT) es considerada la prueba de referencia. (García y Col, 2013). Hay reportes de una sensibilidad y especificidad de MAT de hasta 92% y 95%, respectivamente, con un valor predictivo positivo de 95% y negativo de 100%. (Jiménez, 2006). Para su realización se emplea suero problema a diferentes diluciones, cultivo de diversas cepas de *leptospira*, así como microscopio de campo oscuro para evaluar el grado de aglutinación. Esta prueba permite determinar el o los serogrupos responsables del proceso infeccioso y el título del suero para cada antígeno probado. (García y Col, 2013).

Los anticuerpos generalmente aparecen entre el 6^o y 12^o día de infección y aumentan rápidamente hasta la 4^a semana y los animales les pueden permanecer serológicamente positivos por meses o años. Los anticuerpos vacúnales presentan los títulos más elevados en las siguientes semanas después de la revacunación y posteriormente ocurre un descenso. (Luna et al, 2008).

La prueba MAT, en la que se emplean antígenos vivos es la prueba serológica más ampliamente utilizada. Esta constituye la prueba de referencia frente a la que se evalúan todas las pruebas serológicas y se utiliza en las comprobaciones para la

importación/exportación. Para obtener una sensibilidad optima deben emplearse antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos que existen en la región. (OIE, 2008).

Según Luna et al, (2008) las reacciones son serovariedad específica, por lo cual hay que utilizar una batería de antígenos que incluya, (así como lo explica la OIE), serovariedades mas importantes en la región.

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 diagnostico un cambio en el título de al menos cuatro veces título inicial (Sandow y Ramírez, 2005).

La MAT se utiliza principalmente para diagnosticar la enfermedad en individuos y en rebaños. Como prueba en un animal individual, es muy útil para diagnosticar una infección aguda: el incremento de cuatro veces en los títulos de anticuerpos en los sueros pareados de animales con infecciones agudas o convalecientes. Además un diagnóstico de leptospirosis puede basarse en el hallazgo de títulos muy elevados en un animal con un cuadro clínico bien definido (OIE, 2008).

Esta es una prueba que se utiliza para detectar anticuerpos en sueros de sospechosos o enfermos (humanos y animales), donde el suero del paciente sospechoso o enfermo reacciona con antígenos vivos de *leptospira*. (Sandow y Ramirez, 2005).

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 característica ser poco antigénico. (Sandow y Ramírez, 2005). Existen varios factores que pueden contribuir a un error en el diagnóstico del MAT como, contaminación y deterioro del antígeno (Jiménez, 2006).

Así como indica también la OIE (2008). La prueba tiene limitaciones en la diagnosis de la infección crónica en animales individuales, como en el diagnóstico de abortos en bovinos, o en la identificación de portadores renales o genitales.

Es común obtener resultados de serología negativas en los primeros 7-10 días después de la infección y es necesario repetir la prueba en 2-3 semanas para confirmar el diagnóstico. (Jiménez, 2006).

Según Bollin, (1996) indica que los perros desarrollan títulos de anticuerpos relativamente bajos (desde 1:100 a 1:400) en respuesta a la vacunación contra la infección por *Leptospira* y estos títulos persisten en esos niveles entre 1 a 3 meses después de la aplicación de la vacuna; sin embargo, se debe considerar que existen variaciones individuales.

En el caso de un estudio realizado en Valdivia (Morales A, 2012), los caninos declarados como vacunados contra los serovares *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae*, solo se consideraron infectados a los animales que presentaron títulos de 1:400 o superiores, si la vacuna fue aplicada dentro de un periodo de 1 a 3 meses del momento de la recolección de la muestra de sangre.

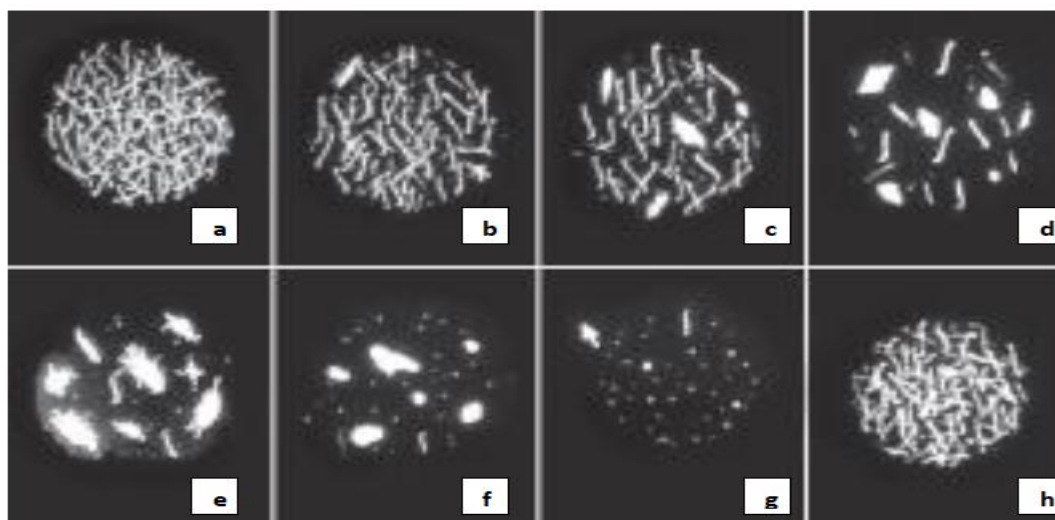


Figura 2. Reacciones de la prueba de aglutinación microscópica (MAT). a: lamina control; b: lamina con 25% de aglutinación (zonas como copos de algodón); c: lamina con 50% de aglutinación; d: lámina con 75% de aglutinación; e: lamina con 100 % de aglutinación; f: lámina con 100% de aglutinación y lisis; g: lamina con 100% de lisis; h: lámina negativa.

Fuente: Céspedes, M. 2005

2.1.10.3 Prueba de aglutinación Microscópica con antígeno Muerto (MSAT)

En esta prueba se utiliza *leptospira* 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 obtenidos, mayor reacción cruzada, los antígenos son estables a 4°C por lo menos un año, es especie específica y de la misma forma que MAT, no diferencia reacción entre anticuerpos de la infección reciente y tardía, pero tiene una buena reacción temprana de la enfermedad que MAT. (Sandow y Ramirez, 2005).

2.1.10.4 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 pesquiasaje de grandes cantidades de suero ya que puede semiautomatizarse. Es una herramienta epidemiológica para diagnóstico rápido, menos laboriosa que el MAT. Las desventajas es que el antígeno, no permite la diferenciación de serovares y no detecta niveles bajos de anticuerpos. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.10.5 Elisa

Las deficiencias que permite el MAT han obligado a los científicos a emplear esta técnica que ayude a la detección de anticuerpos tanto en tanque de leche como en el suero. (Sandow y Ramírez, 2005).

Según OIE, (2008). Los ELISA son bastante sensibles, pero no tienen la especificidad de serotipo de MAT.

El método ELISA es usado como una prueba adicional o como una alternativa a la prueba de MAT. Es el método más usado para detectar leptospirosis precoz (Cuevas, 2012). 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 por

leptospira sp. Además, se considera como más sensible que MAT. (Sandow y Ramírez, 2005).

En este ensayo se detecta IgM antileptospira tan solo una semana después de la infección, antes de que estén presentes los anticuerpos aglutinantes. Los anticuerpos IgG se detectan en los perros infectados, comenzando dos semanas después de la infección, y persisten durante largos periodos de tiempo. Por tanto, los perros con leptospirosis aguda tienen títulos de IgM altos y títulos de IgG relativamente bajos; los perros que están vacunados o han tenido una infección previa por leptospiras tienen títulos altos de IgG, pero bajos de IgM. (OIE, 2008).

Es fácil de estandarizar los antígenos, pueden almacenar durante meses, no tiene ningún riesgo para los técnicos y poca reacción cruzadas, tampoco diferencia los anticuerpos vacúnales de las infecciones. A pesar de que es muy eficaz, aún no está considerada como prueba oficial. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.10.6 Aglutinación Macroscópica

Se desarrolla para evitar los problemas derivados del mantenimiento de cepas vivas de *leptospira* en el laboratorio. Pocos autores la recomiendan debido a su falta de sensibilidad y porque no es capaz de determinar el serovar. (Sandow y Ramírez, 2005). Se utilizan antígenos muertos y es útil para la evaluación masiva (Laguna, 2000).

2.1.10.7 Aglutinación en Microcápsula

Es una técnica que se presentó como posible opción a las utilizadas habitualmente. En ella, se utiliza antígeno leptospiral transportado en microcápsulas de un polímero sintético. Es una prueba sensible y específica. En una evaluación internacional fue más sensible que MAT o ELISA-IgM en la fase aguda de la enfermedad, pero no puede detectar infecciones causadas por otros serovares. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.10.8 Hemoaglutinación Indirecta

Es una prueba serológica género-específica de alta sensibilidad y solamente detecta IgM. A pesar de que siempre se ha considerado de utilidad, no ha llegado a desplazar a la MAT y de hecho, se utiliza de manera paralela a él. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.11 Técnicas Directas

La demostración de la presencia de *leptospira*, o sus componentes en la sangre, tejidos y/o leche de animales y humanos con signos clínicos es de gran valor diagnóstico. (Sandow y Ramírez, 2005)

2.1.11.1 Observación en microscopio de campo oscuro

Este método se realiza para la observación de *leptospira* en los fluidos orgánicos. Es difícil debido al gran número de artefactos que, por su parecido con las *leptospira*, pueden crear confusión. Además precisa que haya un gran número de microorganismos en las muestras. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.11.2 Tinción Argénica

Dentro de este grupo podemos considerar diferentes técnicas y sus modificaciones que se utilizan para la demostración de *Leptospira* en los órganos de animales presumiblemente muertos por *leptospira*. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.11.3 Técnicas de tinción inmunohistoquímica

Tienen baja sensibilidad, por lo que son poco adecuados para el diagnóstico de portadores crónicos, lo que depende del número de microorganismos en la muestra (Sandow y Ramírez, 2005).

- Inmunofluorescencia

Esta técnica consiste en examinar muestras bajo luz ultravioleta. Se utiliza cuando hay presencia de *Leptospira* en sedimentos de orina. Su mayor desventaja es que requiere la producción de antisueros policlonales de buena calidad y necesita la utilización de microscopio de fluorescencia (Sandow y Ramírez, 2005).

- Inmunoperoxidasa

Es más rápida y asequible que la anterior ya que no precisa de un microscopio de fluorescencia. (Sandow y Ramírez, 2005).

2.1.11.4 Técnicas de 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 orina. (Sandow y Ramírez, 2005). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha sido utilizado para la detección de leptospiras y otros microorganismos presentes en la orina (Veloso, et al, 2000).

2.1.11.5 Aislamiento

Para muchos autores, es la técnica más sensible para el diagnóstico de *Leptospira*, además es la que confirma la presencia del microorganismo, tanto en casos agudos como crónicos, a pesar de que requiere mucho tiempo y de laboratorios especializados. (Sandow y Ramírez, 2005).

En la mayoría de los laboratorios de diagnóstico no se realiza esta prueba porque las leptospiras tienen una naturaleza frágil, por costos y por la complejidad en los medios de aislamiento, además, por el prolongado periodo de incubación. (Rahim, et al, 2005).

2.2.1 Vacunas disponibles

En nuestro país para prevenir la leptospirosis, existen vacunas de uso veterinario para la prevención de la enfermedad. Tanto en animales de compañía como en animales de producción. Las que son reguladas por el SAG y que cada vacuna (Ver tabla N°3) contienen distintas cepas.

Vacuna	Serovar	Cepas
Recombitek® C6/CV	L. canicola	1503
	L. icterohaemorrhagiae	1518
Nobivac®DAPPvL2 + CV	L. canicola	LC-NY
	L. icterohaemorrhagiae	LI-11403J
Canigen®	L. canicola	ATCC23581AD
	L. icterohaemorrhagiae	Mailoux

(Fuente: www.sag.gob.cl. 2016)

2.2.2 Vacunación

La inmunidad conferida por la mayoría de las vacunas disponibles sólo brinda protección contra la enfermedad clínica pero no previene el desarrollo del estado de portador renal. De hecho, se ha demostrado infección y leptospiuria en perros sanos vacunados y el desarrollo de enfermedad en humanos a partir de estos animales.

Por otro lado, una inmunización inicial adecuada utilizando muchos de los productos disponibles requiere 3 o 4 inyecciones con un intervalo de 2-3 semanas para conferir inmunidad por solo 6 a 8 meses. (Caminoa, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GENERALES

Conocer en profundidad a la bacteria *leptospira sp.* Definiendo sus serovariedades y el cuadro clínico asociado a estas.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 3.2.1 Definir los métodos de diagnóstico descritos en la literatura.
- 3.2.2 Conocer la patogenicidad de cada serovariedad y subtipo
- 3.2.3 Investigar que variedades se encuentran presentes en las vacunas disponibles en el mercado chileno, y si éstas corresponden con los reportes diagnosticados generadores de la enfermedad en Medicina humana a nivel nacional.

4 MATERIALES Y METODOS

4.1 MATERIALES

- 4.1.1 Libros, textos, Revistas científicas, Manuales, Artículos científicos, Circulares.
- 4.1.2 Conectividad a Internet, Páginas web, telefonía.

4.2 METODOS

- 4.2.1 Basándose en la recopilación de datos existentes en forma documental, como lo es el caso de libros, revistas científicas, manuales del ISP, trabajos de investigación y tesis.
- 4.2.2 El estudio para esta investigación se realizara de forma teórica mediante estos documentos.
- 4.2.3 Esta investigación mantendrá un diseño de tesis transcritiva, apoyándose en los datos y la información obtenidos de textos y documentos de referencia.

5 DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Según los objetivos del presente estudio, se pretende demostrar que tanto en nuestro país como en el resto del mundo, existen casos de leptospirosis subdiagnosticados, tanto en humano como en caninos. Los medios profilácticos contra la enfermedad no tienen mucho valor significativo, ya que en Chile al menos las vacunas existentes son solo contra *Leptospira canicola* e *icterohaemorrhagiae*, también teniendo en cuenta que son pocos los casos de la enfermedad que se diagnostican al año en Chile. (Figura N° 3).

Recientemente esta enfermedad ha sido reconocida como un problema importante de salud pública, dado su incremento tanto en morbilidad como en mortalidad. Los brotes o epidemias pueden estar asociados con cambios en el comportamiento humano, contaminación del agua, cambios de la densidad de los reservorios animales, o como consecuencia de desastres naturales como son las inundaciones. (Martínez y col. 2012).

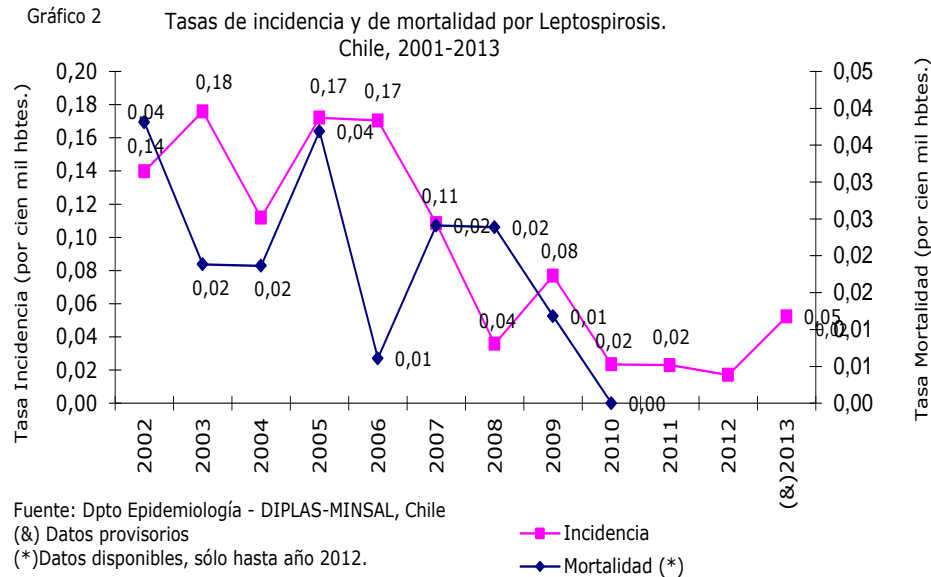
La prevalencia en población general varía dependiendo del área geográfica que se estudie. (Terrazas y Col, 2012).

Estimaciones de la OMS, (2008) y la Sociedad Internacional de Leptospirosis, señalan alrededor de 350.000 a 500.000 casos anuales en el mundo, siendo considerada principalmente una enfermedad de tipo ocupacional y recreacional debido a los últimos brotes. (Terrazas y Col, 2012).

En Chile se notifican anualmente alrededor de 400 casos. Otros estudios, señalan que la Leptospirosis animal varía desde 88,7% a 91,7% en bovinos, 69,9% en porcinos, 37% en perros, 24,9% en ovinos a 7,1% en equinos y 47,2% en roedores silvestres. La seroprevalencia real en humanos es desconocida, sin embargo, algunos estudios serológicos en trabajadores de riesgo presentaron positivities mayores en personal de matadero, pecuario y de arrozales. (Martínez y col. 2012).

La leptospirosis se incorporó como Enfermedad de Notificación Obligatoria (ENO) en Chile a partir del año 2002. (Terrazas y Col, 2012).

Figura 3.- Tasa de incidencia y Mortalidad por Leptospirosis Chile, 2001-2013. Estos estudios fueron realizados sobre los distintos serogrupos detectados en humanos. FUENTE: MINSAL, 2012



Como nos describe Zunino y Pizarro (2007), Por el hecho de ser una patología, con múltiples manifestaciones clínicas y combinaciones de ellas, que sigue estando presente entre nosotros, en la cual se piensa poco y para cuyo agente hay importantes reservorios en nuestro país, sigue siendo una enfermedad reconocidamente subdiagnóstica. A nivel de otros países, diversos estudios se han realizado, determinando frecuencias de la enfermedad en ciertas ciudades, tanto rurales como urbanas.

En México, en las ciudades de Veracruz y Boca del Rio la frecuencia fue de un 8.7%. y de acuerdo a los serovares, se observó una frecuencia de 9.8% en el caso de *canicola*, seguida de *autatumnalis*, *grippotyphosa*, *ballum* e *icterohaemorrhagiae*. (Gándara, 2011).

Este resultado coincide con un estudio realizado en la ciudad de Ontario, Canadá, de 1998 a 2006, sobre la reaparición de casos de leptospirosis canina sin importar el sexo de los animales (Alton et al. 2009). De acuerdo a los serovares, se observó una frecuencia de 9.8% en el caso de *canicola*, que fue la más alta., seguida de *autumnalis*, *grippotyphosa*, *ballum* e *icterohaemorrhagiae*.

Así como la frecuencia varía dependiendo de la zona, también varían los serovares. Un ejemplo de ello es lo observado en Michigan, Estados Unidos, donde un estudio similar arrojó que *L. grippotyphosa* tuvo la mayor prevalencia, seguida de *L. Bratislava*. (Stokes et al, 2007).

Sin embargo, en Japón se reportó que la serovariedad más frecuente fue *icterohaemorrhagiae*. (Iwamoto et al, 2009).

Otro estudio realizado en la Provincia de La Pampa, Argentina, se ha hallado un predominio de reaccionantes positivos a *L. canicola*, con respecto a los demás serovares, tanto en sueros humanos como caninos. (Adagio y Col, 2000)

En nuestro país, según datos del sistema de vigilancia animal del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), entre los años 2003 y 2009 se notificaron 322 casos de leptospirosis, 99,4% en bovinos y 0,6% en equinos. (Martínez y Col, 2012).

Principalmente, han sido las regiones del sur del país, (Bio – Bio, Temuco, Valdivia, principalmente) donde se han realizado mayores estudios sobre la frecuencia de la enfermedad en caninos, de donde podemos inferir según lo indica Zunino y Pizarro (2007) las altas cifras en estas zonas del país diagnosticadas con la infección en caninos de un 37%, así mismo el estudio ha establecido serotipos predominantes en relación con cada especie animal, pudiendo existir cruce de serotipos de *Leptospira* entre especies animales. Mientras en otro estudio más específico realizado en la Región de Los Ríos y Los Lagos la presentación en caninos positivos a MAT utilizando 6 serovares del género *Leptospira* (considerando niveles de títulos igual o mayor a 1:100) fue la siguiente: De mayor a menor prevalencia, *pomona* 27,3% *ballum* 22,7%; *hardjo* 13,6%; *canicola* 13,6%; *autumnalis* 9,1%; *icterohaemorrhagiae* 4,5%; *hardjo-ballum* 4,5%; *pomona-ballum* 4,5%.

Mientras en Temuco de una población estudiada de perros vagos con un total de 400 perros, 85 de ellos resultaron positivos, calculando una prevalencia de 21.3%

Otro estudio realizado en la ciudad de Chillan, de 60 caninos escogidos al azar que visitaron una Clínica Veterinaria de la Ciudad, un total de 23 individuos, que representaron el 38.33% de la muestra total resultaron positivos, con títulos iguales o superiores a 1:100, para una o más serovariedades de *Leptospira*. Se encontró también, un mayor porcentaje de individuos positivos a *L. canicola*, *L. pyrogenes* y ninguno a *L. icterohaemorrhagiae*. (García, 1987).

Los valores obtenidos para los perros vacunados con respecto a la infección por el serovar *ballum* sugerirían una mayor probabilidad de contraer la infección por este serovar en los perros vacunados relativo a los no vacunados (Silva y Riedemann, 2007).

Según Martínez y Col, (2012) en el año 2004 se registró el menor número de afectados (N: 9) y en 2007 se notificó el mayor número de casos (N: 134). Donde se registraron 22 defunciones, todas en bovinos.

Existen diversos estudios en humanos sobre la infección en nuestro país, uno de ellos realizado en la Provincia de Ñuble por Muñoz y Col, (1997) con muestras de 54 Médicos Veterinarios expuestos potencialmente al riesgo de la infección trabajando tanto en mataderos, con bovino, equinos y que trabajaban con caninos y felinos, arrojó como resultado un 7.4% de reacciones positivas. La positividad se presentó mayoritariamente a los serovares *icterohaemorrhagiae* con 5,6 % y *pomona* 1,8% con títulos mayores a 1/50. Otro estudio realizado por Perret y Col. (2005) donde detectaron 3.3% de casos positivos a leptopirosis en una población de riesgo en la Región Metropolitana, en sectores semi rurales. Así mismo, en la Provincia de Linares al existir un brote de personas que coincidieron en un baño recreacional en una piscina rural, que se había rellenado con agua de regadío, sin filtros ni cloración. Siendo expuestos 182 niños donde 90 fueron positivos a leptospirosis. (Arias y Col, 2003).

Según otro trabajo realizado por Terrazas y Col, (2012), la prevalencia nacional de leptospirosis en una población general de acuerdo a las técnicas utilizadas (MAT) es baja. El serovar más frecuente fue el serovar *icterohaemorrhagiae*, seguido de los serovares *bratislava* y *pomona*.

En nuestro país, es importante tanto el sub-diagnóstico de la enfermedad, como la subnotificación, ya que desde el año 2002 la leptospirosis es una Enfermedad de Notificación Obligatoria (ENO), de acuerdo a lo descrito en Circular N° B51/10 (febrero de 2009). (MINSAL).

En un estudio realizado sobre los registros de Sistema de Vigilancia Epidemiológica en Chile entre 2003-2009, los egresos hospitalarios son mayores que los notificados y los confirmados en ISP. En comparación del total de notificaciones por el ISP (151) y egresos hospitalarios (153) hay una diferencia de dos casos, no obstante, existe una fuerte discrepancia en la distribución de casos por año, no existiendo igualdad en

ningún año del registro. La diferencia entre los casos de ENO y egresos hospitalarios es de 16 casos, a pesar de existir dos años menos de registro en los egresos hospitalarios. Así mismo al comparar el número de defunciones durante la hospitalización y el número de defunciones específicas obtenidas del registro de defunciones, se observa que no existe correspondencia en los años 2003 y 2006, donde en cada año el registro hospitalario presenta una muerte más que en el registro nacional de mortalidad. Si bien, el sistema de vigilancia animal realizado por el SAG no es de carácter universal, se tiene una aproximación de la distribución temporal y geográfica. De acuerdo a ello, se evidencia concordancia entre los registros de casos humanos y la presentación de casos (Martínez y col. 2012).

6 CONCLUSIÓN

Los resultados de estos estudios demuestran que las prevalencias son variables, debido a las distintas realidades y factores asociados a la persistencia de esta zoonosis en el ambiente, lo cual dificulta la extrapolación entre los distintos lugares geográficos que se han estudiado, obligando a realizar estudios individuales en cada continente, país región o zona.

Luego de la información desde diferentes fuentes, se puede apreciar una sub-notificación de la enfermedad, dificultando la determinación de la tasa de incidencia de casos.

En lo que a vacunas se refiere, hay tres presentaciones en el mercado que ofrecen protección contra distintos serovares de *Leptospira*. Tres conocidas como séxtuple (Recombitek® C6; Nobivac® DAPPvL2; Canigen®) que contienen bacterinas contra los serovares de *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*. Y dos óctuples (Nobivac® DAPPvL₂+ Cv; Recombitek® C6/CV) que protege contra los mismos serovares de *leptospira*. Otra presentación de vacuna no disponible en nuestro país es Duramune Max® presentada por Bayer Animal Health, la que además de presentar los serovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae*, contiene *Leptospira grippityphosa* y *Leptospira pomona*. En nuestro país, ninguna de estas presentaciones es obligatoria. Sin embargo, se recomienda su uso dado el riesgo que tienen los cachorros de sobrellevar estas enfermedades, cuando pierden la inmunidad que les traspasa la madre.

Si bien las vacunas previenen la enfermedad, no previenen completamente la infección ni la excreción de la bacteria. La inmunidad adquirida por la vacuna es específica para estos serovares.

Como conclusión, se puede inferir que la leptospirosis es una zoonosis a considerar y que requiere de un mayor manejo del medio ambiente, control de reservorios y manejo sanitario de las mascotas, requiriéndose una vigilancia epidemiológica activa de la enfermedad para la toma de decisiones oportunas y efectivas por parte de las autoridades del país.

En cuanto a las pruebas de laboratorio, sabemos que MAT es la prueba de referencia para detectar anticuerpos contra algunos serovares específicos, esto debido a su alta sensibilidad y especificidad. Requiriendo el uso de sueros pareados que puedan confirmar el aumento de los títulos. Teniendo la inconveniencia de que es necesario

laboratorios especializados, los que hay pocos en el país, debido a lo susceptible a contaminación que se encuentra al mantener cepas vivas.

Sin embargo los test de ELISA pueden ayudar a un diagnóstico más rápido y oportuno.

A su vez, poder diagnosticar la enfermedad de forma certera es a través de MAT y por análisis de PCR.

Además, para poder diagnosticar de manera certera a través de un MAT, según los resultados, debemos tomar en cuenta el momento o hace cuanto fue inoculada la última vacuna. En varios estudios principalmente extranjeros, se ha demostrado que la inmunidad proporcionada por las vacunas comerciales para *Leptospira sp.* Que aun encontramos en nuestro país, es de 6 meses con un máximo de 8 meses.

Debemos tener presente donde y en que laboratorios podemos realizar este tipo de exámenes, principalmente MAT. Para humanos este está disponible para realizar en el ISP, donde la muestra se puede tomar en cualquier centro de salud. Mientras que para realizar este a mascotas, solo se puede realizar en Santiago, y Valdivia. Mientras que en la mayoría de los laboratorios disponibles para Clínicas Veterinarias se realiza principalmente el test de Elisa (IgG – IgM) y donde el test de PCR de leptospirosis está menos distribuido en el país por la tecnología a ocupar.

Por ultimo seria de extrema importancia hacer un cambio en los periodos en que se colocan las vacunas, sobre todo en ciertas regiones del país con mayor prevalencia de la enfermedad, como lo son las regiones del sur. Siendo esto un periodo idóneo de cada 6 meses. De esta misma forma y en estas mismas regiones del país vacunar principalmente con Novibac® Lepto. Con lo que se aseguraría mayor inmunidad contra otros serovares que causan infección y que son transmitidos al humano.

La leptospirosis es una enfermedad sub-diagnosticada, debido tanto a lo complejo de la sintomatología y del diagnóstico a través de exámenes complementarios, ya que tenemos que tener muchos factores presentes al momento de la interpretación de estos, tanto saber su estado sanitario, la anamnesis, donde vive y el contacto tanto con fauna silvestre como con aguas estancadas.

7 BIBLIOGRAFIA

Abdulkader Regina & Silva Marcos. (2008). The Kidney in leptospirosis. Nephrology review. Vol. 2. Nº 23. P 2111-2120.

Acha P, Szyfres B. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. Third edition ed. Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud; 2001: p. 175-85.

Adagio, L.; Amico, G.; Wheeler, J.; Lattanzi, D.; Hagge, M.; Hierro, J.; Somoza, J.; Toribio, M.; Álvarez, E. 2000. Estudio preliminar serológico de Leptospirosis Canina y Humana en la ciudad de General Pico y zona de influencia. Serie: Ciencia Veterinaria-La Pampa, 2:5-11.

Alton, G.D., O. Berke, R. Reid-Smith, D. Olkic, J.E. Prescott. 2009. Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors Ontario 1998-2006. Can J Vet Res. 73(3): 167-75

Arias H, Núñez M, Valenzuela I, Olivares A. 2003. Brote epidémico de leptospirosis en niños de Linares. Rev Chilena Pediatría 2003; 74 (4): 405-10.

Bollin C. 1996. Update on Leptospirosis. Veterinary Information Network 1-8

Caminoa Ricardo. (2007). Leptospirosis Canina, informe técnico. Recuperado 04 de Noviembre del 2016, en http://www.msd-salud-animal.com.ar/binaries/Informe_leptospirosis_tcm55-33327.pdf.

Céspedes, Manuel. 2005. Leptospirosis: enfermedad zoonótica y reemergente: Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, vol. 22 Nº. 24.

Circular Nº B 51/10, (2009) Circular de Vigilancia y control de Leptospirosis (CIE 10: A27). Recuperado el 14 de Octubre de 2016, en <http://www.ispch.cl/sites/default/files/Circular%20B51-10-Leptospirosis.pdf>.

Couto. N., R.W.; C.G. 2010. Medicina Interna de Pequeños Animales.4ª ed. Elsevier, España, SL. Barcelona.

Gamarra R. 2009. Revisión bibliográfica leptospirosis SIRIVS. Recuperado el 10 de Octubre de 2016, en http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Gamarra_Leptospira.pdf.

Gándara P. 2011, Frecuencia de leptospirosis canina en dos albergues de Veracruz y Boca del Rio, Universidad Veracruzana Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tesis para optar al Título de Médico Veterinario.

García M. 1987, Determinación de la frecuencia de leptospirosis en perros urbanos de la ciudad de Chillán, Ñuble, por el Test de Microaglutinación. Memoria de título de Médico Veterinario, Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales.

Gobierno de Chile. Ministerio de Salud. Reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de declaración obligatoria N°158. Santiago, 22 de Octubre de 2004. Recuperado el 04 de Diciembre del 2016, de http://web.minsal.cl/wp-content/uploads/2016/09/5_VIGILANCIA-EPIDEMIOLOGIA-EN-APS.pdf

Iwamoto, E., Y. Wado., Y. Fujisaki, S. Umeki., M.Y. Jones, T. Mizuno, K. Itamoto, H. Iwata, M.Okuda. 2009. Nationwide survey of Leptospira antibodies in dogs in Japón: result from microscopic agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay. J Vet Med Sci. 71:1191-1199

Laguna Torres, Víctor Alberto. 2000. Leptospirosis. Oficina general de epidemiología – Instituto Nacional de Salud en Lima – Perú. Serie documentos monográficos N° 2: 1 - 56.

Luna A, Moles C, Gavaldón R, Nava V, Salazar G. La leptospirosis canina y su problemática en México. Rev. Salud Anim 2008; 30 (1): 1-11.

MINSAL Vigilancia Leptospirosis, circular 20/10/2016 Depto. de Epidemiología

Moral, J. L. 2014. Enfermedades Infecciosas/ leptospirosis. Argentina: CASAS. (Recuperado el 28/10/2016) <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000489cnt-guia-medica-leptospirosis.pdf>

Morales, A.M. 2012. Prevalencia de Leptospirosis en perros y Gatos de Predios lecheros de Sur de Chile. Tesis para optar al título de Médico Veterinario. UAC

OIE, 2008. Leptospirosis. 2. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Recuperado el 14 de Noviembre de 2016, de web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf.../2.01.09.%20Leptospirosis.pdf

Perret C, Abarca K, Dabanch J, Solari V, García P, Carrasco S, et al. Prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la Región Metropolitana. *Rev Med Chile* 2005; 133: 426-31.

Rahim, Haji Hajikolaei Mohammad, Gorbanpour Masood, Haidari, Mohammad, Abdollapour, Golamreza. 2005. Comparision of leptospiral infection in the horse and donkey. *Bull vet inst pulawy*. 49:175-178

Rosas P. 2011. Frecuencia de leptospirosis canina en dos albergues de Veracruz y Boca del Río, Veracruz, México. Memoria de título de Médico Veterinario, Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Veracruz, México.

Sadow K, Ramírez W. 2005 La Leptospirosis humana y bovina y su relación con los factores edafoclimáticos en una provincial de la región oriental de Cuba. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* 2005; 6(9): 1-10.

Stokes, J.E., J.B. Kaneene, W.D. Schall, J.M. Kruger, R. Miller, L. Kaiser, C.A. Bolin. 2007. Prevalence of serum antibodies against six leptospira serovars in healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 230(11): 1657-64.

Terrazas, Solana, Olea, Andrea, Riedemann, Stella, & Torres, Marisa. (2012). Prevalencia de leptospirosis en adultos Chile, 2003. *Revista chilena de infectología*, 29(6), 641-647.

Tuемmers, Christian, Lüders, Carlos, Rojas, Claudio, Serr. Michel, Espinoza, Rodrigo, & Castillo, Carolina. (2013). Prevalencia de leptospirosis en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, 2011. *Revista chilena de infectología*, 30(3), 252-257.

Veloso, IF, Lopes, MTD, Salas CE, Moreira EC. 2000. A Comparison of Three DNA Extractive Procedures with Leptospira for Polymerase Chain Reaction Analysis. *Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 95 (3): 339-343.

Zunino M, Enna, & Pizarro P, Rolando. (2007). Leptospirosis: Puesta al día. *Revista chilena de infectología*, 24(3), 220-226.

Zamora, J., & Riedemann, S. (1999). Animales silvestres como reservorios de leptospirosis en Chile: Una revisión de los estudios efectuados en el país. *Archivos de medicina veterinaria*, 31(2), 151-156.