



Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas

Carrera profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“DETERMINACIÓN SEROLÓGICA DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS  
CONTRA *Leptospira interrogans* EN CUYES (*Cavia porcellus*) CON  
HISTORIAL DE ABORTOS EN CRIANZA INTENSIVA DEL  
DISTRITO DE CONCEPCIÓN, JUNÍN”

Tesis para optar el título profesional de  
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

Presentado por:

Bach. STEFANY AIDA LUNA CASTILLA

LIMA – PERÚ

2019

## Acta de Sustentación de Tesis

Siendo las 19:00 horas del 12 de abril de 2019, en el Auditorio (Campus Villa I), bajo la presencia del jurado examinador nombrado por **Resolución Directoral Académica de Carrera N° 077-DACMVZ-DAFCVB-U. CIENTÍFICA-2018**, presidido por el Dr. Alexei Santiani Acosta, Ing. Zoot. Lilia Chauca Zaldívar y el Mg. Siever Miguel Morales Cauti como Director – Observador. Se procedió en acto público a la sustentación de la tesis titulada: **“DETERMINACIÓN SEROLÓGICA DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA *Leptospira interrogans* EN CUYES (*Cavia porcellus*) CON HISTORIAL DE ABORTOS EN CRIANZA INTENSIVA DEL DISTRITO DE CONCEPCIÓN, JUNÍN”**.

El presidente concedió el uso de la palabra a la Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia **Luna Castilla Stefany Aida**, para la sustentación de su tesis. Luego de la exposición, la bachiller absolvió las preguntas del Jurado y del público asistente.

El Jurado acordó otorgarle la nota de:

..... *Diecisiete* ..... (17)

El presidente del Jurado dio por culminado el acto de sustentación y levantó la sesión a las 20:00hrs.



.....  
**Dr. Alexei Santiani Acosta**  
*Presidente*



.....  
**Ing. Zoot. Lilia Chauca Zaldívar**  
*Miembro*



.....  
**Mg. Siever Miguel Morales Cauti**  
*Director - Observador*

005-2019

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
I. INTRODUCCIÓN .....	3
II. MARCO TEÓRICO .....	5
2.1 CRIANZA DE CUYES .....	5
2.1.1) Importancia.....	5
2.1.2) Bioseguridad.....	6
2.1.3) Enfermedades que afectan el aparato reproductor en cuyes .....	9
2.2) LEPTOSPIRA .....	11
2.2.1) Etiología .....	12
2.2.2) Epidemiología .....	14
2.2.3) Patogénesis .....	19
2.2.4) Signos clínicos.....	23
2.2.5) Diagnóstico.....	24
2.2.6) Tratamiento .....	28
2.2.7) Control y prevención.....	29
III) MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.1) LOCALIZACIÓN .....	32
3.2) POBLACIÓN Y MUESTRA .....	32
3.3) DISEÑO EXPERIMENTAL.....	33
3.4) PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO .....	33
3.5) MATERIALES Y EQUIPOS .....	34
IV. RESULTADOS .....	36
V. DISCUSIÓN.....	37
VI) CONCLUSIÓN .....	40

VII) RECOMENDACIONES .....	41
VIII) BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	42
IX) ANEXOS.....	47

## RESUMEN

El objetivo fue determinar los niveles de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en cuyes hembras con historial de abortos en crianza intensiva de Junín. Se obtuvieron 138 muestras de sangre de cuyes mejorados de una granja intensiva con historial de abortos y se analizaron por medio de la técnica de microaglutinación (MAT), evaluándose la presencia de los anticuerpos contra los serovares Canicola, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae y Bratislava de *Leptospira interrogans*. Se identificó un 38.41% (53/138) de animales seropositivos a anticuerpos contra *L. interrogans*, se detectaron títulos de anticuerpo de 1/100 y 1/200; con una frecuencia de  $16.67\% \pm 6.22\%$  (23/138) contra *L. icterohaemorrhagiae*,  $10.87\% \pm 5.20\%$  (15/138) contra *L. canicola*,  $10.14\% \pm 5.03\%$  (14/138) contra *L. pomona*, y  $0.72\% \pm 1.39\%$  (1/138) contra *L. hardjo*.

**PALABRAS CLAVES:** Leptospira, Cuyes, Microaglutinación, MAT.

## ABSTRACT

The objective was to determine the levels of antibodies against *Leptospira interrogans* in female guinea pigs with a history of abortions in intensive breeding in Junín. 138 blood samples of improved guinea pigs from an intensive farm with a history of abortions were obtained and analyzed through of the microagglutination test (MAT), where was evaluated the presence of antibodies against the Canicola, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae and Bratislava serovars of *Leptospira interrogans*. A 38.41% (53/138) of seropositive animals were identified, antibody titers of 1/100 and 1/200 were detected; with a frequency of  $16.67\% \pm 6.22\%$  (23/138) against the serovar *L. icterohaemorrhagiae*,  $10.87\% \pm 5.20\%$  (15/138) against *L. canicola*,  $10.14\% \pm 5.03\%$  (14/138) against *L. pomona*, and  $0.72\% \pm 1.39\%$  (1/138) against *L. hardjo*.

## I. INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica bacteriana con una distribución a nivel mundial, siendo reconocido como patógenos de mamíferos domésticos y silvestres (García *et al.*, 2013; Parra *et al.*, 2016). Presenta una epidemiología compleja relacionada a una gran variedad de especies animales, siendo los roedores los principales hospederos, actuando como hospederos de mantenimiento de diferentes serovares reportados en el mundo, mientras que el hombre y los animales de producción son hospederos accidentales (Sandow y Ramírez, 2005). Se han reconocido como reservorios a los roedores (*Icterohaemorrhagiae*), perros (*Canicola*), bovinos (*Hardjo*), cerdos (*Pomona*, Bratislava), y mapaches (*Autumnalis*), entre otros (Feraud, 2005).

La enfermedad, es ocasionada por espiroquetas pertenecientes al género *Leptospira* (Rodríguez, 2011; García *et al.*, 2013; Parra *et al.*, 2016), es endémica de zonas de trópico y subtropical (Evangelista y Coburn, 2010; García *et al.*, 2013). Puede ser diagnosticado en sangre, tejidos y/o secreciones (aislamiento, campo oscuro, inmunohistoquímica, entre otros) y por identificación de anticuerpos específicos (ELISA y MAT) (García *et al.*, 2013).

La Leptospirosis en el Perú se encuentra distribuida en las principales ciudades de las diferentes regiones naturales; en donde se reportan casos en humanos vinculados a diferentes serovares, con predominancia los serovares Varrilla e *Icterohaemorrhagiae* (Céspedes *et al.*, 2006). Esto representa un importante problema social, económico y sanitario, debido a las pérdidas económicas tanto de carácter productivo como reproductivo en los animales y el hombre (Sandow y Ramírez, 2005; Parra *et al.*, 2016).

La Leptospirosis en producción provoca pérdidas económicas ya que afecta la reproducción, en donde puede causar infertilidad, abortos, mortinatos y/o nacidos débiles. De manera secundaria, puede haber agalactia transitoria producida por estos microorganismos (Ellis, 1994; Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). En animales jóvenes se ha evidenciado una enfermedad con un cuadro agudo grave, frecuentemente fatal, el cual cursa con fiebre, ictericia, hemorragias y hemoglobinuria (Alonso *et al.*, 2001).

En los cuyes, como producto alimenticio de alto valor nutritivo, que participa en el aseguramiento de la alimentaria en la población rural sobre todo de escasos recursos, y como fuente de trabajo, potencialmente puede afectar los parámetros reproductivos y la economía de la actividad productiva. Es de suma importancia la investigación para determinar las causas de los abortos, ya que nos podrían no solo brindar información acerca de los serovares que podemos encontrar en ellos, sino como un tema de control. Por lo cual, este trabajo tiene como finalidad determinar los anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en cuyes con historial de abortos en crianza intensiva de Huancayo por la prueba de microaglutinación (MAT).



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 CRIANZA DE CUYES

El cuy (*Cavia porcellus*) es originario de la comunidad andina (Chauca, 1994; Chauca, 1997), su crianza se generaliza en el ámbito rural ya que es usado como un animal productor de carne para el consumo del poblador, así mismo, e una alternativa para incrementar su consumo, generar empleo, disminuir la migración de la población rural y reducir la extrema pobreza (Morales, 2017).

En Colombia, Bolivia, Ecuador y Perú, su carne es utilizada para la alimentación del hombre. El cuy, debido a su rápida reproducción y su crianza económica, puede contribuir a mejorar la nutricional de la población (Chauca, 1994). El Perú, es el país con el mayor índice de producción y consumo de esta especie, en donde los animales son criados en diferentes sistemas de producción. Su distribución en el país está difundida en todo el territorio nacional, mostrando una gran capacidad de adaptación, por lo que pueden encontrarse en todas las regiones naturales.

La crianza de cuyes tiene como característica productiva un ciclo de reproducción corto, capacidad de adaptación a diferentes ecosistemas, condición herbívora con una alimentación versátil, y no compiten con otros monogástricos (Chauca, 1997). Es considerado como la fuente más importante de proteína animal para la población rural. El Ministerio de Salud analizo la carne del cuy, la cual determino que es de buena calidad, debido a que contiene como proteína 20.3 % y de grasa 7.8 % (FONCODES, 2014).

En la actualidad, esta especie tiene múltiples fines productivos: mascotas, animal experimentación, o fuente de proteína animal para el ser humano (Chauca, 1997).

#### 2.1.1) Importancia

En las familias rurales, la crianza del cuy es parte de su vida cotidiana, siendo una especie nativa de alto valor nutricional, preferida y aceptada, la cual contribuye con la seguridad alimentaria y a la economía del hogar (Chauca, 1997; FONCODES, 2014). La venta de cuyes contribuye a la caja chica de las familias, vendiéndolos cuando tengan necesidades. El estiércol puede ser utilizado en la preparación de compost y humus de lombriz, los cuales ayudan a aumentar el contenido orgánico del suelo, incrementando el

los micronutrientes, reteniendo mayor cantidad de agua y mejorando la producción de cultivos (FONCODES, 2014).

### 2.1.2) Bioseguridad

Bioseguridad son mecanismos, medidas y normas de trabajo que permiten prevenir el ingreso y/o propagación de agentes infecciosos en la granja, para así garantizar la bioseguridad del personal que labora en el lugar, de los animales y personal que realicen actividades diversas en el sistema de producción (Morales, 2013).

#### 2.1.2.1) Instalaciones

Las instalaciones son todas las edificaciones en el ambiente destinado a la producción animal. Todas las unidades productivas deben de contar con instalaciones que permitan cumplir con las medidas de bioseguridad tanto al personal como a las visitas (Aréstegui, 2009; Morales, 2013). El galpón debe estar en buen estado, limpio, ventilado, asegurando el confort de los animales y permitiendo su manejo rutinario; así mismo, el almacén de los insumos y forrajes debe de contar con un ambiente techado y ventilado (Aréstegui, 2009; Pampa, 2010; Morales, 2012).

Para instalar un sistema de producción de cuyes debe realizarse un previo análisis del lugar que rodea al área a escoger, en donde se debe considerar el clima, la disponibilidad de forraje, preferible en zonas rurales, alejado de centros poblados, teniendo en cuenta las ordenanzas municipales vigentes, alejado de centros de faenamiento de animales o de plantas de producción industrial, entre otros factores, en donde el riesgo sanitario sea mínimo (Chauca, 1997; Betancourt y Vizcaíno, 2013).

Una buena instalación debe de satisfacer las exigencias de esta especie, diseñándola de tal forma que permita regular los factores como la iluminación, temperatura, humedad y ventilación (Betancourt y Vizcaíno, 2013; Morales, 2013), que son factores que favorecen la presentación de enfermedades (Morales, 2013). Los cuyes son animales que toleran más el frío que el calor, ya que pueden conservar el calor, pero poseen una deficiente disipación de este (Chauca, 1997).

Entre las diferentes áreas que debe contar una granja se encuentran las áreas para reproductores, para crías, para engorde de machos y hembras, para oreo y almacenamiento de forraje, para almacenamiento de concentrados y balanceados, y cuarentena (Aréstegui, 2009; Betancourt y Vizcaíno, 2013).

Los galpones, pozas y/o jaulas deben construirse con un material que no perjudique a los animales ni al ambiente, los cuales permitan una buena limpieza y desinfección; estos deben de tener el espacio suficiente para que los animales tengan fácil movimiento, acceso al alimento y agua, y los cuales no causen daño ni competencia. Los galpones deben de tener pasillos con una medida mínima de 0,80 metros de ancho para el paso de carretillas; como mínimo deben de tener dos puertas, siendo una la entrada para los alimentos y la otra para la salida de los desechos. Las instalaciones deben de tener

mecanismos de seguridad los cuales eviten el ingreso de animales ajenos a la producción (Betancourt y Vizcaíno, 2013).

Las instalaciones deben dar confort térmico y físico, la temperatura interna debe buscar mantener al cuido dentro de su temperatura termoneutral (16 – 24°C). La altura de los galpones y el manejo de las cortinas deben permitir el control de esta. Si la temperatura excede el rango de confort (siendo superior a los 28-29°C) pueden provocarse los abortos.

#### 2.1.2.2) Personal

Todo el personal de la granja debe estar familiarizado y entender los procesos de bioseguridad (Betancourt y Vizcaíno, 2013), deben de recibir capacitaciones con relación a la higiene personal, ropa, equipo de trabajo, riesgos de contaminación biológica química y física; así mismo, el personal debe ser capacitado y estrenado en sus labores específicas a realizar dentro de la granja (Aréstegui, 2009; Betancourt y Vizcaíno, 2013). Las normas de manejo deben ser proporcionadas por escrito (Aréstegui, 2009).

El personal debe de contar con un buen estado de salud; si es que se sospechara de alguna enfermedad estos no deben de ingresar al plantel. Deben de realizarse exámenes físicos y laboratoriales anualmente, presentando un certificado emitido por el Ministerio de Salud Pública (Betancourt y Vizcaíno, 2013). El personal encargado del aseo, control y alimentación en el galpón deben llevar ropa limpia y específica para el trabajo a realizar (Aréstegui, 2009; Betancourt y Vizcaíno, 2013). Se debe evitar contacto con animales ajenos a la granja ya que pueden transmitir enfermedades (Betancourt y Vizcaíno, 2013).

#### 2.1.2.3) Manejo Sanitario

Un factor clave para el desarrollo de una granja es el manejo sanitario, ya que su correcta aplicación dependerá de que los animales se encuentren con un buen estado de salud; por lo que se debe de contar con un programa permanente que incluya todas las acciones a realizar además de labores de prevención y de control (Aréstegui, 2009).

Debe de evitarse la humedad, ya que junto con la materia orgánica constituyen el ambiente propicio para la multiplicación de microorganismos que pueden causar enfermedades y muerte del animal (Aréstegui, 2009). La humedad relativa óptima para los cuyes esta alrededor del 50%; cuando la humedad es mayor a esta, se presentan problemas respiratorios. La temperatura óptima es de 20 °C, siendo el rango entre 8 y 24°C; cuando las temperaturas son inferiores, el cuy gasta la energía consumida en la regulación de la misma, afectando índices productivos; sin embargo, cuando las temperaturas son superiores, pueden provocar postración por calor o choque térmico, afectando la reproducción y productividad (Morales, 2013); los cuyes ante la directa exposición de los rayos del sol pueden presentar daños irreversibles, hasta la muerte en no más de 20 minutos. Por lo que, en una granja con más de 100 madres es importante

contar con un equipo para medir la temperatura y humedad, Termohigrómetro (Pampa, 2010).

La ventilación es un factor indispensable, ya que en climas calurosos se debe permitir manejar una buena recirculación del aire; por lo contrario, en climas fríos se debe preservar el calor, pero sin perder la ventilación y luminosidad adecuada (Morales, 2013).

El espacio vital juega un rol importante ya que cuando es reducido provocando un ambiente de estrés, generando perturbación en actividades como alimentarse, desplazarse, reproducirse y descantar, afectando los niveles productivos y reproductivos del cuy (Morales, 2013). Se debe mantener una cantidad adecuada de animales por pozas y/o jaulas, que les brinde a los cuyes un adecuado confort. El área recomendada para las jaulas es de 0.90 x 2.00 m., se aconseja albergar de 6 a 7 hembras por 1 macho o 15 cuyes de cría (Pampa, 2010).

El alimento debe ser almacenado en lugares secos y protegido del ingreso de animales, siendo los insumos de buena calidad y adquiridos en establecimientos con garantía. El forraje debe ubicarse dentro de la poza y/o jaula, pudiendo utilizarse forrajeras o siendo suministrados en lugares secos para evitar ser pisoteados y mojados por la misma orina de los cuyes. Para el alimento concentrado debe utilizarse materiales de fácil desinfección y limpieza (Pampa, 2010).

Todo animal que se sospeche y/o se encuentre enfermo debe identificarse y separarlo del grupo. Los animales a ingresar deben provenir de granjas con igual o mejor condición sanitaria de la granja de destino; luego debe establecerse un periodo de cuarentena, en el cual debe verificarse alguna anomalía; si se detecta algún cambio, el animal debe ser retirado. Se debe registrar los productos aplicados con sus respectivas dosis las cuales se debe conservar 2 años. Los antibióticos a utilizar deben ser autorizados previamente por un médico veterinario (Aréstegui, 2009).

#### 2.1.2.4) Manejo medioambiental

Debe evitarse la contaminación de las aguas por los residuos provenientes de las unidades productivas, teniendo en consideración los efectos de otros tipos de contaminantes para la protección, conservación y la preservación del medio ambiente (Betancourt y Vizcaíno, 2013). Se debe buscar alternativas para la reutilización o reciclaje de los desechos producidos en la producción, clasificándolos y separándolos según el origen de estos. Se debe tener un cuidado especial con los envases de los productos tóxicos, con el fin de reducir los residuos durante el proceso de crianza (Aréstegui, 2009).

Es importante tener un programa para el recojo y tratamiento del estiércol (Aréstegui, 2009; Betancourt y Vizcaíno, 2013); disponiendo de la capacidad para el acopio necesario de los desechos (Betancourt y Vizcaíno, 2013).

Los residuos obtenidos de las cremaciones deben tener una buena disposición final (Aréstegui, 2009). En caso de ser enterrados, debe construirse un pozo séptico

apartado de la granja, lejos de fuentes de agua y corrientes subterráneas (Betancourt y Vizcaíno, 2013).

#### 2.1.2.5) Control de Plagas.

La granja debe de contar con un programa y un registro de control de plagas (Aréstegui, 2009; Betancourt y Vizcaíno, 2013), el cual debe de enfatizar el control en galpones y ambientes de almacén. Se debe de realizar un plano de la granja en donde se indique la ubicación de cebos y los dispositivos de control (Betancourt y Vizcaíno, 2013).

Para evitar las plagas debe con contarse con un lugar específico y adecuado para almacenar la basura y los desperdicios, alejados de los galpones (Aréstegui, 2009). Se debe utilizar plaguicidas aprobados por SENASA (Aréstegui, 2009; Betancourt y Vizcaíno, 2013).

La principal plaga que afecta a las granjas es causada por roedores, perjudicando la economía del productor al afectar significativamente la productividad y sanidad (Aréstegui, 2009). El control de roedores es indispensable, pues estos están asociados negativamente a las granjas, siendo las especies más frecuentes: rata negra (*Rattus rattus*), rata parda (*Rattus norvegicus*), ratón doméstico (*Mus musculus*) (Cabetas, 2015). Se debe realizar una inspección minuciosa para detectar por donde transitan, las zonas de recría y el refugio de estos, las cuales es mejor realizar al atardecer y/o anochecer ya que tienen hábitos nocturnos.

#### 2.1.3) Enfermedades que afectan el aparato reproductor en cuyes

En cualquier sistema de producción, los problemas reproductivos son causa de preocupación para los productores, investigadores y profesionales afines ya que representa pérdidas en la producción, a través de índices de morbilidad y mortalidad variable (Morales-Cauti, 2018).

La *Bordetella bronchiseptica* es un cocobacilo gramnegativo, aeróbica, móvil, la cual provoca una enfermedad sub clínica, pero se ha podido observar abortos y nacidos muertos en hembras preñadas por las infecciones uterinas. El tratamiento con antibióticos con fluoroquinolonas o sulfa-trimetoprim puede resolver con éxito los signos clínicos, pero la eliminación de la infección es rara, con los animales volviendo a menudo al estado subclínico. Si se sospecha infección en una colonia, repoblación, prueba y sacrificio, o re derivación puede ser más beneficioso que el tratamiento (Harkness *et al.*, 2002; Brabb *et al.*, 2012).

La *Chlamydia psittaci* es una enfermedad espontánea, enzoótica, a menudo asintomática, y probablemente extendida en colonias mal administradas. La mayoría de las infecciones activas ocurren en cuyes de 4 a 8 semanas de edad, y los signos pueden incluir conjuntivitis con exudado seroso a purulento, rinitis e infecciones del tracto genital. Se informan abortos e infecciones de las vías respiratorias inferiores. La enfermedad clínica es auto limitada, con recuperación y sin daño residual. El diagnóstico

es por demostración de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos en células epiteliales conjuntivales de tinción Giemsa o Macchiavello. Es sensible a la sulfonamida (Harkness *et al.*, 2002).

La *Chlamydomphilia cavia* es un miembro de la familia Chlamydiaceae, son gramnegativo, patógenos intracelulares obligados que infectan una variedad de animales. Típicamente, la infección implica el epitelio del cuello uterino con muy poca inflamación; sin embargo, en el 80% de los animales, la infección progresa para involucrar a los oviductos, con la mitad de los animales desarrollando cambios patológicos en los oviductos, incluyendo inflamación y fibrosis. La infección puede transferirse de los animales machos infectados a las hembras durante las relaciones sexuales y verticalmente de la madre a los cachorros. El diagnóstico es por citología, PCR, cultivo, ensayos de tejidos y serología. Generalmente, la enfermedad es auto limitada y no se requiere tratamiento (Brabb *et al.*, 2012).

El Herpesvirus equino 1 (EHV1) es un patógeno equino que provoca infecciones persistentes con una gran variedad de presentaciones clínicas incluyendo problemas respiratorios, abortos, muertes neonatales, y problemas neurológicos. Un reporte describe infecciones con EVH1 resultando parálisis, ataxia, abortos y nacidos muertos en 18 de 80 Cuyes en un zoológico de Europa. La inmunohistoquímica, aislamiento del virus, PCR y la secuencia de ADN son usados para la identificación del virus. La separación de las especies, el control de los fómites y el uso de una correcta vestimenta y protección personal apropiada pueden utilizarse para prevenir la transmisión de miembros de la subfamilia Alphaherpesvirinae de virus a huéspedes aberrantes (Brabb *et al.*, 2012).

La *Listeria monocytogenes* ha sido correlacionada con muerte aguda, desordenes reproductivos como abortos, y nacidos muertos, así misma conjuntivitis. En un brote asociado a esta enfermedad de una colonia de 80 cuyes, la tasa de mortalidad fue reportada de 80-100%, donde las lesiones pulmonares y hepáticas eran predominantes. La prevención de la contaminación de alimentos o ropa de cama es esencial para prevenir esta infección (Brabb *et al.*, 2012).

La Salmonella es un bacilo gramnegativo, anaeróbico facultativo, miembro de la familia Enterobacteriaceae. Aunque se ha reportado un único serovar (*S. Typhimurium*) (Morales, 2017). Manifestaciones clínicas: pueden ocurrir infecciones agudas, subagudas y crónicas. Los signos clínicos incluyen depresión, debilidad, fiebre, deshidratación, pérdida de peso y diarreas. Jóvenes pueden presentar muerte súbita. Puede haber una metritis necrótica, o al menos una infiltración linfocítica en la pared uterina. En la necropsia se pueden observar focos o nódulos similares también pueden ocurrir en el pulmón, pleura, peritoneo y en la pared del útero (Harkness *et al.*, 2002; Brabb *et al.*, 2012; Morales, 2018).

El *Staphylococcus sp.* ha sido asociado a una variedad de infecciones en los cuyes. Han sido descritos en casos de pododermatitis a causa de jaulas con piso de alambre sucio; así mismo, en casos de osteoartritis. Webber en 1993, describió una infección por



*Staphylococcus aureus* en una granja comercial de cuyes en Alemania, que resultaba en abortos y muertes de hembras en estado de preñez, siendo la causa de infección la hija de 5 años de edad del dueño, quien presentaba una enfermedad con *Staphylococcus sp* (Rigby, 1976).

El *Streptococcus pneumoniae* es un coco encapsulado que se presenta en pares o en cortas cadenas, grampositivo,  $\alpha$ -hemolítico de forma ovalada. Pueden presentar depresión, letargia, anorexia, descargas oculares o nasales, estornudos, tos, disnea, torticolis, cabeza inclinada por otitis media, abortos, nacidos muertos. Una bronconeumonía aguda es frecuentemente asociada (Morales, 2017). Otros procesos piógenos observados en animales infectados incluyen pericarditis, peritonitis, artritis, metritis y meningitis supurativa. El cultivo de los lavados nasales es un medio ante mortem para diagnosticar *S. pneumoniae*. El tratamiento con antibióticos de un animal clínico generalmente da como resultado la reversión a un estado portador subclínico, por lo que se recomienda la eliminación de animales clínicos siempre que sea posible (Harkness *et al.*, 2002; Brabb *et al.*, 2012).

El *Streptococcus zooepidemicus* es una bacteria grampositiva. Está asociada a la formación de abscesos, usualmente en los nódulos linfoides cervicales, los cuales son evidentes en la observación y palpación (Morales-Cauti, 2018). Otros signos presentes, dependerán del órgano afectado, como torticolis, descargas nasales u oculares, disnea y cianosis, hematuria y hemoglobinuria, glándulas mamarias cianóticas e hinchadas, abortos, nacimientos de fetos muertos, muertes inesperadas, infecciones del tracto respiratorio superior (Morales, 2017). El diagnóstico es clínico, por los hallazgos en la necropsia y por el aislamiento de la bacteria a partir de los abscesos o en la sangre del corazón. El control se efectúa eliminando animales afectados de la colonia o reemplazando toda la colonia (Harkness *et al.*, 2002).

El *Toxoplasma gondii* normalmente es asintomática en los cuyes, y frecuentemente no es diagnosticada. La infección durante la preñez puede resultar en sangrados vulvares y abortos. En un caso de encefalitis por toxoplasma se reportó parálisis espástica, opistótonos y pérdida del control uretral y del esfínter anal. La infección del útero, placenta y feto puede causar un útero lleno de sangre, muertes fetales y abortos. La serología se utiliza frecuentemente en el diagnóstico en cuyes. Los quistes pueden ser observados en la histología (Harkness *et al.*, 2002; Brabb *et al.*, 2012).

## 2.2) LEPTOSPIRA

La Leptospirosis animal es diferente de la Leptospirosis humana en aspectos importantes de la epidemiología, patogénesis, características clínicas, requisitos de los métodos de diagnóstico utilizados y medidas de control aplicadas. Se caracteriza por las características clínicas agudas que se observan en los humanos, pero también por

infecciones crónicas que pueden ocasionar pérdidas económicas importantes debido al desperdicio reproductivo (Ellis, 2015)

### 2.2.1) Etiología

El término “Leptospira” procede del griego leptos (fino) y spira (espiral) (Céspedes, 2005; Sandow y Ramírez, 2005). Las leptospiras son espiroquetas, gramnegativas un grupo de bacterias que divergieron temprano en la evolución bacteriana (Guerra, 2009; Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016). Pertenecen a la familia leptospiraceae, orden Spirochaetales. (Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016), incluye tres géneros, *Leptospira*, *Leptonema* y *Turneriella* (Levett, 2015). Algunas leptospiras son saprófitas inofensivas que residen en medio ambiente, mientras que otras son patógenas (Spickler y Leedom, 2013).

#### 2.2.1.1) Características generales

Las leptospiras son bacterias largas, delgadas, altamente móviles, en forma de espiral que comprenden tanto especies saprófitas como patógenas, y estas últimas demuestran una capacidad amplia de infección a una gran variedad de hospederos y sobrevivir tanto en entornos marinos como en hospedadores de mamíferos. Tiene un diámetro promedio de aproximadamente 0.1  $\mu\text{m}$ , un rango de longitud de 6-20  $\mu\text{m}$ , una amplitud helicoidal de 0.1-0.15  $\mu\text{m}$  y una longitud de onda de 0.5  $\mu\text{m}$  (Cameron, 2015); siendo capaces de pasar filtros que retienen otras bacterias (Bharti *et al.*, 2003; Sandow y Ramírez, 2005). Es una bacteria que depende de la humedad ambiental, el pH entre 6 y 8, temperaturas entre 24°C y 30°C para sobrevivir (Feraud, 2005).

La *Leptospira spp.* posee un genoma relativamente grande (> 3,9 Mb) en comparación con otras espiroquetas (Bharti *et al.*, 2003; Picardeau, 2015), lo que indica la capacidad de *Leptospira spp.* para vivir en diversos entornos: animales anfitriones y libremente en el medio ambiente (Bharti *et al.*, 2003). Todos los miembros del género *Leptospira* que se han analizado llevan al menos dos repliconas circulares (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005; Picardeau, 2015).

La ultraestructura general de leptospira es similar a la de las bacterias gramnegativas con una membrana externa en la que el lipopolisacárido (LPS) está incrustado en el folíolo externo, una membrana interna y un espacio periplásmico que contiene peptidoglucano intermedio, pero a diferencia de otros géneros importantes de espiroquetas, posee LPS en su superficie (Cameron, 2015). Las estructuras LPS de leptospiras divergentes forman la base para la categorización de leptospira en 24 serogrupos y al menos 250 serovares (Evangelista y Coburn, 2010), teniendo un papel clave en la virulencia de la leptospira.

Poseen una gran movilidad dada por un axostilo, formado por dos filamentos axiales los cuales se encuentran en un disco final del cuerpo citoplasmático, cuyo extremo libre está unido a la región media de la bacteria (Céspedes, 2005). La rotación en sentido



antihorario del flagelo resulta en un extremo en forma de espiral y la de sentido de las agujas del reloj crea un extremo con forma de gancho. Así, las leptospiras que están traduciendo (mostrando movimiento direccional o nadando) rotan sus flagelos en direcciones opuestas, y por lo tanto exhiben una forma gancho-espiral o gancho espiral, con las bacterias moviéndose en la dirección del extremo espiral).

Estos agentes poseen actividad oxidasa, catalasa (Bharti *et al.*, 2003; Sandow y Ramírez, 2005). Se cultivan en medios artificiales, como en un medio tween, a un pH 6,8 - 7,4; y la temperatura óptima de crecimiento está entre 28 ° C y 30 ° C (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005; Sandow y Ramírez, 2005; Waktole *et al.*, 2016).

Los medios de cultivo pueden ser líquidos, semisólidos y sólidos, siendo de menor uso el semisólido. El medio de cultivo líquido es utilizado para mantener las cepas que se utilizan en las pruebas serológicas (Sandow y Ramírez, 2005). La apariencia y motilidad de las leptospiras varía con la naturaleza del medio en el que se cultivan (Bharti *et al.*, 2003). En los medios de cultivo líquido, aparecen dobladas o enganchadas en uno o ambos extremos, aunque existen mutantes rectos, teniendo un movimiento de rotación rápido sobre su eje longitudinal; en los medios de cultivo semisólidos, presentan un movimiento es en serpentina y horadación; por último, en los medios de cultivo sólidos reptan por la superficie (Bharti *et al.*, 2003; Sandow y Ramírez, 2005).

#### 2.2.1.2) Taxonomía y Clasificación

Tradicionalmente se han clasificado según sus determinantes antigénicos: “complejo interrogans” (después *L. interrogans sensu lato*), agrupando a las especies patógenas, y “complejo biflexa” (después *L. biflexa sensu lato*), agrupando a las especies saprofitas (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005; Sandow y Ramírez, 2005; Guerra, 2009; García *et al.*, 2013; Waktole *et al.*, 2016).

La unidad taxonómica de la leptospira es el serovar. Ambos complejos se dividen en un gran número de serovares por el CAAT (prueba de aglutinación cruzada), siendo los serovares homólogos antigénicamente agrupados en serogrupos (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005; Feraud, 2005; Sandow y Ramírez, 2005; García *et al.*, 2013). Se describen más de 60 serovares de *L. biflexa sensu lato* (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005; Rodríguez, 2011; García *et al.*, 2013) y se reconocen más de 200 serovares (Bharti *et al.*, 2003; Feraud, 2005; Guerra, 2009; Rodríguez, 2011; García *et al.*, 2013). La conformación antigénica característica de cada serovar es proporcionada por los antígenos su superficiales ubicados en la membrana externa. Los anticuerpos formados por los lipopolisacáridos de la pared celular poseen un carácter protector, los cuales son determinantes del serovar, los cuales poseen un carácter protector; los anticuerpos generados frente a los antígenos profundos no poseen un carácter protector no específico (Bharti *et al.*, 2003).

En la actualidad, la clasificación se basa en relación del ADN (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005; García *et al.*, 2013) la cual se divide en 13 especies; definido en 70% de

homología y 5% de divergencia en el ADN (Burriel, 2010, García *et al.*, 2013) y son: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. krischneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* y *L. wolffi*; y seis especies saprófitas: *L. biflexa*, *L. ketyi*, *L. meyeri*, *L. vanthielii*, *L. wolbachii* y *L. yanagawae* (García *et al.*, 2013; Spickler y Leedom, 2013).

Tanto los sistemas de clasificación genética antigénicos como los recientemente desarrollados de leptospira están en uso (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005) porque la caracterización genética es posible sólo en unos pocos laboratorios de investigación y los reactivos serológicos de referencia (anticuerpos policlonales y monoclonales) capaces de definir serovares no están fácilmente disponibles; por lo que los nuevos aislamientos deben de caracterizarse tanto por abordajes moleculares como serológicos (Bharti *et al.*, 2003).

### 2.2.2) Epidemiología

La Leptospirosis es una enfermedad infecciosa de gran distribución mundial (Slack, 2010; Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016). Se considera una enfermedad endémica, epidémica y reemergente (García *et al.*, 2013). Ha sido encontrada en casi todas las regiones, excepto las regiones polares, y en la mayoría de las especies de animales examinadas por investigadores experimentados. Dentro de las especies domésticas, parece haber un rango de susceptibilidad a la infección, son susceptibles los caballos a una amplia gama de leptospirosis, mientras que la infección en gatos es rara.

La epidemiología de la enfermedad se centra en el portador renal, ya que esta excreta leptospirosis al medio ambiente (Ellis, 2015). El estudio es complejo ya que existe una gran variedad de factores que influyen en la presentación de la enfermedad (Sandow y Ramírez, 2005). Cualquier leptospira tiene la capacidad de infectar cualquier especie animal pero solo pocos serovares son considerados endémicos y/o enzooticos en una región (Sandow y Ramírez, 2005; Ellis, 2015). La importancia de estas infecciones incidentales está determinada por la oportunidad de que los factores sociales, de gestión y ambientales prevalentes proporcionen contacto y transmisión de leptospirosis de otras especies (Ellis, 2015).

La distribución de la enfermedad depende de la temperatura, condición ambiental, tipo de suelo, pH y la capacidad de las aguas en mantener a los microorganismos sin provocarles algún daño (Sandow y Ramírez, 2005). Tiene mayor incidencia en zonas con climas tropicales (Céspedes, 2005; Burriel, 2010; Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016).

Actualmente se ha evidenciado que la transmisión ocurre mayormente en zonas con expansión poblacional, principalmente en países en desarrollo (Céspedes, 2005; Waktole *et al.*, 2016). La enfermedad es endémica en áreas tropicales, áreas con fuertes precipitaciones, áreas con altos niveles de agua subterránea (Dutta, 2005; Waktole *et al.*, 2016) con un saneamiento deficiente, control de roedores deficiente y sistemas mixtos de

manejo de animales domésticos que conducen a condiciones que prevén la contaminación ambiental por una amplia gama de cepas de leptospira y la máxima supervivencia tensiones en el ambiente (Ellis, 2015); sólo se observan casos esporádicos de Leptospirosis en climas áridos y desiertos. Las leptospiras pueden sobrevivir en el agua no tratada durante meses o años, pero no pueden sobrevivir a la desecación o al agua salada (Slack, 2010).

Los brotes en regiones altamente endémicas se asocian normalmente con lluvias fuertes, tras desastres naturales como inundaciones y huracanes, que enjuagan las leptospiras en el suelo en cuerpos de agua (Evangelista y Coburn, 2010; Waktole *et al.*, 2016). La Leptospirosis ocurre esporádicamente durante todo el año en estas áreas, con un pico de incidencia estacional en verano (Dutta, 2005). Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae y Pomona son consideradas de distribución mundial (Sandow y Ramírez, 2005; Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016). Se desconoce la real incidencia de la enfermedad, debido a la falta de conocimiento, a las infecciones subclínicas que pasan por desapercibidas y a los métodos diagnósticos que no se encuentran disponibles en zonas endémicas. En la selva peruana, se desarrolló un estudio en humanos el cual obtuvo una proporción alta de Leptospirosis aguda (20- 30%) (Céspedes, 2005).

Los reservorios son aquellos animales los cuales mantienen una relación de comensal con las bacterias, las cuales pueden presentar ligeramente o no presentar la enfermedad, transmitiendo la bacteria a sus crías a través del útero o en el periodo neonatal, favoreciendo la transmisión de la enfermedad. La transmisión dependerá de diversos factores. Los roedores pueden ser reservorio de una gran variedad de serovares, siendo generalmente las ratas reservorio de los serovares Icterohaemorrhagiae y Ballum, y los ratones del serovar Ballum. Los portadores son aquellos animales los cuales mantienen a la bacteria viable con la capacidad de multiplicarse en los riñones, los cuales se excretan intermitentemente por la orina, siendo muchos de estos negativos en las pruebas serológicas. (Céspedes, 2005).

El huésped principal que mantiene infecciones de importancia mundial es la infección por Icterohaemorrhagiae en la rata parda *Rattus norvegicus*, Hardjo en bovinos y ovinos, Canicola y posiblemente en Bratislava en cerdos y posiblemente perros. Otras infecciones mantenidas por el huésped tienen una distribución geográfica más limitada debido a limitaciones en la distribución del hospedador o factores no reconocidos, por ejemplo, la infección por serovariedad Kenniwicki o Tarassovi en cerdos. Si una población mantiene una infección también puede depender de la densidad de población y las condiciones ambientales. Por ejemplo, en un estudio de Nueva Zelanda, la rata parda no mantuvo la infección de Ballum en la mayoría de las condiciones, pero sí cuando estaba presente en poblaciones de alta densidad encontradas en basureros (Ellis, 2015).

La morbilidad y mortalidad varían con la especie y la edad del animal, la especificidad del huésped del serovar y otros factores (Spickler y Leedom, 2013). Los mamíferos son la única clase de animales capaces de transmitir organismos como

leptospira, a pesar de que se han identificado leptospiras en reptiles y aves (Guerra, 2009). Las leptospiras mantenidas por el huésped son parásitos excelentes y tienen poco efecto clínico y causan un daño patológico mínimo a sus hospedadores, excepto en ciertas circunstancias, por ejemplo, animales inmunodeprimidos, como las mujeres al final del embarazo y el neonato, o donde hay una infección concurrente como la diarrea del virus bovino en bovinos o la infección por el virus circadiano en los cerdos. La persistencia renal y la excreción urinaria pueden durar incluso años y las leptospiras pueden tener un tropismo importante para otros tejidos además del riñón, por ejemplo, el tracto genital (Ellis *et al.*, 1986). Las infecciones incidentales tienen más probabilidades de estar asociadas a una enfermedad clínica aguda y la excreción renal generalmente es de duración limitada. Los rangos de host limitados para las principales infecciones mantenidas por el huésped permiten el desarrollo de esquemas de control / erradicación (Ellis, 2015).

#### 2.2.2.1) Factores asociados a la infección

Existen numerosos factores asociados que se debe de considerar:

Factores dependientes del agente etiológico: El más importante es la resistencia de la leptospira fuera del hospedero, ya que son sensibles a las condiciones medioambientales, siendo ambiente húmedo, la temperatura templada (24-25°C), la presencia de orgánica determinantes para su supervivencia y pH neutro o ligeramente alcalino, por lo que las áreas que se encuentran implicadas en focos de leptospirosis son mayormente son las lagunas, riachuelos y bebederos (Ellis, 1994; Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). Estos factores tienen cierta estacionalidad, ya que se evidencian en épocas de lluvia (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005).

Factores dependientes del hospedador: aquí destaca el estado inmunitario, la edad y la gestación. Se ha visto que la edad puede tener relación con el estado del portador renal, en donde la mayor incidencia de excreción de leptospira en la orina aparece en terneros, mientras que las vacas mayores de 3 años no son leptospiúricas. Respecto al estado inmunitario, el ganado que ha sido previamente expuesto a la infección es refractario a esta. Con lo que respecta a la gestación, se ha visto que serovares como Hardjo, provocan abortos e incluso la presencia de mortalidad embrionaria (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005).

Factores dependientes del medio: está en función de la aptitud del ganado y el tipo de alimentación. Por ejemplo, se ha evidenciado una mayor frecuencia y peor pronóstico en el ganado vacuno lechero, ya que su crianza generalmente se realiza en sistemas que llevan mayor hacinamiento, favoreciendo su transmisión, muy aparte que las crías son separadas después del parto y son reintroducidas al núcleo principal en su primera gestación, lo cual existe una introducción de animales que no ha sido expuestos, receptivos y susceptibles a la infección, por lo que la infección mas alta ocurre entre los 2-3 años de edad. Con respecto a la alimentación, el ensilaje y grano o como suplemento,

provoca un pH mas bajo, el cual se refleja e la orina y la eliminación de poca cantidad de leptospira (Alonso *et al.*, 2001).

#### 2.2.2.2) Vías de transmisión

La Leptospirosis puede ser transmitida directamente entre hospederos como indirectamente a través del ambiente. Así mismo puede ser ingerida por alimentos o agua contaminada, orina o agua en aerosol, o transmitida directamente por contacto con la piel. La principal fuente de contagio es la orina, ya que la leptospira es excretada por la orina de los animales infectados agudos como crónicos. Puede ser encontrado en fetos abortados o nacidos muertos, también en fetos normales o descargas vaginales después del parto (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005).

Vía horizontal directa: La vía más frecuente de transmisión en casos de serovares adoptados (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005) con el cual la infección parece ser en gran parte independiente de la precipitación y del ganado, y de los sistemas de dirección de la oveja (Ellis, 1994). Puede ser por contacto directo o núcleos goticulares (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). Puede ocurrir entre los animales a través de orina infectada, secreción uterina postaborto, placenta infectada, contacto sexual o infección *in útero* (Ellis, 1994).

La contaminación con la orina depende del pH como un importante factor para la supervivencia de la bacteria, ya que no sobreviven en pH ácido, razón por la que algunos autores mencionan que la orina del hombre, ratas y ratones no son viables para su supervivencia a no ser que hayan sido diluidas por agua, a diferencia de la orina de los bovinos que posee un pH alcalino (Sandow y Ramírez, 2005). Algunos animales excretan leptospira por medio de la leche, pero debido a las sustancias antibacterianas en los selladores, la supervivencia es muy corta. La saliva es considerada como una fuente de contaminación, ya que se ha comprobado la infección en el humano después de la mordedura de otros animales (Bharti *et al.*, 2003). La forma venerea se ha considerado después de demostrarse la presencia de la bacteria en el semen de un toro (Sandow y Ramírez, 2005), siendo la transmisión sexual también es importante en la transmisión dentro de las especies (Ellis, 2015). La supervivencia de la leptospira en los tejidos depende del pH post mortem y el efecto antagónico que supone la contaminación con otras bacterias. Las descargas uterinas post abortos pueden mantener su capacidad infectante pasado los 8 días (Sandow y Ramírez, 2005).

Vía horizontal indirecta: es aquella producida después de la exposición en un ambiente contaminado (Ellis, 1994; Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). La contaminación puede ser por fómites, como alimentos, agua, suelos y pastos contaminados, que facilitan el contacto entre los animales y la bacteria; siendo la forma con mayor frecuencia e importancia para la infección el contacto de las mucosas o piel con barro o agua contaminada con orina, o en los mataderos el contacto con órganos de animales infectados. Los vectores son presentados por diversos autores como los



artrópodos, ya que puede jugar un relevante papel en la transmisión del agente (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005).

Para que la infección ocurra, la bacteria primero debe sobrevivir en el agua, la cual va vinculada con una alta humedad y la óptima temperatura en el lugar de la aparición. La temperatura del agua tiene un efecto benéfico en la leptospira, ya que ante la temperatura baja el tiempo de supervivencia aumenta, pero la multiplicación disminuye, y las temperaturas altas son favorables para su multiplicación, tienen un menor tiempo de supervivencia. Las leptospiras pueden vivir en el agua durante 22 días y en el barro hasta 6 días. A pesar de todo esto, no todas las aguas son favorables, ya que también se verán afectadas por el pH y la salinidad (Sandow y Ramírez, 2005; Spickler y Leedom, 2013).

Vía vertical: puede ser transplacentaria, en donde el agente atraviesa la placenta durante el periodo de leptospiremia; en esta vía se ha visto evidencia el ganado bovino, porcino y el ser humano (Sandow y Ramírez, 2005).

#### 2.2.2.3) Importancia Económica y Sanitaria

La Leptospirosis considerada la enfermedad con mayor difusión en el mundo, la cual presenta una importancia tanto económica como sanitaria (Sandow y Ramírez, 2005). Las pérdidas económicas debido a la Leptospirosis pueden ser causadas por cualquiera de las características de presentación de la enfermedad agudas, crónicas o subclínicas descritas (Ellis, 1984).

Resulta difícil estimar las pérdidas económicas de la enfermedad, en parte por las dificultades en su diagnóstico. El fallo reproductivo es la repercusión económica mas importante en la ganadería, provocando abortos, mortinatos, nacidos débiles y/o disminución de la fertilidad (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005; Burriel; 2010). En el ganado lechero ha de considerarse las perdidas por el “síndrome de la caída de leche” o agalactia. Así mismo, debe de agregarse las perdidas provocadas por el aumento en la tasa de desecho temprano y eliminación de animales por problemas reproductivos (Sandow y Ramírez, 2005). En animales jóvenes se ha visto evidencia, aunque poco frecuente, de una enfermedad de cuadro agudo grave frecuentemente de curso fatal (Alonso *et al.*, 2001).

La Leptospirosis es una zoonosis, donde el ser humano es considerado como parte de un hospedador accidental. Algunas actividades laborales (mineros, ganaderos, agricultores, deportistas acuáticos, veterinarios, entre otros) y recreativas implican contacto con aguas posiblemente contaminadas de leptospira favoreciendo la presentación de la enfermedad en ellos. Además del riesgo sanitario, hay que tener en cuenta los gastos del personal como el cuidado médico, bajas laborales, capacidad de trabajo y pérdida de productividad (Sandow y Ramírez, 2005).

### 2.2.3) Patogénesis

La infección por leptospirosis ocurre con mayor frecuencia a través de las membranas mucosas y por transmisión vertical (Ellis, 2015). Luego se difunde invadiendo el torrente sanguíneo y el parénquima hepático donde se incubará entre 2-30 días y se multiplicará (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005), provocando un estado de leptospiremia (bacteriemia) por al menos 7 días (Ellis, 1994; Feraud, 2005; Sandow y Ramírez, 2005), la cual comienza 1 o 2 días después de la infección; en este periodo se puede aislar las leptospiras en la sangre y la mayoría de los órganos del cuerpo, incluyendo el líquido cefalorraquídeo (Ellis, 2015).

El período de incubación puede ser corto, con signos clínicos que aparecen después de 5 a 15 días en perros infectados experimentalmente; como también puede ser más largo donde los signos clínicos son el resultado de daño crónico (Spickler y Leedom, 2013). Esa fase puede ser subclínica, siendo especialmente afectados los animales jóvenes, en donde puede caracterizarse por anorexia, daño funcional de algunos órganos (hígado, bazo o cerebro), eliminación de leptospiras en la leche, pirexia, entre otros (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005). Esta fase bacteriana primaria termina con la aparición de anticuerpos circulantes, que son detectables generalmente después de 10-14 días y alcanzan niveles máximos alrededor de 3-6 semanas (Ellis, 2015), junto a la acción leptospiricida de las  $\beta$ -macroglobulinas del suero, la acción del complemento y la lisozima, desapareciendo del torrente sanguíneo las leptospiras (Ellis, 1984), localizándose en diferentes órganos, como la cámara interior del ojo, meninges, riñón y útero grávido donde los anticuerpos tienen poco acceso (Feraud, 2005). Un período bacterémico secundario (después de 15-26 días) rara vez se ha informado (Ellis, 2015).

La enfermedad clínica aguda coincide con la fase de leptospiremia (bacteriemia) de la enfermedad (Ellis, 1994; Ellis, 2015). Se ve principalmente en animales jóvenes. Por lo general, se asocia con infecciones incidentales, en particular cepas productoras de hemolisina, como las cepas Pomona o Icterohaemorrhagiae, que causan enfermedades hemolíticas, hemoglobinuria, ictericia y muerte. El daño renal puede ser una característica importante, particularmente en la infección de Canicola en perros. La agalactia puede ocurrir en el ganado bovino, ovino y búfalo (Sandow y Ramírez, 2005; Ellis, 2015). Los abortos suelen ocurrir de 2 a 12 semanas después de la infección en el ganado vacuno, y de 1 a 4 semanas después de la infección en los cerdos (Spickler y Leedom, 2013). La enfermedad aguda puede ser importante en rebaños, pero no a nivel nacional (Ellis, 2015).

Después del período de leptospiremia, las leptospiras se localizan en los túbulos renales proximales donde se multiplican y se anulan en la orina. La duración e intensidad del exudado urinario varía de especie a especie, de animal a animal y con el serovar infectante (Ellis, 1994, Ellis, 2015). Posteriormente, las leptospiras se multiplican en la luz de los túbulos contorneados renales, en donde el daño capilar, la producción de determinadas endotoxinas y hemolisinas producirán anoxia y nefrosis hemoglobinuria por una posible isquemia producida por la agregación intravascular de hemoglobina y la presencia de mono nucleares infiltrados por una reacción autoinmune que obstruirá los

capilares, dando lugar a la tercera fase (leptospiuria) siendo de carácter continuo o intermitente, de duración variable. Según la especie afectada (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005), que en algunos casos puede durar hasta 2 o más años (Ellis, 2015).

El periodo de leptospiuria puede variar entre especies, siendo este periodo en el bovino hasta de 7 meses, el equino de 2-3 meses, el cerdo hasta un año, el perro hasta 6 meses o más y los roedores toda la vida (Sandow y Ramírez, 2005). Un período variable de intermitente, de baja intensidad leptospiuria entonces se produce, con frecuencia duran de 6 a 12 meses en el ganado, pero a veces persistentes para la vida. La excreción de Hardjo por períodos prolongados también se ha observado en ovejas. Por el contrario, el desprendimiento urinario es de muy baja intensidad en otras infecciones mantenidas por el huésped en las que la vía venérea es probablemente más importante, como la infección por Hardjo en bovinos y ovinos (Ellis, 1994).

Las leptospiras también pueden localizarse en el útero de los animales en estado de preñez; el aborto, la muerte fetal y la enfermedad neonatal (Ellis, 2015), con posterior desecho crónico reproductivo y excreción de las leptospiras en la descarga post calcificación uterina (Ellis, 1984; Ellis, 1994), pueden ser el resultado de infecciones intrauterinas que ocurren en la gestación tardía. Si la competencia inmune se ha desarrollado, se pueden encontrar anticuerpos contra la leptospira infectante en cerdos, ganado y fetos de caballos. La patogénesis de la enfermedad reproductiva es poco conocida, pero algunos autores creen que la infección transplacentaria, que ocurre durante el período muy limitado de leptospiremia materna, es la única causa. Los títulos bajos de anticuerpos detectados en perros y cerdas que abortan fetos infectados por Bratislava han llevado a la hipótesis de que la infección puede ocurrir como resultado de la disminución de la inmunidad uterina no puede prevenir la infección transplacentaria por leptospiras presentes en el tracto genital. En las especies multíparas puede haber una infección secuencial en el útero con la descendencia nacida / abortada en varias etapas de la infección, es decir, algunos no infectados, algunos septicémicos y algunos muertos y comenzando a autólisis. Es posible que exista una excreción limitada de aborto post en las descargas uterinas (Ellis, 2015). Se han encontrado diferencias en los tropismos de los tejidos expuestos por diferentes cepas de Hardjo. Se ha demostrado que algunas cepas de *Hardjobovis* persisten principalmente en el riñón, otras tienen predilección por el tracto genital y otras persisten en ambos sistemas de órganos (Ellis, 1994).

Una característica adicional, observada en la infección mantenida en el huésped, es la persistencia de leptospiras en el oviducto, el útero de las hembras no preñadas y en los tractos genitales de los machos (Ellis *et al.*, 1986). Se ha demostrado que la localización de las leptospiras en el útero embarazado y no embarazado de las vacas persiste hasta 142 días y 97 días después de la infección, respectivamente. La localización del serovar Hardjo ha sido reportada en los testículos y en las glándulas accesorias de los toros, y se han demostrado lesiones de leptospiras de los serogrupos de Pomona y Hebdomadis en el semen de toro. Se han detectado anticuerpos de leptospira en el plasma seminal, lo que sugiere la producción local de anticuerpos. También se ha informado de



la persistencia de serovar Hardjo en las glándulas mamarias de ganado bovino y caprino (Ellis, 1984; Ellis, 1994). Los estudios *in vitro* también han demostrado que las leptospiras tienen la capacidad de adherirse y penetrar en la zona pelúcida e ingresar a las células embrionarias. También se ha informado persistencia crónica en la glándula mamaria y sus ganglios linfáticos de drenaje. Las leptospiras localizan y persisten en el ojo de algunas especies, sobre todo el caballo, que conduce a uveítis y ceguera (Ellis, 2015), la cual tiene una relación con la presencia de linfocito B en la retina (Sandow y Ramírez, 2005).

La fiebre y la reacción sistémica general también puede ser provocada por el aborto, ya que existe el paso de hemolisinas y otras toxinas que atraviesan la placenta, destruyendo los eritrocitos fetales y provocando cambios degenerativos microscópicos, los cuales interfieren en el intercambio fisiológico entre la madre y el feto, originando la muerte del feto. En algunos casos, el aborto ocurre posteriormente a la infección (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005).

#### 2.2.3.1) Respuesta inmune:

Las leptospiras son invasivas debido a las enzimas que producen y a los factores mecánicos que poseen (motilidad por excavación y su tropismo), por lo que alcanzan sitios protegidos del organismo (líquido cefalorraquídeo (LCR) y el globo ocular). Su capacidad lesional es debida a los factores tóxicos (hemolisina, fibrolisinas, lipasas; y endotoxinas, como catalasa, hialuronidasa) (Sandow y Ramírez, 2005).

En la respuesta inmune innata para proporcionar protección, los monocitos / macrófagos utilizan la activación mediada por PRR, especialmente durante las primeras etapas de la infección. El LPS de leptospiral y las hemolisinas estimulan los macrófagos para producir IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN y TNF- $\alpha$ . Además, los macrófagos tratados con LPS de leptospiral tienen una mayor actividad fagocítica. El papel del anticuerpo parece ser importante para la muerte mediada por macrófagos de leptospira; varios estudios independientes han demostrado que la fagocitosis que conduce a una disminución de la viabilidad bacteriana requiere opsonización con anticuerpos homólogos. La opsonización puede superar un mecanismo inherente de evasión inmune de leptospira que perjudica la función macrófaga; las cepas virulentas recién aisladas pueden inducir apoptosis de macrófagos o limitar la fusión lisosomal con fagosomas cargados de bacterias (Zuerner, 2015).

Los leucocitos polimorfonucleares (PMN) incluyen granulocitos, eosinófilos y neutrófilos, y estas células comprenden componentes importantes de la respuesta inmune innata, pero su papel en la protección contra la infección por leptospira no está claro. Dos péptidos antibacterianos producidos por los neutrófilos bovinos, Bac5 (también conocido como cathelicidin-2) y Bac7 (cathelicidin-7), pueden matar a leptospira. Leptospira intacta, peptidoglicano leptospiral o LPS inducen adherencia de PMN a las células endoteliales. Sin embargo, la resistencia a la fagocitosis de PMN se ha sugerido como un factor de virulencia potencial para Leptospira. La infección aguda con una cepa letal de

hámster de *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo dio como resultado la formación in vivo en sangre de grandes agregados bacterianos-neutrófilos sin depuración bacteriana (Zuerner, 2015).

Aunque las plaquetas se han asociado tradicionalmente con la hemostasia, estudios recientes han demostrado que estas células son componentes importantes de la respuesta inmune innata. Las plaquetas utilizan TLR para detectar PAMP y producen péptidos y citoquinas antimicrobianas. Las plaquetas activadas contribuyen a la activación de los neutrófilos y la formación extracelular de los neutrófilos. Al contribuir a la eliminación de plaquetas, leptospira puede ser capaz de subvertir parte del sistema inmune innato durante las primeras etapas de la infección (Zuerner, 2015).

El mecanismo por el que la leptospira activar el sistema inmunitario ha sido el foco principal de muchos estudios, especialmente en relación con la participación de las citoquinas. Se observaron altos niveles de TNF- $\alpha$  en suero de pacientes con Leptospirosis y en el sobrenadante de cultivo de macrófagos, y también asoció la gravedad de la infección. Las pruebas utilizando la técnica de PCR cuantitativa en tiempo real, encontró niveles elevados de citoquinas inflamatorias, IL-4 e IL-10 en la etapa tardía de la infección con *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae establecer un perfil de la participación de citoquinas en el tipo 1 de inmunidad celular. Se cree que la inmunidad adquirida naturalmente puede resultar de la respuesta humoral mediada, que a su vez serovar específico (Marinho y Cardoso, 2014).

El mecanismo de resistencia a la Leptospirosis es mediado en gran medida por la respuesta humoral (Evangelista y Coburn, 2010). Los anticuerpos son producidos durante la infección leptospiral; los anticuerpos IgM e IgG se detectan serológicamente en pacientes que se recuperaron de Leptospirosis grave hasta 6 años después de la infección inicial por leptospiras (Sandow y Ramírez, 2005; Evangelista y Coburn, 2010). Los anticuerpos producidos se dirigen principalmente contra el LPS de leptospiras (Evangelista y Coburn, 2010).

Después de la infección, se produce la elevación de las IgM, las cuales alcanzan niveles detectables en sangre a los pocos días de la desaparición de la bacteriemia y a 2-5 días de aparición de los signos de la enfermedad aguda, los cuales dificultan la multiplicación de las leptospiras, pero sin eliminarlas, por lo que se empieza a detectar las IgG específicas, que provocan la lisis de estas. La IgM alcanza su pico máximo a las 3-4 semanas y las IgG a las 4-12 semanas después de la infección (Sandow y Ramírez, 2005). Durante la fase de leptospiuria, la IgM no son detectables, mientras que la IgG puede detectarse en la orina aproximadamente a las 6 semanas después de la infección. También puede presentarse una respuesta inmune local, en donde la IgA aparece en la orina hacia la semana 12 de la infección. La variabilidad de las leptospiras se ve afectada por la presencia de IgA y IgG en la orina (Sandow y Ramírez, 2005). Durante el aborto, los niveles de anticuerpos suelen encontrarse bajos e incluso negativos (Ellis *et al.*, 1986), por lo que dificulta al momento de realizar el diagnóstico de los abortos (Sandow y Ramírez, 2005).

#### 2.2.4) Signos clínicos

La leptospira tiene la capacidad de infectar un amplio rango de huéspedes mamíferos. Puede aparecer como una infección aguda, potencialmente mortal que cuyo inicio coincide con la infección bacteriémica, en hospedadores accidentales, o puede convertirse en una infección crónica, en gran parte asintomática que afecta al aspecto reproductivo, en los hospedadores naturales de mantenimiento (Ellis, 1984; Zuerner, 2015), presentando signos muy variables (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005; Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016). El curso que sigue la infección por leptospira depende de factores poco conocidos, pero está fuertemente influenciado tanto por la especie huésped como por el serovar bacteriano implicado en la infección (Zuerner, 2015), del mismo modo por la virulencia de la bacteria y la inmunidad del hospedero (Sandow y Ramírez, 2005).

La enfermedad tiende a ser más suave en el reservorio huésped, y más grave cuando el serovar no está adaptado al huésped (Spickler y Leedom, 2013). Los signos presentados en la Leptospirosis son muy variables pudiendo ser asintomáticos, leve o severo, agudo o crónico (Sandow y Ramírez, 2005; Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016). La Leptospirosis se puede dividir en dos fases distintas: en primer lugar, una fase aguda cuyo inicio coincide con la infección bacteriémica y, en segundo lugar, una fase crónica que se produce mucho y que afecta al aspecto reproductivo (Ellis, 1984).

La infección aguda generalmente ocurre principalmente en animales jóvenes, presentando anorexia, pirexia (40,5-41,5 °C), conjuntivitis, en los casos más severos presentan anemia hemolítica, hemoglobinuria, hemorragias petequiales en las membranas mucosas, ictericia, neumonía, signos de meningitis (incoordinación, salivación y rigidez muscular), septicemia; al principio puede cursar con diarreas, siendo sanguinolentas y/o amarillentas, de olor fétido, pero más tarde puede cursar con estreñimiento. Algunas infecciones suelen ser fatales, y los supervivientes pueden ser desalentadores después de la recuperación (Spickler y Leedom, 2013; Lilenbaum y Martins, 2014).

En adultos, usualmente son pérdidas reproductivas (infertilidad, nacimiento de crías débiles o muertos, aborto, agalactia) (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005; Waktole *et al.*, 2016). Los signos tempranos suelen ser fiebre y depresión (siendo ausentes, transitorios o leves), abortos, los nacidos muertos y, en ocasiones, las crías débiles con una mayor mortalidad neonatal. Esto es debido a que sólo las vacas infectadas por primera vez durante el embarazo suelen ser afectadas, las pérdidas reproductivas pueden ocurrir esporádicamente o como un brote siendo una secuela crónica en animales preñadas (Ellis, 1994; Spickler y Leedom, 2013). Algunas hembras que abortan pueden retener la placenta, y la infertilidad puede ser una secuela. Algunos serovares de leptospira pueden causar agalactia súbita o disminución de la producción de leche. La leche puede ser gruesa, amarilla y teñida de sangre, pero normalmente hay poca evidencia de inflamación mamaria. La apariencia de la leche suele mejorar después de unos días, y la producción de leche vuelve a la normalidad en unas pocas semanas. (Ellis, 1984; Feraud, 2005; Lilenbaum y Martins, 2014).

#### 2.2.4.1) Lesiones post mortem

Las lesiones post mortem no son específicas de la enfermedad, por lo que para el diagnóstico de la enfermedad no se pueden basar en ella. Así mismo, las lesiones poco observables dependerán del serovar implicado del órgano y especie afectada.

El primer órgano afectado es el hígado, el cual se puede observar un cuadro de necrosis cortical, zonas con pequeña congestión, núcleos con picnosis y cariorexis (Feraud, 2005), hepatomegalia (Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016), palidez o un color amarillento, vesícula biliar llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro (Sandow y Ramírez, 2005).

Los riñones a menudo están edematosos en animales con signos sistémicos. Pueden ser pálidos o contener manchas rojas o blancas / grises, manchas, bandas de tejido o cicatrices fibróticas. (Sandow y Ramírez, 2005, Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016). Es típica la presencia de nefritis intersticial, observándose en la zona cortical áreas de necrosis hemorrágicas, desde petequias a equimosis, procesos degenerativos en los glomérulos con infiltración de linfocitos, células plasmáticas y fibroblastos (Feraud, 2005; Sandow y Ramírez, 2005)

En hembras gestantes, se puede observar edema y necrosis en los cotiledones, edema y hemorragias en las membranas fetales. (Feraud, 2005). En los fetos abortados se observan congestión generalizada y deposiciones líquida (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005)

También se puede encontrar hematuria, ictericia, anomalías asociadas con uremia aguda, lesiones pulmonares u otras lesiones (Sandow y Ramírez, 2005; Spickler y Leedom, 2013; Waktole *et al.*, 2016), bilis de consistencia pastosa y color negruzco, edema perirrenal, fluido libre en cavidades corporales, ganglios tumefactos, la mucosa intestinal puede estar inflamada, lesiones petequiales dispersas, mastitis, nódulos linfáticos aumentados de tamaño, la vejiga llena de orina turbia o rosada (provocada por la hemólisis de la sangre) (Feraud, 2005; Sandow y Ramírez, 2005).

#### 2.2.5) Diagnóstico

El diagnóstico de la leptospira puede llegar a ser complicado debido a las características de la enfermedad y su epidemiología. En la actualidad, existe una gran variedad de técnicas de laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad, pero previamente a estas es conveniente recaudar información que nos pueden orientar para poder llegar a un diagnóstico.

##### 2.2.5.1) Diagnóstico epidemiológico

En la anamnesis realizada debe enfatizarse los siguientes puntos: alimentación, aptitud del rebaño, contacto con otras especies, control de animales silvestres; edad y sexo de los animales afectados, signos predominantes, antecedentes, vacunación; Época del

año, clima (humedad, precipitación y temperatura); introducción de nuevos animales, manejo y estado sanitario, manejo de recría, manejo reproductivo; número de animales afectados, fase de la gestación en que se produce el aborto (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005).

#### 2.2.5.2) Diagnóstico clínico

El diagnóstico clínico es de carácter presuntivo y se realiza a través de la signología y sintomatología que presentan los animales y humanos; además de las lesiones características anatomopatológicas (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). Las características clínicas asociadas con las infecciones por leptospirosis en los animales domésticos, se muestran en el Anexo 1.

#### 2.2.5.3) Diagnóstico laboratorial

El diagnóstico clínico debe ser confirmado por pruebas complementarias (Céspedes, 2005; García *et al.*, 2013). Existen pruebas que sin ser específicas pueden orientar al clínico hacia el diagnóstico (Céspedes, 2005).

Los procedimientos utilizados para la detección de leptospiras se pueden dividir en dos grupos: las técnicas directas son aquellas que se basan en la detección de las leptospiras o sus antígenos y/o ácidos nucleídos en los tejidos y/o fluidos corporales, y las técnicas indirectas son aquellas que se basan en la detección de anticuerpos frente a las leptospiras (Sandow y Ramírez, 2005; Burriel, 2010). Las técnicas directas son las más indicadas en el caso de muestras procedentes de fetos (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). En caso del muestreo en animales adultos, se utilizan con mayor frecuencia las técnicas indirectas al ser pruebas más sencillas y de un costo menor (Alonso *et al.*, 2001).

En el caso de animales vivos, se envía muestras de leche y sangre en fase aguda y orina en fase crónica de la enfermedad. En el caso los animales estén muertos o hayan sido sacrificados, las muestras a enviar para los casos de signología nerviosa son cerebro, líquido cefalorraquídeo, médula espinal y ojo, en casos que cursan con ictericia son los órganos parenquimatosos (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005), vejiga y su contenido, humor acuoso, aborto y contenido estomacal (Sandow y Ramírez, 2005). En fetos los órganos a analizar son cerebro, glándula adrenal, hígado, pulmón y riñón, así como cualquier fluido interno (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). Las muestras post mortem deben de conservarse congelados en glicerol a partes iguales (Sandow y Ramírez, 2005). Para propósitos epidemiológicos se puede obtener muestras de agua y suelo; en caso de epidemias, se puede capturar roedores u animales silvestres para obtener muestras de sangre, riñón, hígado (Sandow y Ramírez, 2005).

Varios hallazgos no específicos pueden incluir aumento de la VSG, transaminasa, fosfatasa alcalina y bilirrubina; uroanálisis anormal evidenciando proteinuria, piuria y hematuria. La proteína LCR puede encontrarse normal o levemente elevada y la glucosa



LCR normal (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005). En Leptospirosis severa, hay leucocitosis periférica con desviación a la izquierda y trombocitopenia; niveles elevados de creatinina debido al deterioro de la función renal (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005). Tales hallazgos mediante pruebas de laboratorio de rutina sólo sugieren un diagnóstico de Leptospirosis; Se necesitan pruebas microbiológicas serológicas o moleculares específicas para la confirmación (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005).

(i) Técnicas directas

Las técnicas directas son aquellas que demuestran la presencia de leptospiras, o sus componentes (Sandow y Ramírez, 2005; Burriel, 2010). La prueba diagnóstica definitiva es la recuperación de leptospiras a partir de muestras clínicas, ya sea por cultivo, que es insensible y lento (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005), por tinción inmunohistoquímica, o por la presencia de ADN leptospiral por PCR (Bharti *et al.*, 2003; Burriel, 2010).

Inmunotinción; Detección de antígenos mediante Inmunofluorescencia indirecta o inmunohistoquímica (García *et al.*, 2013). La demostración de las leptospiras mediante métodos de tinción inmunológica es más adecuada para los laboratorios de diagnóstico, pero el éxito o el fracaso de las pruebas depende del número de organismos y las pruebas carecen de la sensibilidad del cultivo (Ellis, 1994; Sandow y Ramírez, 2005).

Aislamiento: es la técnica más sensible para el diagnóstico de la leptospirosis, ya que confirma su presencia tanto en casos agudos como crónicos, pero requiere de tiempo y de laboratorios especializados (Ellis, 1994). Los organismos de leptospira se pueden aislar de los líquidos corporales. Sin embargo, el tejido de animales muertos está dando una mayor oportunidad de un aislamiento exitoso, si el tejido diana no es autolizado. Este tejido objetivo es el riñón, el hígado, los pulmones, el cerebro. Si el agente es sospechoso de abortos, el aislamiento podría ser intentado a partir de materiales de aborto no tolerados o muestras de tejido de un feto recién abortado. El aislamiento del microorganismo del tejido fetal (riñón, hígado, pulmones) confirma la infección materna (Burriel, 2010).

Cultivo: Las leptospiras se pueden aislar en muestras de sangre y de LCR durante los primeros 7-10 días de la enfermedad y en orina durante la segunda a cuarta semana de la enfermedad (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005). Los medios deben ser inoculados en 24 h. Incluso en óptimas condiciones, los organismos crecen lentamente, siendo reportados como negativos después de un mínimo de 6-8 semanas, hasta 4 meses (Bharti *et al.*, 2003). Por lo general, toma 1-2 semanas de incubación de organismos suficientes para estar presente para la visualización bajo microscopía de campo oscuro. La identificación posterior a un nivel de serovar requiere pruebas serológicas complejas que pueden tardar meses en completarse. Debido al retraso de 1-2 semanas en el diagnóstico definitivo, la cultura no es una herramienta óptima para determinar el inicio de la gestión, pero sigue siendo útil en el estudio epidemiológico de la enfermedad (Slack, 2010).

(ii) Técnicas indirectas

Los métodos indirectos se basan en la detección de anticuerpos específicos en suero. Estos métodos detectan anticuerpos séricos sin discriminar en serovares (Burriel, 2010). Las pruebas serológicas son pruebas rápidas, capaces de detectar anticuerpos contra las leptospiras (IgM e IgG), siendo técnicas utilizadas frecuentemente y de elección para la confirmación del diagnóstico clínico (Ellis, 1994; Bharti *et al.*, 2003; Sandow y Ramírez, 2005; Slack, 2010; OIE, 2013).

Los anticuerpos antileptospirales aparecen pocos días después del inicio de la enfermedad, persistiendo durante varias semanas, meses e incluso años. El problema está en pacientes crónicos, ya que descienden hasta niveles indetectables (Sandow y Ramírez, 2005; OIE, 2013), un porcentaje de animales pueden no presentar anticuerpos (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005); por lo que es necesario métodos sensibles que detecten el microorganismo en portadores crónicos en orina y/o tracto genital (OIE, 2013).

La serología aplicada nos da aproximación al diagnóstico en donde se utiliza la prueba de aglutinación microscópica (MAT) (Céspedes, 2005); y la prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA) (García *et al.*, 2013). Otras técnicas serológicas utilizadas son: la prueba de microaglutinación microscópica con antígeno muerto (MSAT) (Sandow y Ramírez, 2005), aglutinación macroscópica (Sandow y Ramírez, 2005; García *et al.*, 2013), fijación de complemento (Céspedes, 2005; Sandow y Ramírez, 2005; García *et al.*, 2013), hemoaglutinación (Céspedes, 2005; Feraud, 2005; Sandow y Ramírez, 2005), PCR (Sandow y Ramírez, 2005), entre otras; estos métodos se han visto difícilmente utilizados ya que presentan una baja sensibilidad y/o especificidad, además que requerían de reactivos y/o equipos sofisticados (Céspedes, 2005).

Prueba de aglutinación microscópica (MAT): es la prueba gold estándar para el diagnóstico de leptospirosis, ya que posee una alta sensibilidad (92%) y especificidad (95%) (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005), además identifica el serovar o serogrupo comprometido en la infección (Céspedes, 2005). Constituye la prueba de referencia frente a otras pruebas serológicas y es utilizada para comprobar para la importación y/o exportación (OIE, 2013). Esta prueba detecta anticuerpos aglutinantes en suero de sospechosos o enfermos (Feraud, 2005). Es una prueba compleja difícil de realizar e interpretar; requiere una persona con gran experiencia, la variación entre los laboratorios es alta (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005). Los antígenos a utilizar deben tener un representante de cada serogrupo, donde se debe tener serovares aislados localmente, incluyendo uno de los serovares de *L. biflexa* (Céspedes, 2005; Sandow y Ramírez, 2005). Para realizar la prueba se debe incubar el suero del paciente con el antígeno de los serovares de leptospira, luego la mezcla se examinará en un microscopio de campo oscuro para observar la aglutinación y finalmente determinar su titulación (Céspedes, 2005). El criterio estándar para un MAT positivo es un aumento de cuatro veces en el título de anticuerpo, o una conversión de ser negatividad a un título de 1/100 o superior (Bharti *et al.*, 2003; Céspedes, 2005; Sandow y Ramírez, 2005).

La técnica de ELISA, tiene la capacidad de diagnosticar leptospirosis dependiendo cuándo se tomaron las muestras de suero sanguíneo, de la exposición a leptospira (niveles residuales de IgM) y del potencial de reactividad cruzada de IgM con otras enfermedades (Slack, 2010). Puede detectar IgM durante la primera semana de la enfermedad antes que la MAT (Sandow y Ramírez, 2005; García *et al.*, 2013), aunque puede llegar a ser negativa más tempranamente (García *et al.*, 2013); y la detección tardía de IgG que permite diferenciar infecciones recientes de pasadas (Sandow y Ramírez, 2005). No existe un método ELISA específico de IgG de leptospira, sin embargo, la confirmación de la infección se puede realizar usando la prueba de aglutinación microscópica (MAT) (Slack, 2010).

#### 2.2.6) Tratamiento

El objetivo del tratamiento es eliminar los organismos del tejido además de la sangre y la orina (Goldsteine, 2010), y controlar la infección antes de que el daño sea irreparable en el hígado y riñón (Sandow y Ramírez, 2005; Guerra 2009). El tratamiento de la leptospirosis aguda en animales individuales o en rebaños depende del uso de antibióticos más un tratamiento sintomático de apoyo (Goldsteine 2010; Ellis, 2015), como la aplicación de: fluidoterapia, analgésicos, transfusión sanguínea, sueros hiperinmunes, entre otros (Sandow y Ramírez, 2005; Guerra, 2009; Ellis, 2015). Los principios son los mismos para todas las especies, pero los antibióticos utilizados pueden variar según su seguridad en una especie en particular, su disponibilidad en un país en particular, el costo y la vía de administración (Ellis, 2015).

Las leptospiras son sensibles a prácticamente todos los antibióticos, con excepción de las sulfonamidas y el cloranfenicol. Sin embargo, la mayor limitación de estos es que no eliminan el estado del portador renal (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005). Los antimicrobianos más utilizados son la dihidroestreptomicina, penicilina, estreptomicina, ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de tercera generación, tetraciclina, oxitetraciclina o clortetraciclina (Alonso *et al.*, 2001; Sandow y Ramírez, 2005; Spickler y Leedom, 2013; Ellis, 2015). El antibiótico de elección para el tratamiento del cuadro agudo es la combinación de penicilina y estreptomicina.

Los antibióticos también tienen un papel en la enfermedad crónica. Se debe considerar el tratamiento sistémico con penicilina y estreptomicina frente a una tormenta abortiva en cerdos, mientras que, en el ganado en la misma situación, la estreptomicina se puede administrar a los animales lecheros en gestación tardía que ya se han secado o están a punto de hacerlo. La vacunación también se debe dar a todos los animales en riesgo. Se ha demostrado que el tratamiento con una cefalosporina de tercera generación es útil ante el tratamiento de la uveítis recurrente equina (URE). El uso de tetraciclinas como suplemento alimenticio se ha usado ampliamente para el control de la leptospirosis clínica en cerdos. Si bien suprime los signos clínicos, no proporciona una cura microbiológica. Una combinación de penicilina y estreptomicina en diluyente de semen es efectiva para matar leptospiras (Ellis, 2015).



La administración de antibióticos en ocasiones puede producir efectos tóxicos en el cuy, ya que estos son muy sensibles a los cambios, principalmente si están relacionados con elementos que lleguen a su estómago. Una de las posibles complicaciones que siguen a la administración de antibióticos es caracterizada por una perturbación en el microbiota intestinal. El microbiota bacteriano, que es principalmente anaeróbica, sufre cambios que permiten que especies residentes proliferen y produzcan potentes toxinas que alteran la función de la mucosa e inducen necrosis epitelial (Collins, 1995). La toxicidad podría estar relacionada con el sobre crecimiento de toxinas de bacterias gramnegativas, o citotoxina de *C. difficile*, que han sido aisladas de los contenidos fecales de cuyes que murieron tras tratamiento con penicilina (Morris, 1995). Ha sido demostrado que los clostridios deben estar presentes antes de comenzar con el tratamiento, poco tiempo antes de que se desarrolle la enterocolitis por antimicrobianos (Morris, 1995).

### 2.2.7) Control y prevención

El control de leptospirosis se ha visto dificultado ya que este puede albergarse y ser expulsado a través de la orina de animales los cuales se mantienen en estado de portador (Dammert, 2005; García *et al.*; 2013). La prevalencia de leptospirosis entre los animales (2-46%) indica que, para minimizar su impacto económico, la infección debe controlarse principalmente entre los animales productores de alimentos. Su control en los animales disminuirá las posibilidades de infección de los cuidadores de animales y la contaminación ambiental, posiblemente disminuyendo la propagación de serovares patógenos en la naturaleza. Aunque la infección no puede eliminarse, ni en el medio rural, ni en la naturaleza, porque está muy difundida, los esfuerzos para disminuir la prevalencia de serovares patógenos podrían beneficiar a los agricultores y al público (Burriel, 2010).

Los principios de control son los mismos para la mayoría de las especies animales y se basan en la interrupción de la transmisión directa e indirecta de la infección. Las variaciones ocurren en los métodos particulares usados, dependiendo de la facilidad de acceso a los animales, los números involucrados, las herramientas disponibles y la viabilidad económica del control. El control puede ser necesario no solo para controlar la infección en una especie en particular sino también para reducir el riesgo zoonótico (Ellis, 2015).

Para la prevención y control debe de tenerse en cuenta a las medidas de protección y los aspectos relacionados con el reservorio (Dammert, 2005), teniendo en cuenta la ubicación, el número de animales, las serovariedades infectantes, los huéspedes de mantenimiento, los medios de transmisión, los factores de riesgo y las opciones de control disponibles. Se requiere buena información de vigilancia. Esto puede provenir de la vigilancia de enfermedades a través de servicios de diagnóstico, encuestas seroepidemiológicas o datos basados en el cultivo sobre las tasas de prevalencia en poblaciones de animales silvestres y / o domésticos, o de combinaciones de estas metodologías. La vigilancia debe priorizar especies en las que se han identificado pérdidas económicas, especies con una historia conocida de mantenimiento de leptospiras, y especies nuevas identificadas en estudios epidemiológicos de enfermedades

humanas. Esto establece la importancia relativa de los serovares y las especies hospedadoras lo que conduce a la posibilidad de reducir / gestionar los factores de riesgo, los programas de vacunación, los programas de control de roedores y los programas de sanidad animal (Ellis, 2015).

El tipo de programa de control varía según los objetivos: control de la enfermedad clínica, población inmunitaria o erradicación que deja a una población susceptible (Ellis, 2015). Las herramientas para el control incluyen: vacunación, notificación del caso, terapia con antibióticos, evaluación del estado de manada / población (perfil), identificación, aislamiento y eliminación de animales infectados, control de roedores, desinfección de artículos contaminados con orina, reducción de factores de riesgo a través de sistemas de gestión y permutaciones de todos estos métodos (García *et al.*; 2013; Ellis, 2015).

La vacunación es el método de elección para el dueño del perro o el agricultor comercial que quiere una población de animales inmunes en lugar de una población susceptible. Aunque su uso está limitado por la disponibilidad, el gasto, la calidad y la idoneidad de los antígenos en la vacuna en términos de relevancia para la especie y el país (Ellis, 2015), están ampliamente disponibles para cerdos, ganado y perros (Spickler y Leedom, 2013; Ellis, 2015).

En algunos países, las vacunas también pueden autorizarse o utilizarse en otras especies, como ovejas, cabras o ciervos de granja (Spickler y Leedom, 2013), siendo la herramienta de control a elección para algunos autores (Ellis, 1994); sin embargo, tiene como desventaja que las vacunas comerciales son bacterinas las cuales no proporcionan una protección cruzada frente a otros serovares, permitiendo una limitada protección frente a cepas del mismo serovar (Alonso *et al.*, 2001). Se ha visto demostrado en diversos estudios que la vacunación frente al serovar hardjo no evita la infección, la persistencia de la infección renal, la migración del útero y oviducto, ni la eliminación en la orina. A pesar de esto es un importante factor para el sistema de control en los rebaños (Alonso *et al.*, 2001).

Las medidas de control ambiental y el saneamiento también pueden reducir el riesgo de infección, aunque su practicidad varía con la especie y la situación del huésped (Spickler y Leedom, 2013), ya que disminuyen los factores de riesgo. Mediante una adecuada planificación de los terrenos y edificios, se puede minimizar el acceso a otros animales y al suministro de agua contaminada. La gestión de los animales añadidos es importante en los rebaños que tienen un programa de control. Los animales traídos deben ser puestos en cuarentena y tratados con antibióticos, la inseminación artificial debe ser utilizada en lugar del servicio natural. Los animales deben comprarse en rebaños con un estado de salud similar. Se debe evitar el pastoreo o la mezcla con otros hospedadores, por ejemplo, ganado con ovejas. Evite el acceso a fuentes de agua comunes (Ellis, 1994; Spickler y Leedom, 2013; Ellis, 2015).

En el pasado, se ha demostrado que el tratamiento adecuado aumenta marcadamente las posibilidades de sobrevivir a la leptospirosis y reduce el número de días de enfermedad (Hartskeer *et al.*, 2011). Cuando se ha establecido una infección activa en un rebaño, a menudo se usan antibióticos al comienzo de un programa para reducir o eliminar la infección de animales portadores antes de iniciar un programa de vacunación o prueba y erradicación (Ellis, 2015).

El control de roedores (y otros animales) es muy importante en la leptospirosis porcina y equina (Ellis, 2015), pero solo se puede lograr mediante un manejo constante e intensivo de las poblaciones (por ejemplo, el control de la rata almizclera en los Países Bajos). El uso de rodenticidas es arriesgado (generación de una población resistente) y necesita experiencia en la composición y aplicabilidad de dichos agentes de control (Hartskeer *et al.*, 2011).

Las medidas higiénicas- sanitarias son esenciales para el control de la enfermedad dentro del rebaño, basándose en el control de los hospedadores domésticos y silvestres (Ellis, 1994). Entre las principales recomendaciones ha de considerarse la educación y difusión a la población, esencialmente las zonas de alto riesgo, sobre la forma de contagio y prevención de la enfermedad. Debe de impedirse el ingreso de animales ajenos a la granja a los galpones o almacenamiento de alimentos, se debe de tener control ecológico de la población animal salvaje. Se debe hacer énfasis en la higiene y desinfección en los ambientes del manejo animal, así como un buen drenaje o relleno de terrenos bajos. Se debe tener una correcta disposición, colecta y eliminación de los residuos, tratamiento específico de personas y animales enfermos; desratización general, entre otros (Sandow y Ramírez, 2005; Slack, 2010).

Los médicos Veterinarios y trabajadores deben estar obligados a tener ciertas precauciones en su vestimenta (guantes, mascarillas, batas y protectores oculares), para la reducción de riesgo de exposición a agentes patológicos (Dammert, 2005). También debe de llevarse un manejo apropiado del material utilizado y manejo de residuos patógenos (limpieza, desinfección y esterilización del instrumental), para disminuir y destruir toda forma de vida microbiana. La orina debe ser limpiada usando guantes y un desinfectante a base de yodo (Dammert, 2005).

## II) MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1) LOCALIZACIÓN

El trabajo de campo se realizó en granjas de una asociación los cuales cuentan con un manejo intensivo de la producción de cuyes para consumo; estas están ubicadas en el distrito de Concepción, provincia de Concepción, departamento de Junín, Perú.

La asociación cuenta con aproximadamente 125 productores, los cuales cuentan con un aproximado de 75 madres cada uno.

El clima en la provincia de Concepción presenta una temperatura que varía entre 5 °C y 20 °C; rara vez baja a menos de 3 °C o sube a más de 22 °C. La temporada templada dura 2,7 meses, del 17 de septiembre al 8 de diciembre, y la temperatura máxima promedio diaria es más de 19 °C. La temporada de lluvia dura 3,8 meses, del 4 de diciembre al 30 de marzo (Weatherspark, 2016). La temperatura promedio de los meses en los que se realizó la investigación fue entre 9.3-11.2°C, teniendo como temperatura mínima 5.3°C y temperatura máxima los 15.8°C

A nivel de las granjas de la asociación, se cuenta con un sistema de bioseguridad el cual es homogéneo como consecuencia de las capacitaciones que los socios reciben periódicamente, como el uso de la desinfección sus calzados de los operarios (pediluvio), prohibición de ruidos y movimientos fuertes dentro de los galpones, la restricción del ingreso únicamente para el personal autorizado, impidiendo el ingreso de personas y/o animales extraños, y finalmente la prohibición de alimentarse o fumar dentro de las instalaciones.

Por otro lado, las muestras se procesaron mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT) en el laboratorio de microbiología y microscopia de la Universidad Científica del Sur.

### 3.2) POBLACIÓN Y MUESTRA

Se realizó el muestreo de 138 hembras reproductoras de primer, segundo, tercer y cuarto parto de la especie *Cavia porcellus*, de líneas mejoradas, y con historial de abortos de las granjas de la asociación. Fueron elegidos los animales con historial de abortos,

representando el 100% de los abortos durante los meses de mayo a julio del año 2017, y fueron destinados a sacrificio por sus propietarios.

### 3.3) DISEÑO EXPERIMENTAL

El estudio es de tipo descriptivo, prospectivo y transversal, que permita evaluar la presencia de los anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en cuyes con historial de abortos por medio de la prueba de aglutinación microscópica (MAT) en crianza intensiva de la asociación en estudio.

### 3.4) PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO

Primero se realizó un examen clínico a los animales para determinar su estado sanitario. Luego de esto se seleccionó al azar a aquellos animales con historial de abortos aparentemente sanos, para poder realizar el beneficio de estos. Se utilizó guantes y mascarillas para evitar la contaminación de la muestra. Las muestras se obtuvieron por un corte en la yugular, previa limpieza y desinfección de la zona, en donde se obtuvieron 5 ml de sangre en tubos sin anticoagulante, los cuales fueron almacenados por 2 h a 4 °C, para luego ser centrifugados a 5000 rpm por 5 min para la separación del suero, los cuales se envasaron en crioviales eppendorf de 1,5 ml con su debida identificación y se almacenaron en congelación a 0 °C hasta su remisión. Fueron transportados en coolers cada 15 días en horas de la noche y recibidas a primera hora en Lima, luego eran llevados al laboratorio de microbiología de la Universidad Científica del Sur en donde se almacenaron nuevamente a 0 °C hasta el procesamiento de la prueba de aglutinación microscópica (MAT) en el mismo laboratorio.

En la prueba de aglutinación microscópica (MAT) se evaluó la presencia de anticuerpos contra los serovares de *Leptospira interrogans*. Se basó en el manual de procedimientos del Instituto Nacional de Salud (INS, 2002) en donde se realizó:

#### *El Tamizaje.*

Preparación de diluciones separadamente del suero 1/50, 1/100, 1/200 en un volumen final de 1,5 mL con SSF en un tubo de dilución. Se distribuyó la microplaca en 8 columnas para la dilución de suero y 24 filas para los antígenos, donde se agregó 50 µl a cada pocillo de la dilución de suero 1/50 en la primera y quinta columna. Se agregó 50 µl a cada pocillo de la dilución de suero 1/100 en la segunda y sexta columna. Se agregó 50 µl a cada pocillo de la dilución de suero 1/200 en la tercera y séptima columna. Se agregó 50 µl a cada pocillo de solución salina fisiológica (SSF) en la cuarta y octava columna para el control del antígeno. En cada pocillo de la primera fila (columna 1, 2, 3 y 4), se agregó el antígeno correspondiente al primer serogrupo, en donde la dilución de suero sería el doble. Posterior a la adición de los antígenos, se colocó la microplaca sobre

el shaker y se roto a una revolución de 500 rpm durante cuatro segundos para que la muestra de suero y antígeno se mezclen adecuadamente. Se cubrió la microplaca con papel platino y se incubo por 2 horas a 30°C.

#### *La titulación.*

Después de realizar el tamizaje de las muestras, si se observó la dilución que presentara aglutinación igual o mayor a 2+ con uno o más serogrupos, se tituló el suero. Se preparó una placa de micro titulación, se rotulo el código de los serovares en las filas y en las columnas y se anotaron las diluciones correspondientes que empiezan con 1/50, 1/100 hasta 1/51200. A partir de la segunda columna, se agregó 50 µl de SSF hasta la columna 12. Se diluyo el suero en una dilución 1/25 con SSF en un volumen final de 1mL. Se agregó 50 µl del suero diluido 1/25 en las dos primeras columnas. Usando una micropipeta multicanal, se mezcló el suero diluido con SSF en la segunda columna, luego se extrajo 50 µl y vertió en la tercera columna y, así sucesivamente, se continuó con todas las diluciones a lo largo de la fila, hasta la décimo primera columna. Se descartó los últimos 50 µl y se dejó libre la décimo segunda columna, la que se usó como control de antígeno. En cada fila, se agregó 50 µl del correspondiente antígeno. Se colocó la microplaca sobre el shaker y roto a una revolución 500 rpm durante cuatro segundos. Se cubrió la microplaca con papel platino y se incubo por 2 horas a 30°C.

#### *Lectura.*

Utilizando las puntas de la micropipeta se extrajo 15 µl de mezcla antígeno-suero y 15 µl del control, se traspasó a una lámina porta-objeto. La lectura se realizó utilizando un microscopio de campo oscuro con objetivo de 10X, sin utilizar cubre-objetos. Se observó el grado de aglutinación de cada antígeno en relación con el antígeno control. El titulo final estuvo dado por la dilución del suero que presenta 50% de aglutinación de las bacterias observadas en el campo. Cuando una muestra es negativa, no se presenta aglutinación, observándose la muestra de suero igual al antígeno control.

#### *Interpretación.*

Un suero se considera positivo cuando se observa una aglutinación de 2+ (50% de bacterias aglutinadas) en una dilución de suero igual o mayor a 1/100. Un suero se considera negativo cuando no se observa aglutinación con ningún serovar de *Leptospira* en una dilución de suero menor a 1/100.

### **3.5) MATERIALES Y EQUIPOS**

Los materiales a utilizar fueron tubos de ensayo estériles sin aditivos de 6 ml, crioviales de 2 ml, jeringas de 1 ml, tubos con medio de transporte y guantes de látex, utilizados durante el muestreo.

Los materiales y equipos de laboratorio fueron una estufa de incubación, microscopio de campo oscuro, microplacas de poliestireno, micropipetas rango graduable 2-20  $\mu\text{l}$ , 10-100  $\mu\text{l}$  y 100-1000  $\mu\text{l}$ , micropipeta multicanal 30-300 ml, reloj, potenciómetro, rotador o shaker, puntas para micropipetas, tubos de dilución, láminas porta-objetos, laminillas cubre-objetos, solución salina fisiológica 0,85%, antígeno de leptospiras de 5-7 días de crecimiento y un contenedor de material contaminado.



#### IV. RESULTADOS

En los 138 cuyes muestreados, se presentaron el 38% (53/138) animales seropositivos a anticuerpos contra *L. interrogans*, con una titulación de 1/100 para el 83% (44/53), y 1/200 para el 17% (9/53) de las muestras evaluadas

El serovar que presentó una mayor prevalencia entre los cinco grupos durante el muestreo fue *L. icterohaemorrhagiae* 17% (23/138), seguido de *L. canicola* 11% (15/138), *L. pomona* 10% (14/138), *L. hardjo* 1% (1/138) y por último *L. bratislava* 0% (0/138). Entre estos hubo 3 casos en los que se identificó infecciones dobles por *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola* (Cuadro 1).

Cuadro 1: Serotipos encontrados en cuyes con historial de abortos en crianza intensiva del distrito de concepción (n=138)

SEROVAR	Total Positivos	Seroprevalencia %	± IC 95%
Icterohaemorrhagiae	23	16.7	6.22
Canicola	15	10.9	5.20
Pomona	14	10.1	5.03
Hardjo	1	0.7	1.39
Bratislava	0	0	0
Total	53	38.4	8.11



## V. DISCUSIÓN

En los resultados obtenidos se reporta que en los cuyes con historial de abortos existe un 38% (53/138) de animales seropositivos a anticuerpos contra *L. interrogans* detectados mediante la prueba de MAT, indicando que estos animales estuvieron expuestos potencialmente a infecciones naturales por leptospira, posiblemente debido al manejo sanitario, resaltando que estos animales no son vacunados (Morter, 1958). La alta frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira sp.* detectada, indica que la leptospira es una bacteria con una importante distribución en la población muestreada. La colección de las muestras fue de hembras que solo presentaban historial de abortos, significando que este fue el único signo presentado y que aparentemente estuvieron con un buen estado de salud. La infección de los cuyes por *Leptospira sp.*, puede ser de tipo subclínico o crónico (Ellis, 1994; Spickler y Leedom, 2013), lo cual explicaría en parte, este resultado.

La información reportada alrededor del mundo acerca de la seropositividad contra *Leptospira interrogans* varía dependiendo del tipo de manejo, sistema de crianza, región geográfica, lugar de muestreo, entre otros (Bharti *et al.*, 2003), de igual manera los serovares de leptospira incluidos en la prueba serológica, ya que la transmisión de la enfermedad se ve afectada por una gran variedad de factores tales como la temperatura y la humedad, siendo condiciones que permitirán a la bacteria a sobrevivir fuera del hospedador, favoreciendo su diseminación (Alonso *et al.*, 2001); A pesar de que las temperaturas óptimas para el crecimiento de la leptospira están entre 20 a 30 °C (Feraud, 2005); mientras que la temperatura media de los meses de muestreo de la provincia de Concepción es de 13°C. Por otro lado, las leptospiras se encuentran principalmente en ambientes con abundantes precipitaciones (Waktole *et al.*, 2016), siendo la región tropical donde mayormente es reportada (Alonso *et al.*, 2001); la provincia de Concepción podría favorecer el crecimiento de la bacteria, relacionada a la mayor precipitación que se da durante los meses de verano.

El país en el año 2017, se vio afectado por fuertes lluvias, inundaciones y huaycos; donde se notificó tres veces más casos de leptospirosis en humanos que durante el año 2016 (Yon, 2017); justificando esto por la mayor viabilidad de las leptospiras patógenas en el ambiente, debido a que las lluvias permiten la proliferación de la fuente de infección y convierten al agua en medios de diseminación en los lugares contaminados con orina de roedores, perros, entre otros animales. Flores *et al.* (2009), realizó un estudio en ovejas

en Junín en el 2003, en donde obtuvo resultados seropositivos a *L. ballum* 41.3%, *L. icterohaemorrhagiae* 31.2%, *L. pomona* 4.6%, *L. grippotyphosa* 2.8%, *L. canicola* 0.9%, sustentando que estos agentes se encuentran distribuidos en la zona y poseen óptimas condiciones para su crecimiento como es la humedad, suelo neutro a ligeramente alcalino, entre otros factores; así mismo, la presencia de roedores, animales domésticos o silvestres en los cuales la infección es de carácter subclínico, pero con leptospiuria, teniendo la capacidad de contaminar el agua y pastos de la zona; por lo que también justificaría que las lluvias ocurridas en el año 2017 fueron las causantes de la mayor frecuencia reportada en este estudio.

En este estudio se obtuvo una seropositividad del 38% (53/155) y los serovares detectados con mayor frecuencia en cuyes con historial de abortos en crianza intensiva del distrito de Concepción fue *L. icterohaemorrhagiae* 17% (23/138), seguido de *L. canicola* 11% (15/138), *L. pomona* 10% (14/155), *L. hardjo* 1% (1/138) y por último *L. bratislava* 0% (0/138); siendo la frecuencia de anticuerpos parecida a las reportadas por Vexelman (2016) en el departamento de Lima, a partir del suero sanguíneo de cuy, en donde se obtuvo una seropositividad del 31.61%, considerando que tenían una adecuada condición climática para el crecimiento de leptospira, y se identificó los serovares *L. icterohaemorrhagiae* 20.65% (32/155), *L. pomona* 7.09% (11/155), *L. canicola* 5.16% (8/155), *L. hardjo* 1.29% (2/155), *L. bratislava* 0%. Al igual que Vexelman (2016), la mayor seropositividad fue de *L. icterohaemorrhagiae* y tampoco se detectó *L. bratislava*, a pesar de que en crianzas porcinas con problemas reproductivos usualmente la prevalencia se incrementa, a nivel de cuyes esto podría cambiar la perspectiva, ya que el muestreo utilizado por Vexelman no fueron hembras con historial de abortos.

La frecuencia del serovar *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona* y *Canicola* ha sido reportada en varios estudios en el Perú. Los roedores son hospedadores naturales del serovar *Icterohaemorrhagiae*, pero este serovar posee la capacidad de infectar a cualquier especie animal (Anampa, 2010). Es conocido que en los establecimientos de crianza animal existe la presencia de roedores cuando las medidas de bioseguridad son deficientes. El serovar *Canicola* como *Icterohaemorrhagiae*, pueden ingresar o estar cerca de los establecimientos para poder infectar a otros animales (Anampa, 2010). Flores (2009), realizó un estudio en ovejas en Junín (2003), en donde tuvo resultados seropositivos elevados a *L. icterohaemorrhagiae* 31.2%, demostrando que *L. icterohaemorrhagiae* predomina en la zona. Ambos estudios, fueron realizados con animales alimentados por sus propias pasturas, por lo que puede significar que el control de roedores es bajo; por lo tanto, la infección por este serovar es más alta. Finalmente, en un estudio en el valle del Mantaro, se reportaron anticuerpos contra el serovar *canicola* (2.8%) en humanos, bovinos y perros (Céspedes *et al.*, 2005), mostrando su importancia en las diferentes especies hospedadoras.

Algunos de los animales muestreados reportan tener más de un serovar, siendo la combinación *Icterohaemorrhagiae* y *Canicola* los más predominantes. Un hospedador puede ser infectado por más de un serovar, debido a que los anticuerpos son frente a

serovares específicos; sin embargo, cuando los títulos de los anticuerpos son bajos pueden tener una reacción cruzada con miembros de otro serogrupo, lo cual no ocurre en títulos altos. Los títulos de anticuerpos mayores a 1/200 indican infecciones por los respectivos serovares (Anampa, 2010).

Los títulos de anticuerpos reportados en los animales positivos fueron hasta de 1/200. Según el Instituto Nacional de Salud (2002), las reacciones se consideraron positivas cuando alcanzaban un título de 1/100 o más. Los títulos relativamente bajos como 1/100, son resultados confirmatorios de la infección sobre todo en especies donde no se utilizan planes de vacunación. Es importante realizar un análisis completo de los resultados y el historial del paciente, pues el uso de vacunas en algunas especies puede generar detección de positivos por la prueba (MAT), siendo capaces de producir títulos máximos de 1/200, considerándose falsos positivos (Siuze, 2014). Sin embargo, para la especie estudiada, este no sería el caso. Además, los títulos relativamente bajos, pueden indicar una infección reciente o inicial, como también una exposición anterior o crónica (Morter, 1958); por lo que es importante utilizar los datos compatibles con el cuadro clínico (Cano, 2012; González, 2015), para un mejor análisis y seguimiento de los casos. Considerándose, los títulos de anticuerpos contra *Leptospira*, positivos a partir de la dilución de 1/100.

La asociación entre la seropositividad en hembras a *Leptospira spp.* y su rendimiento reproductivo se ha demostrado en varios estudios. Los serovares Pomona y Hardjo son descritos como los más endémicos ocasionando abortos, mortinatos o nacimiento de crías débiles (Santos *et al.*, 2008; Betancur *et al.*, 2013; Quinn *et al.*, 2016); siendo Hardjo el más frecuente a nivel mundial en vacas (Cachata, 2006; Hashimoto *et al.*, 2017), ovejas y corderos (Bautista *et al.*, 2014). En cerdas, la asociación entre seropositividad a Canicola e Icterohaemorrhagiae frente al rendimiento reproductivo (Santos *et al.*, 2008; Quinn *et al.*, 2016); Bratislava se ha visto asociado con parámetros que indican subfertilidad y un número reducido de lechones nacidos por camada (Santos *et al.*, 2008; Quinn *et al.*, 2016), siendo localizados en oviductos y úteros de las cerdas, seguido de episodios de abortos con lechones infectados (Medina, 2008); de la misma manera se ha observado en caballos (Quinn *et al.*, 2016). Por esta razón, se realizó el estudio con los serovares Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Canicola y Bratislava en cuyes con historia de abortos; sin embargo, no se ha determinado que el evento de aborto sea causado por la seropositividad a algún serovar.

## VI) CONCLUSIÓN

Los serovares de *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *pomona*, y *hardjo* están presentes en cuyes reproductoras con historial de abortos en crianza intensiva del distrito de Concepción, Junín

## VII) RECOMENDACIONES

Realizar estudios para determinar la presencia y distribución de las diferentes serovariedades de *Leptospira interrogans* en los cuyes a nivel nacional.

Realizar estudios en el útero de cuyes con pérdidas reproductivas para la determinación de la participación de la leptospira como patógeno.

Realizar estudio caso control y estudio de determinación de factores de riesgo en donde se contemple época, raza, ubicación geográfica, tipo de crianza, entre otros.

## VIII) BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Alonso C, García F, Ortega L. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.2001. 16(2): 205-222.
- Anampa L. Frecuencia de *Leptospira sp.* en Porcinos de Crianza Tecnificada y no Tecnificada del Valle de Lima Beneficiados en Dos Mataderos de la Ciudad de Lima. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 2010.
- Aréstegui D. Buenas Prácticas Pecuarias en la Crianza de Cuyes. Ministerio de Agricultura. 2009. 1-67.
- Bautista L, Suarez F, Huanca W. Seroprevalencia de Leptospirosis en ovinos de dos ganaderías de Puno, Perú. Rev Inv Vet Perú. 2014. 25(2): 324-328
- Betancourt R, Vizcaíno D. Guía de Buenas Prácticas Pecuarias en la Producción de Cuyes. Ministerio De Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. 2013. 1(1): 11-13.
- Betancur C, Orrego A, González M. Seroepidemiología de la leptospirosis en bovinos con trastornos reproductivos en el municipio de Montería, Colombia. Rev Med Vet. 2013. 26: 47-55
- Bharti A, Nally J, Ricaldi J, Matthias M, Diaz M, Lovett M, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis.2003. 3(12): 757-769.
- Brabb T, Newsome D, Burich A, Hanes M. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. 1st ed. London: American College of Laboratory Animal Medicine; 2012. 637-676
- Burriel A. Leptospirosis: An Important Zoonotic Diseases. Current Research, Technology, and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. España. 2010. 1(1): 87-91.
- Cabetas C. Hablemos de... Bioseguridad. Control de roedores. Albéitar. 2015. 189: 15-24



- Cachata S. Prevalencia de la leptospirosis bovina en dos distritos de la provincia de Puno – Puno. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 2006.
- Cano C. Caso clínico de Leptospirosis en un canino. Tesis de Médico Veterinario. Caldas. Corporación Universitaria Lasallista. 2012.
- Céspedes M. Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Reemergente. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2005. 22 (4): 290-303
- Céspedes M, Balda L, González Q, Tapia R. Situación de la Leptospirosis en el Perú 1994-2004. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2006. 23 (1): 56-64.
- Chauca L. Crianza de Cuyes. INIA. 1994. 1(1): 3-26.
- Chauca L. Producción de Cuyes (*Cavia porcellus*). FAO. 1997. 1-121.
- Collins B. Drogas antimicrobianas usadas en conejos, roedores y otros mamíferos pequeños. AMMVEPE. 1995. 33(1): 404-409
- Dammert N. Leptospirosis: una revisión bibliográfica. Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2005. 1-21
- Dutta T, Christopher M. Leptospirosis – An Overview. J Assoc Physicians India. 2005. 53(1): 545-550.
- Ellis W. Bovine Leptospirosis in the Tropics: Prevalence, Pathogenesis and Control. Prev Vet Med. 1984. 2(1): 411-421.
- Ellis W, O'Brien J, NEILL S, Bryson D. Bovine Leptospirosis: Experimental Serovar Hardjo Infection. Vet Microbiol. 1986. 11(1): 293-299
- Ellis W. Leptospirosis as a Cause of Reproductive Failure. Vet Clin North Am., 1994. 10(3): 463-478.
- Ellis, W. Animal Leptospirosis. Curr Top Microbiol Immunol. 2015. 387: 99-137.
- Evangelista K, Coburn J. Leptospira as an Emerging Pathogen: a Review of its Biology, Pathogenesis and Host Immune Responses. Future Microbiol. 2010. 5(9): 1413–1425.
- Feraud D. Primer Reporte en Cuba de *Leptospira interrogans* serovar Tarassovi y Caracterización Clínica Epizootiológica en Focos de Leptospirosis Porcina. Rev Electrón Vet. 2005. 6(4): 1-20.
- Flores A, Rivera H, Gavidia C. Asociación entre Infección Leptospiral y Problemas Reproductivos en Ovejas de una Empresa Ganadera en la Sierra Central del Perú. Rev Inv Vet Peru. 2009. 20(1): 120-127.
- Fondo De Cooperación Para El Desarrollo Social [FONCODES]. Crianza de cuyes. Ministerio del Desarrollo e Inclusión Social. 2014. 4(1): 4-42.

- García R, Reyes A, Basilio D, Ramírez, M, Rivas B. Leptospirosis; un Problema de Salud Pública. *Rev Latinoamer Patol Clin*. 2013. 60(1): 57-70.
- Goldstein R. Canine Leptospirosis. *Vet Clin Small Anim*. 2010. 40(1): 1091-1101.
- Guerra M. Leptospirosis. *J Am Vet Med Assoc*. 2009. 234(4): 472-476.
- Harkness J, Murray K, Wagner J. Biology and Diseases of Guinea Pigs. *Laboratory Animal Medicine*. 2002. 2(1):203-242.
- Hartskeerl R, Collares M, Ellis W. Emergence, Control and Re-emerging Leptospirosis: Dynamics of Infection in the Changing World. *Clin Microbiol Infect*. 2011. 17(4): 494 – 499.
- Hashimoto V, Torres R, Ribeiro J, Alcindo A, da Costa G, de Padua U, de Freitas J. Serological and molecular findings in diagnosis of leptospirosis serovar hardjo in a dairy bovine herd. *Semin Cienc Agrar*. 2017. 38 (5): 3155-3164.
- Instituto Nacional de Salud [INS]. Manual de Procedimientos Bacteriológico y Serológico para el Diagnóstico de la Leptospirosis. MPR-CNSP-009. 2002. 33-39.
- Kositant V, Nalsowit P, Imuithaya A, Singchai C, Puthuana P. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in rodents and shrews trapped in low and high endemic areas in Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2003. 86(2): 136-42.
- Levett P. Systematics of Leptospiraceae. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015. 387(1): 11-20
- Lilenbaum W, Martins G. Leptospirosis in Cattle: A Challenging Scenario for the Understanding of the Epidemiology. *Transbound Emerg Dis*. 2014. 1(1): 63–68.
- Marinho M, Cardoso T. Pathogenesis of Leptospirosis: Important Issues. *J Med Microb Diagn*. 2014. 4(1): 1-2.
- Medina A. Determinación De La Presencia De Anticuerpos Contra *Leptospira Interrogans* En Cerdas De Cinco Granjas Tecnificadas De Guatemala, Utilizando La Prueba De Microaglutinación (MAT). Tesis de Médico Veterinario. Guatemala. Universidad De San Carlos De Guatemala. 2008.
- Mercado S. Frecuencia De Presentación De Sueros Positivos A *Leptospira*. En Perros De La Comuna De La Pintana. Tesis de Médico Veterinario. Chile. Universidad De Chile. 2017.
- Morales S. Patógenos oportunistas por transmisión fecal-oral en cuyes reproductores introducidos al distrito de San Marcos. *Rev Científica* 2012; 9 (1): 33-38.
- Morales S. Enfermedades emergentes en la producción de cuyes en el Perú. En: XXXVI Reunión Científica Anual APPA. Lima: Asociación Peruana de Producción Animal. 2013.

- Morales S. Principales Enfermedades que Afectan a los Cuyes y Manejo Sanitario. Revista del Colegio Médico Veterinario Departamental de Lima. 2017. 3(7): 15-17.
- Morales-Cauti S. 2018. Enfermedades emergentes en la producción de cuyes en el Perú. En: XLI Reunión Científica Anual APPA. Lima: Asociación Peruana de Producción Animal.
- Morris T. Terapias antibióticas en animales de laboratorio Lab Anim. 1995. 29 (1): 16-36.
- Morter R. Interpretation for Serological Tests for Leptospirosis. Iowa State University Veterinarian. 1958. 20(3): 87-88
- Pampa F. Guía de Producción de Cuyes. CARE. 2010. 1(1): 11-16.
- Parra J, Rodríguez G, Díaz C. Estudio Preliminar Serológico de *Leptospira spp.* en un Rebaño Ovino de la Sabana de Bogotá. Rev Med Vet. 2016. 32(1): 11-20.
- Picardeau M. Genomics, Proteomics, and Genetics of *Leptospira*. Curr Top Microbiol Immunol. 2015. 387(1): 43-64.
- Quinn P, Markey B, Leonard F, FitzPatrick E, Fanning S, Concise Review of Veterinary Microbiology. 2e. Uk: Wiley-Blackwell; 2016.
- Rigby C. Natural Infections Of Guinea-Pigs. Lab Anim. 1976. 10(1): 119-142.
- Rodríguez I. El Concepto Serovar en *Leptospira* (The Concept Serovar in *Leptospira*). Rev. Electrón. vet. 2011. 12(7): 1-3.
- Sandow K, Ramírez W. Leptopirosis. Rev Electrón vet. España. 2005. 6(6): 1-61.
- Santos S, Martins F, de Moraes Z, Pinheiro S, Americo C, Vuaden E, Arruda S. The effects of the leptospiral infection on reproductive performance in sows. Vet. Arhiv. 2008. 78 (1): 13-21.
- Siuce J. Identificación De Serogrupos Patogenos De *Leptospira spp.* En Caninos Domésticos. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 2014.
- Slack A. Leptospirosis. Australia n Famil y Physicia. 2010. 39(7): 495-497.
- Spickler AR, Leedom Larson KR. Leptospirosis. The Center for Food Security & Public Health. 2013. 1 (1): 1-10.
- Vexelman D. Detección de anticuerpos contra los serovares *L. icterohaemorrhagiae*, *L. bratislava*, *L. pomona*, *L. hardjo* y *L. canicola* en cuyes de crianza intensiva en Lima. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Universidad Científica del Sur. 2010.
- Waktole Y, Bashahun N, Nejash A. Leptospirosis in Animal and its Public Health Implications: A Review. World Appl Sci. 2016. 34 (6): 845-853.

- Weatherspark [homepage en Internet]. Minneapolis: Cedar Lake Ventures, Inc.; 2016 [actualizada diciembre 2016; consultado 2018]. Disponible en: [https://es.weatherspark.com/y/22312/Clima-promedio-en-Concepci%C3%B3n-Per%C3%BA-durante-todo-el-a%C3%B1o?fbclid=IwAR0hKhO0g9JA0AXmXYmXyNidP8P\\_T3mCTu\\_AGN3oyRgsRWAxjVlcR91YX\\_0](https://es.weatherspark.com/y/22312/Clima-promedio-en-Concepci%C3%B3n-Per%C3%BA-durante-todo-el-a%C3%B1o?fbclid=IwAR0hKhO0g9JA0AXmXYmXyNidP8P_T3mCTu_AGN3oyRgsRWAxjVlcR91YX_0)
- World Organization for Animal Health [OIE]. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. OIE. Leptospirosis. 2013. 1-13
- Yon C. Reporte de Vigilancia de Leptospirosis, Perú 2017. SE 14 – 2017; 26 (14): 439 – 440.
- Zuluaga A. Factores De Riesgo Asociados A Leptospirosis En Hatos Bovinos De Pereira, 2002-2005. Investigaciones Andina. 2009. 11(1): 108-117

## IX) ANEXOS

### ANEXO 1: Características clínicas asociadas con las infecciones por leptospirosis en los animales domésticos

#### Serovares de *Leptospira interrogans* que producen leptospirosis en los animales domésticos

Serovar	Hospedadores	Características clínicas
<i>Leptospira borgpetersenii</i> serovar <i>hardjo</i>	Bovinos, ovinos	Abortos, nacidos muertos, agalaxia
<i>L. interrogans</i> serovar <i>hardjo</i>	Humanos	Enfermedad similar a la gripe; ocasionalmente, afección de hígado o riñones
<i>L. borgpetersenii</i> serovar <i>tarassovi</i>	Cerdos	Fallo de la reproducción, abortos, nacidos muertos
<i>L. interrogans</i> serovar <i>bratislava</i>	Cerdos, caballos, perros	Fallo de la reproducción, abortos, nacidos muertos
<i>L. interrogans</i> serovar <i>canicola</i>	Perros	Nefritis aguda en cachorros. Enfermedad renal crónica en adultos
	Cerdos	Abortos y nacidos muertos. Enfermedad renal en lechones
<i>L. interrogans</i> serovar <i>grippityphosa</i>	Bovinos, cerdos, perros	Septicemia en animales jóvenes; abortos
<i>L. interrogans</i> serovar <i>icterohaemorrhagiae</i>	Bovinos, ovinos, cerdos	Septicemia aguda en terneros, lechones y corderos; abortos
	Perros, humanos	Enfermedad hemorrágica sobreaguda, hepatitis aguda con ictericia
<i>L. interrogans</i> serovar <i>pomona</i>	Bovinos, ovinos	Enfermedad hemolítica aguda en terneros y corderos; abortos
	Cerdos	Fallo en la reproducción; septicemia en lechones
	Caballos	Abortos, oftalmia periódica

Fuente Quinn *et al.*, 2016