
SEROPREVALENCIA Y SEROTIPIFICACIÓN DE LEPTOSPIROSIS CANINA EN EL MUNICIPIO DE BUENAVENTURA (VALLE DEL CAUCA)

Marlyn Hellen Romero Peñuela¹
Myriam Astudillo Hernández²
Mauricio Elías Quintero Martínez³

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo verificar la infección con serovares de *Leptospira* spp. en caninos con propietario en Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia. Las muestras de suero fueron tomadas de 100 caninos y fueron probadas con los serogrupos de *Leptospira interrogans*: Bataviae, Mini, Autumnalis, Canicola, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Cynopteri, Australis, Celledonis, Grippotyphosa, Hebdomadis, Javanica, Manhao, Pomona, Pyrogenes, Sejroe, Tarassovi y Ballum, usando la técnica de aglutinación microscópica. La prevalencia de anticuerpos anti-*Leptospira* contra uno o más serovares fue del 31%. Los serovares más frecuentes fueron icterohaemorrhagiae (38,7%), autumnalis (19,4%) y australis (12,9%). Se presentaron coaglutinaciones en el 6,5% de los sueros positivos. Estos resultados sugieren que los caninos evaluados son reservorios de *Leptospiras* sp patógenas, potenciales para leptospirosis en Buenaventura, siendo necesario implementar medidas preventivas y estudiar la epidemiología de la enfermedad en esta ciudad.

Palabras clave: factores de riesgo, infección, *Leptospira* spp., seroprevalencia.

SEROPREVALENCE AND SEROTYPIFICATION OF CANINE LEPTOSPIROSIS IN BUENAVENTURA (VALLE DEL CAUCA)

ABSTRACT

This study aimed to verify *Leptospira* spp. serovars infections in dogs with owner in Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia. Serum samples were collected from 100 dogs and tested against serogroups of *Leptospira interrogans*: Bataviae, Mini, Autumnalis, Canicola, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Cynopteri, Australis, Celledonis, Grippotyphosa, Hebdomadis, Javanica, Manhao, Pomona, Pyrogenes, Sejroe, Tarassovi and Ballum, using the microscopic agglutination test. Prevalence of anti-*Leptospira* antibodies against one or more serovars was 31%. The most frequent servars were icterohaemorrhagiae (38.7%), autumnalis (19.4%) and australis (12.9%). Co-agglutinations were presented in 6.5% sera samples. These results suggested that dogs are potential reservoirs of pathogen *Leptospiras* sp, potential of leptospirosis in Buenaventura and underscored the need to implement preventive measures and study the epidemiology of this disease in this city.

Key words: risk factors, infection, *Leptospira* spp., seroprevalence.

¹ Profesora Departamento Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas. Correspondencia: Calle 65 No. 26-10 Manizales. Tele-fax: (57-6) 8781516. E-mail: marlyn.romero@ucaldas.edu.co

² Profesora en Microbiología, Universidad del Valle. Correspondencia: Calle 4B 36-00, Santiago de Cali, Colombia. Tele-fax: (57-2) 554 2496, Fax: (57-2) 554 2468. E-mail: myrastud@univalle.edu.co

³ Médico Veterinario. Correspondencia: Calle 6 No. 79-25, Santiago de Cali, Colombia. Teléfono: (57-2) 3308544. E-mail: mauro-quintero@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial, considerada como una de las enfermedades infecciosas de más alta ocurrencia de acuerdo con los estudios de vigilancia epidemiológica activa (1, 2). Es una enfermedad reemergente potencialmente epidémica, que representa un riesgo significativo para la salud pública (1, 3). Sin embargo, en la mayoría de los países de América Latina, no es considerada de notificación obligatoria, presentándose por lo tanto un alto subregistro de los casos (1, 4).

La infección es causada por espiroquetas patógenas del género *Leptospira* sp., que infectan una gran variedad de animales domésticos y salvajes como roedores, caninos, bovinos, porcinos, equinos, lagomorfos, entre otros (5), los cuales pueden actuar como hospedadores de mantenimiento o accidentales, participando en la transmisión de diferentes serovares de *Leptospira* (1, 2, 6). Los caninos se comportan como importantes reservorios de *Leptospira* sp. y fuentes de infección para el hombre, especialmente en población general, por su estrecho contacto con el hombre en ambientes de riesgo no ocupacional (7-9), riesgo que se incrementa cuando se presenta la condición de portador en el período de convalecencia, que puede ocurrir durante un período de uno o dos años, al manifestar la enfermedad en forma subclínica o con presentación de disfunción renal, convirtiéndose en fuentes de infección para el hombre y otros animales susceptibles (3, 10).

Considerando la importancia de la leptospirosis canina en la epidemiología de la enfermedad en el hombre, y teniendo en cuenta el bajo reporte de investigaciones en caninos domésticos en Colombia, que permitan determinar la magnitud del problema, las características epidemiológicas de la leptospirosis en esta especie y los lineamientos para implementar

medidas de control efectivas, se plantearon como objetivos del presente trabajo: determinar la seroprevalencia de la infección por *Leptospira* sp. en caninos con propietario del municipio de Buenaventura, e identificar los serovares prevalentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El terminal marítimo de Buenaventura se encuentra a 7 msnm, presenta una precipitación entre 6.000 y 9.000 mm anuales, humedad relativa aproximada del 90% y temperatura promedio de 28°C.

Población evaluada

En el estudio se consideró una muestra por conveniencia conformada por 100 caninos con propietario, los cuales fueron seleccionados aleatoriamente en 88 de los 113 barrios del municipio de Buenaventura (Valle del Cauca), entre enero y julio de 2008. Como criterio de exclusión se consideró la vacunación anti-leptospirosis en el último año.

Encuesta y toma de muestras

A los animales se les realizó examen clínico y toma de muestra sanguínea, contando con el consentimiento informado de los propietarios. Las muestras fueron tomadas siguiendo las normas éticas para el manejo de animales establecida en la Ley 84 de 1989 y el Decreto 2257 de 1986, obteniendo de cada canino entre 3 y 5 ml de sangre por venopunción de la vena cefálica (o venopunción de safena o yugular). El suero se separó por centrifugación y se conservó a -20°C hasta su procesamiento. A todos los propietarios se les aplicó una encuesta para evaluar factores de riesgo y algunas consideraciones sobre la tenencia de las mascotas.

Técnica de microaglutinación (MAT)

El mantenimiento de las cepas y el manejo de la técnica de microaglutinación (MAT) se realizaron bajo los parámetros convencionales en el laboratorio de diagnóstico de leptospirosis de la Universidad del Valle (4), utilizando un cepario de referencia suministrado por el Laboratorio Internacional de Referencia para el Diagnóstico de la Leptospirosis del Royal Tropical Institute, Amsterdam (Holanda). Los serovares de *Leptospira* evaluados fueron: bataviae, mini, autumnalis, canicola, shermani, icterohaemorrhagiae, cynopteri, australis, celledonis, grippotyphosa, hebdomadis, javanica, manhao, pomona, pyrogenes, sejroe, tarassovi y ballum. Se consideraron como positivos los sueros con títulos $\geq 1:100$ (8, 9). Entre los sueros positivos que presentaron al mismo tiempo reacciones frente a diferentes serovares, se consideró como causante de la reacción al de mayor título, y como coaglutinaciones a los que presentaron títulos iguales frente a diferentes serovares (9).

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico Epidemiology Program Office. Epi Info™ versión 6. Atlanta: Centers of Disease Control, 2005. Se hicieron análisis descriptivos a las variables evaluadas; la comparación entre los grupos se hizo mediante la prueba de *ji cuadrado* y se estableció un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp. fue del 31% en el grupo evaluado. El 51,6% de los animales seropositivos alcanzaron títulos superiores a 1:320. Del panel de 18 serovares evaluados, se encontró reactividad frente a todos los serovares, pero de acuerdo al criterio usado para establecer los serovares prevalentes, los de mayor frecuencia fueron icterohaemorrhagiae, autumnalis y australis con un 38,7%, 19,4% y 12,9%, respectivamente. Se obtuvo un 6,5% de coaglutinaciones en los sueros positivos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de los sueros positivos a Leptospirosis con la prueba de Microaglutinación (MAT), detallando los serovares reaccionantes y título alcanzado.

| Serovares | 1/160 | 1/320 | 1/640 | 1/1280 | Total | % |
|-------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|------|
| I | 7 | 3 | 1 | 1 | 12 | 38,7 |
| AU | 3 | 1 | 2 | 0 | 6 | 19,4 |
| AUS | 2 | 1 | 1 | 0 | 4 | 12,9 |
| C | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 6,5 |
| CA | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 6,5 |
| G | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3,2 |
| M | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3,2 |
| P | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3,2 |
| <i>Coaglutinaciones</i> | | | | | | |
| AI | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 6,5 |
| Total | 15 | 9 | 5 | 2 | 31 | |
| % | 48,4 | 29,0 | 16,1 | 6,5 | | 100 |

Icterohaemorrhagiae^I, Autumnales^{Au}, Australis^{Aus}, Cynopteri^C, Canicola^{Ca}, Grippotyphosa^G, Manhao^M, Pomona^P.

El 71% de los caninos seropositivos eran machos y el 33% restante, hembras, con edades promedio entre 1 y 5 años. No se presentaron diferencias significativas entre las serorreactividades cuando se compararon por edades y sexo ($p \geq 0,05$).

En cuanto a los factores potencialmente asociados con la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* indagados en la encuesta (Cuadro 2), llama la atención la presencia de una alta proporción de animales seropositivos (41,9%) manejados de forma semi-doméstica, es decir que los propietarios les permiten tener contacto

con la calle durante varias horas al día, así mismo, se pudo constatar que el conocimiento sobre conceptos básicos de la enfermedad es pobre tanto en los propietarios de animales seropositivos, como seronegativos. Teniendo en cuenta la localización urbana de la población canina estudiada, se evidencia su bajo contacto con especies domésticas como bovinos, porcinos y equinos. No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las variables evaluadas y la presencia de serorreactividad ($p \geq 0,05$).

Cuadro 2. Factores potencialmente asociados con la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* en la población canina estudiada.

| Variable | Positivos (n=31) | | Negativos (n=69) | |
|--|------------------|------|------------------|------|
| | n | % | n | % |
| Conocimiento de la enfermedad | 10 | 32,2 | 20 | 28,9 |
| Contacto del animal con otras especies | | | | |
| Caninos | 23 | 74,1 | 48 | 69,5 |
| Roedores | 14 | 45,1 | 34 | 49,2 |
| Felinos | 15 | 48,3 | 27 | 39,1 |
| Bovino, equino, porcino | 1 | 3,2 | 4 | 5,6 |
| Contacto con fuentes de agua | | | | |
| Aguas estancadas | 8 | 25,8 | 23 | 33,3 |
| Aguas negras | 6 | 19,3 | 15 | 21,7 |
| Comportamiento | | | | |
| Doméstico | 13 | 41,9 | 23 | 33,3 |
| Semidoméstico | 18 | 58,1 | 46 | 66,7 |

($p \geq 0,05$).

DISCUSIÓN

El análisis seroepidemiológico efectuado en la población canina incluida en el estudio proporciona evidencia de exposición previa a los serogrupos de *Leptospira* evaluados (7, 11), con una seroprevalencia inferior a la reportada en caninos callejeros de la ciudad de Cali (41,1%) (8), pero superior a la reportada en los estados brasileros de Paraíba (3), Santa Catarina (12) y el municipio de Pelotas (13). Otros estudios han reportado seroprevalencias similares en caninos en Yucatán (México), Montenegro (Brasil) y Teherán (Irán) (7, 10, 14).

Los caninos son susceptibles a todos los serogrupos de *Leptospira* conocidos (13), sin embargo, los serovares más comúnmente asociados con la leptospirosis canina clásica son los serogrupos Canicola e Icterohaemorrhagiae (7, 12, 13). El reservorio más importante de *Leptospira* serogrupo Canicola son los caninos, alojándose en el riñón, pudiendo ser excretada por largo período, convirtiéndose en una importante fuente de infección para el hombre (12, 15). Estudios efectuados en Estados Unidos, Canadá, Europa y Brasil (11, 12, 15) han demostrado un cambio en la epidemiología y presentación de la leptospirosis canina, en

donde se ha evidenciado una disminución de la presentación de *Leptospira* serogrupo Canicola y el aumento de la frecuencia de *Leptospira* serogrupo Icterohaemorrhagiae, resultados que son concordantes con los obtenidos en el presente estudio (Cuadro 1). Estos hallazgos podrían explicarse por la presión natural de infección con serovar icterohaemorrhagiae, que es mantenida en el ambiente a través de animales silvestres como roedores (2, 15) y por la posibilidad de contacto de los caninos con estos reservorios, los cuales tienen una alta densidad poblacional en Buenaventura, por sus características de puerto marítimo (Cuadro 2). Así mismo, se ha descrito que la presión de infección con la serovar canicola ha decrecido (3, 16), como resultado de la vacunación masiva con vacunas bivalentes que contienen estos dos serovares (17), que favorece la disminución de su eliminación por la orina de los animales vacunados, los cuales son sus hospedadores naturales (1, 9, 15). En estudios realizados en población canina de las ciudades de Cali (Colombia) y Valdivia (Chile), el serovar predominante fue *L. icterohaemorrhagiae* (8, 9).

En estudios realizados recientemente en población humana en el Valle del Cauca, Colombia, el serovar icterohaemorrhagiae fue el que presentó mayor reactividad serológica en casos confirmados y probables, sugiriéndose que podría ser la causa más frecuente de infección por leptospirosis en la región epidemiológica analizada (4), similares resultados se reportaron en caninos callejeros de la ciudad de Cali (8), concordando con los resultados obtenidos en este estudio.

La reactividad serológica a los serovares autumnalis y australis fue frecuente en los animales estudiados (Cuadro 1). Se ha descrito un amplio rango de reservorios de éstos como roedores silvestres, procionidos (mapache), mustélidos (comadreja y zorrillo), roedores sinantrópicos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, *Mus musculus*), porcinos y bovinos (17). El perro

es considerado como hospedador incidental de estos serovares (7, 13, 17), los cuales pueden inducir la leptospirosis aguda típica en esta especie, con ictericia y falla renal aguda, pero la transmisión de la infección a otros caninos es relativamente rara, no siendo importante tampoco la transmisión a otras especies, incluido el hombre (13, 15). El serovar autumnalis, recientemente ha sido encontrado como el más frecuente en estudios de seroprevalencia en caninos de Brasil (11, 14, 16) y en Estados Unidos se reporta que está en aumento (11, 17, 18).

Otros serovares como cynopteri, gipotyphosa, pomona y manhao presentaron una reacción baja entre los sueros positivos (Cuadro 1). Esta diversidad en la reactividad serológica y la presencia de coaglutinaciones en el 6,5% de las muestras (Cuadro 1), indican reacciones cruzadas por la presencia de antígenos de membrana comunes entre los distintos serogrupos y sus serovares (1, 8, 15), o por anticuerpos que persisten de contactos infecciosos previos con diferentes leptospirosis, que pueden generar reacciones paradójicas que hacen difícil interpretar las pruebas serológicas como el MAT (1), siendo necesario el aislamiento de las leptospirosis en cultivo y su tipificación.

Aunque no se encontró asociación estadísticamente significativa entre los factores evaluados y la serorreactividad (Cuadro 2), es importante resaltar la necesidad de fortalecer la promoción en hábitos protectores para prevenir la leptospirosis y otras zoonosis transmitidas por los caninos, entre la comunidad del municipio de Buenaventura; así como en aspectos de tenencia responsable de mascotas, teniendo en cuenta la alta proporción de animales que tienen hábitos semi-callejeros entre la población evaluada. Así mismo, es conveniente desarrollar estudios posteriores que incluyan la evaluación de roedores y otros posibles reservorios silvestres, que permitan identificar posibles factores de riesgo para la población canina y humana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Levett PN. Leptospirosis: A forgotten zoonosis? Clin Microbiol Rev. 2004; 4:435-448.
2. Bharti AR, Nally J, Ricaldi JN, Mathias M, Díaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis. 2003;3:757-769.
3. Batista CSA, Azevedo SS, Alves CJ, Vasconcellos SA, Morais ZM, Clementino IJ, et al. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. Braz J of Vet Res anim Sci 2004;41(2):131-136.
4. Astudillo M, González A, Batista N, Mirabal M, Menéndez J. Estudio seroepidemiológico de la leptospirosis humana en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. Revista Cubana de Medicina Tropical 2009;61(2). Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/indice.html>
5. Macpherson CNL, Meslin FX, Wandeler AI. Dogs, zoonoses and Public Health. New York: CABI Publishing; 2000. pp. 100-102.
6. Adler B, de la Peña M. *Leptospira* and leptospirosis. Vet Microbiol 2009. In press.
7. Jiménez-Coello M, Vado-Solis I, Cárdenas-Marrufo MF, Rodríguez-Buenfil JC, Ortega-Pacheco A. Serological Survey of canine leptospirosis in the tropics of Yucatan Mexico using two different tests. Acta Trop. 2008;106:22-26.
8. Rodríguez AL, Ferro BE, Varona MX, Santafé M. Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali. Biomédica 2004;24:291-295.
9. Silva RF, Riedemann S. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. Arch. Med. Vet. 2007;39:269-274.
10. Rad MA; Zeinali A, Vand YJ, Tabatabayi AH, Bokaie S. Seroprevalence and bacteriological study of canine leptospirosis in Tehran and its suburban areas. Iranian J Vet Res 2004, 5(2):1383-1389.
11. Moore FE, Guptill LF, Glickman NW, Caldanaro RJ, Aucoin D, Glickman L. Canine leptospirosis, United States, 2002-2004. Emerging Infec Dis 2006;3:501-503.
12. Blazius RD, Romão PR, Blazius EM, Silva O. Ocorrência de cães errantes seropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. Cad. Saúde Pública 2005;21(6):1952-1956.
13. Jouglard SDD; Brod CS. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural do município de Pelotas, RS. Arq. Inst. Biol. São Paulo 2000;67(2):181-185.
14. Aguiar DM, Cavalcante GT, Marvulo MFV, Silva JCR, Pinter A, Vasconcellos SA, et al. Risk factors associated with anti-*Leptospira* spp antibodies occurrence in dogs from Monte Negro County, Rondônia, Brazilian Western Amazon. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2007;59(1):70-76.
15. André-Fontaine G. Canine leptospirosis – Do we have a problem? Vet Microbiol 2006;117:19-24.
16. Alves CJ, Andrade Js, Vasconcellos SA, Morais ZM, Azedo SS, Santos FA. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães no município de Patos-PB, Brasil. Rev. Bras. de Ciênc. Vet. 2000;7(1):17-21.
17. Ward MP. Clustering of reported cases of leptospirosis among dogs in the United States and Canada. Prevent Vet Med 2002;56: 215-226.
18. Luna AMA, Moles CLP, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar GF. La leptospirosis canina y su problemática en México. Rev. Salud Anim. 2008;1:1-111.