

Caracterización serológica de diferentes serovares de *Leptospira spp.* y su determinación como causante de enfermedad zoonótica en estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A

Serological characterization of different serovars of *Leptospira spp.* and its determination as a cause of zoonotic disease in students of Veterinary Medicine of the University of Applied and Environmental Sciences U.D.C.A.

Brandon D. Rangel¹, Sandra L. Cortes², William A. Méndez³, Johanna M. Moscoso⁴

Recibido: 08 de noviembre de 2017

Aceptado: 11 de diciembre de 2017

Resumen

La leptospirosis, la enfermedad bacteriana zoonótica y emergente más importante en el mundo, es causada por las especies patógenas de *Leptospira spp* con una amplia distribución mundial que se presenta principalmente en zonas tropicales, subtropicales y templadas. La leptospirosis humana presenta un rango de síntomas que van desde una fiebre indiferenciada hasta una ictericia, hemorragia, fallas renales y pulmonares severas. La población humana ha incrementado sus índices de contagio lo que la hace más vulnerable. La presencia de esta enfermedad no solo implica problemas a nivel epidemiológico sino también de tipo económico y social. En Colombia, esta zoonosis es diagnosticada en pocas ocasiones, debido a la falta de conocimiento de la enfermedad o ausencia de métodos diagnósticos.

En el presente artículo se demuestra la presencia de anticuerpos titulados a partir de la prueba estandarizada para diagnóstico de leptospirosis microaglutinación (MAT) contra diferentes serovares de *Leptospira Spp* y su determinación como causantes de enfermedad zoonótica en estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A

Palabras claves: Leptospira, Microaglutinación, Enfermedad zoonótica

1. Estudiante de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

2. Gerente general. Zoolab.

3. Docente de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Grupo de investigación Enfermedades Crónicas, Zoonóticas y Adquiridas ECZA

4. Bacterióloga y Laboratorista Clínico, Magister en ciencias biológicas, Directora del Programa de Bacteriología y laboratorio clínico.

Investigadora principal. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Grupo de investigación Enfermedades Crónicas, Zoonóticas y Adquiridas ECZA

Abstract

Leptospirosis, the most important zoonotic and emergent bacterial disease in the world, is caused by the pathogenic species of *Leptospira spp* with a wide global distribution that occurs mainly in tropical zones, subtropical and temperate. Human leptospirosis has a range of symptoms ranging from undifferentiated fever to jaundice, hemorrhage, severe kidney and lung failure. The human population has increased its infection rates, which makes it more vulnerable. The presence of this disease not only implies problems at an epidemiological level but also of an economic and social nature. In Colombia, this zoonosis is rarely diagnosed due to lack of knowledge of the disease or absence of diagnostic methods.

The present article demonstrates the presence of antibodies titrated from the standardized test for the diagnosis of leptospirosis microagglutination (MAT) against different serovars of *Leptospira Spp* and their determination as causes of zoonotic disease in students of Veterinary Medicine of the University of Applied Sciences and Environmental UDCA

Keywords: Leptospira, Microagglutination (MAT) Zoonotic disease.

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa emergente ocasionada por bacterias patógenas pertenecientes al género *Leptospira*, que afecta a humanos y animales tanto domésticos como silvestres (1).

Se caracteriza por afectar a grupos de riesgo con exposición ocupacional o recreativa. La transmisión puede ser directa o indirecta de los animales al humano. Es considerada una zoonosis y un problema de salud pública, con amplia distribución mundial, afectando tanto países en desarrollo como desarrollados que cuentan con características climatológicas y orográficas, con redes pluviales naturales y artificiales, con extensas áreas agrícolas y presencia de lluvias estacionales que favorecen la propagación de *Leptospira*, afectando tanto al hombre como a los animales (1, 2, 3).

La exposición a *Leptospira* se atribuye tradicionalmente al ámbito ocupacional, siendo la población expuesta trabajadores de predios rurales, veterinarios, personas encargadas de

remover tierra y limpieza de alcantarillas o de aguas negras. Sin embargo, y a pesar de que por su localización geográfica Colombia se encuentra en situación de riesgo, no existe información actualizada sobre la patogenia y epidemiología de esta zoonosis y se desconoce la prevalencia de la misma entre los profesionales de la medicina veterinaria (4).

En Colombia se han realizado investigaciones sobre la epidemiología de la leptospirosis en varias regiones del país, sin embargo, es poco el conocimiento que se tiene de prevalencia en estudiantes de Medicina veterinaria, además de la falta de conocimiento de la enfermedad, a todo ello se le suma el desconocimiento del personal médico asistencial sobre el comportamiento y las manifestaciones clínicas de la leptospirosis, además de una débil red de laboratorios que no cuenta con la capacidad y las pruebas diagnósticas confirmativas. Por lo tanto, es de gran importancia realizar estudios que brinden información nueva y actualizada acerca de esta enfermedad con el fin de implementar programas de promoción de la salud y prevención de la enfermedad que

permitan disminuir la incidencia y prevalencia de la misma en nuestra población (5).

Materiales y métodos

Muestras y diseño del estudio

Se realizó una convocatoria invitando a los estudiantes de cada una de los semestres incluidos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la U.D.C.A a participar en el estudio.

Las personas seleccionadas expresaron su consentimiento para participar en el estudio mediante la lectura y firma del formato "consentimiento informado" En caso de los menores de edad, se realizó un formato de asentimiento firmado por los padres.

Posteriormente, a los participantes se les aplicó una encuesta epidemiológica para determinar factores de riesgo para la adquisición de esta enfermedad.

Se tomaron los valores antropométricos de cada uno de ellos y en previo ayuno, se recolectó sangre venosa en tubos sin anticoagulante BD Vacutainer (BD Diagnostics). Después de la coagulación, la muestra se centrifugó a 3.500 rpm durante 5 minutos. Se recuperó el suero para la prueba de aglutinación microscópica (MAT). De los 158 estudiantes iniciales en el estudio fueron rechazados 10, por no tener el rango de edad o por no haber contestado correctamente la encuesta epidemiológica.

Se excluyeron 10 estudiantes por no cumplir el rango de edad o por no haber contestado correctamente la encuesta, para un total de 138 Estudiantes.

Población

Jóvenes universitarios de cualquier semestre vinculados a la Facultad de Medicina Veterina-

ria de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (U.D.C.A).

Criterios de inclusión

Se incluyeron estudiantes vinculados al programa de Medicina Veterinaria, con edades comprendidas entre los 17 y los 29 años.

Variables

Se tomaron en cuenta las siguientes variables: edad, sexo, estrato socioeconómico, presencia o no de convivencia con mascotas, contacto con otros animales, trabajos previos con animales de producción, trabajos en laboratorios de diagnóstico veterinario, consumo de productos derivados de animales, accidentes con materiales contaminados.

Técnicas y procedimientos

La identificación de *Leptospira* spp en las muestras recolectadas y la posterior clasificación de las cepas de *Leptospira* spp aisladas, se llevará a cabo con la metodología descrita a continuación:

Identificación de anticuerpos por MAT:

Los títulos de anticuerpos *Anti - Leptospira* spp se determinaron mediante MAT utilizando antígenos representativos de 13 serovares siguiendo la recomendación del Instituto Nacional de Salud (6).

La técnica de microaglutinación MAT, es la técnica estandarizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Instituto Nacional de Salud (INS) para el diagnóstico de Leptospirosis tanto en humanos como en animales (4)(6).

Las muestras se analizaron en el laboratorio de diagnóstico veterinario Zoolab SAS, en la cual los títulos de punto final se determinaron comenzando en una dilución

inicial de 1:100 y usando diluciones dobles hasta que se registró el último pocillo que mostraba un 50% de aglutinación. El punto de corte para una reacción de aglutinación positiva se definió como un título ≥ 100 en una sola muestra.

Se consideraron positivas aquellas reacciones que presentaron un porcentaje mayor o igual a 50% de aglutinación. En este estudio varios estudiantes presentaron positividad a más de un serovar de *Leptospira*.

Tabla 1. Serovares analizados en la técnica MAT.

Serovares utilizados para la técnica MAT
<i>Autumnalis</i>
<i>Bataviae</i>
<i>Australis</i>
<i>Canicola</i>
<i>Icterohemorrhagiae</i>
<i>Copenhageni</i>
<i>Cynopteri</i>
<i>Gryppothyposa</i>
<i>Hardjoprajitno</i>
<i>Mini</i>
<i>Pomona</i>
<i>Shermani</i>
<i>Bratislava</i>



Figura 2. Porcentaje de aglutinación < 50%. Imagen tomada por Rangel Brandon en el laboratorio Zoolab SAS

Se tomaron como muestras negativas, aquellas que presentaron un porcentaje de aglutinación menor al 50%

Resultados

La reacción de positividad descrita anteriormente demostró la presencia de anticuerpos contra diferentes serovares de *Leptospira*



Figura 1. Porcentaje de aglutinación 50%. Imagen tomada por Rangel Brandon en el laboratorio Zoolab.

Porcentaje de estudiantes analizados

■ Positivos a uno o varios serovares ■ Negativos

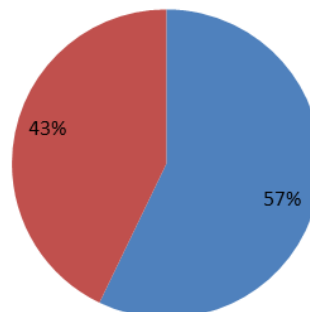


Figura 3. Porcentaje de positividad y negatividad a uno o varios serovares de *Leptospira* spp.

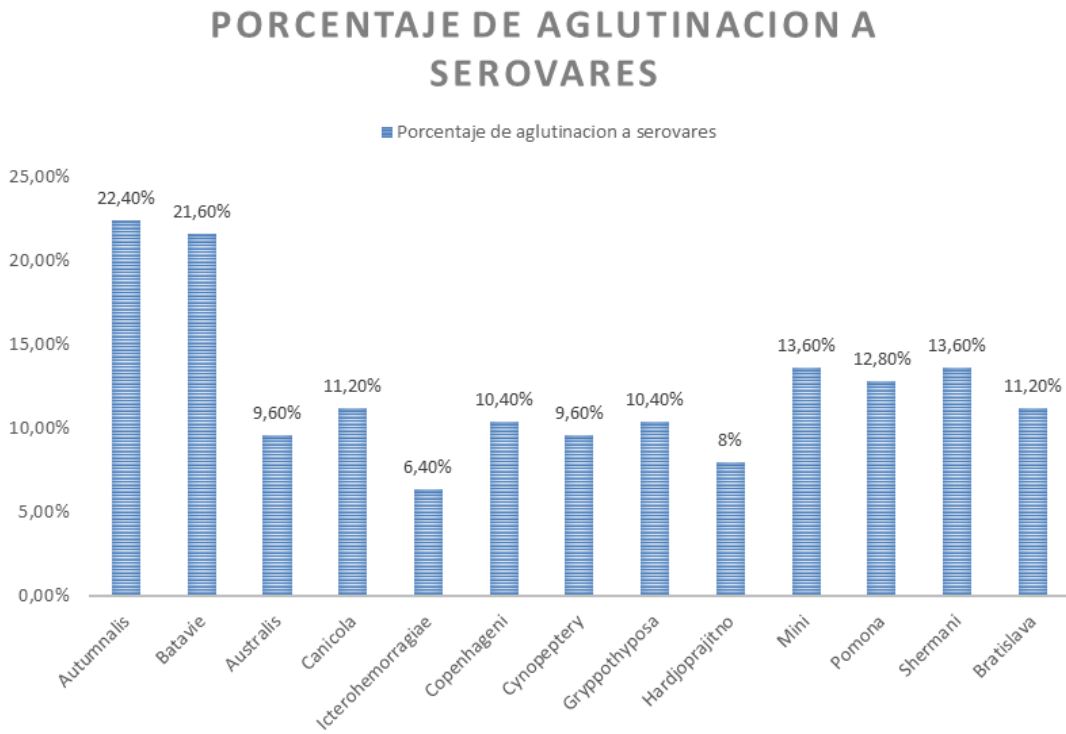


Figura 4. Porcentaje de aglutinación a 13 serovares. Teniendo en cuenta la recomendación del Instituto Nacional de Salud.

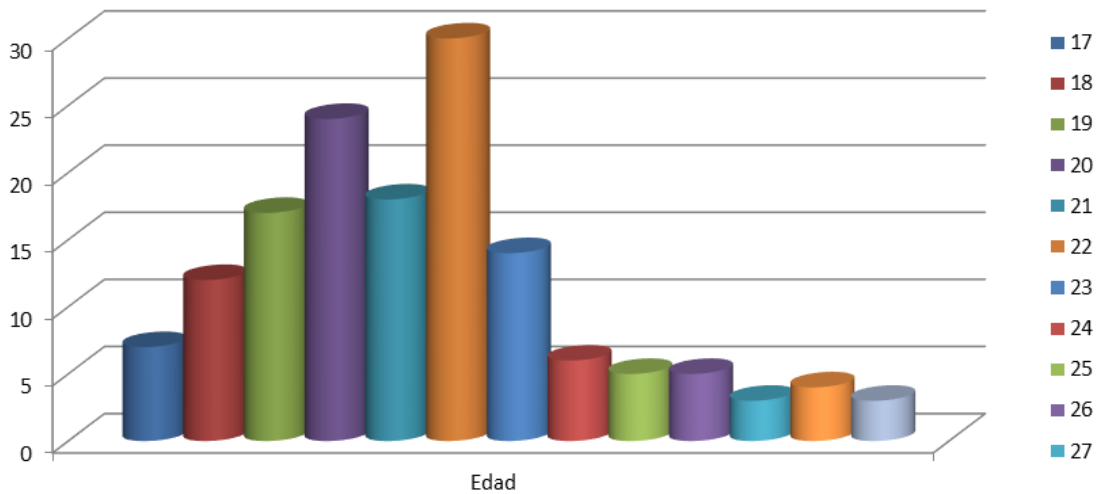


Figura 5. Rango de edades de los estudiantes de Medicina Veterinaria.

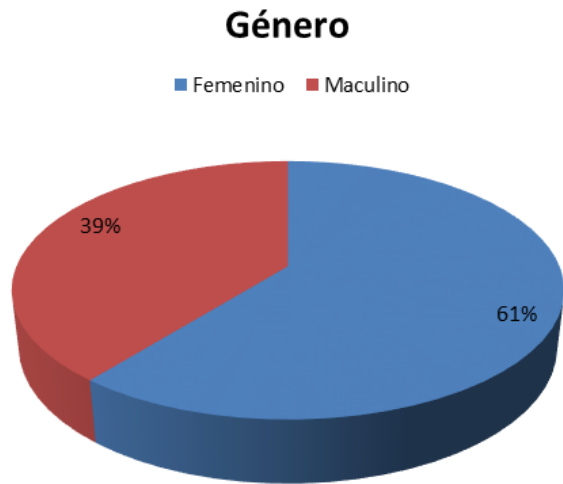


Figura 6. Género de la población estudiada

Discusión

La caracterización serológica permitió la identificación de los diferentes serovares mediante la técnica MAT, La prueba de aglutinación microscópica por su alta sensibilidad y especificidad es la prueba de referencia (7) la cual detecta anticuerpos contra serovares específicos, sin embargo, presenta reacción cruzada con otros serovares y requiere el uso de sueros pareados que confirmen el aumento en los títulos, además del mantenimiento de cepas vivas susceptibles de contaminación, siendo necesaria su realización por laboratorios especializados (8,9). En contraste, las pruebas de ELISA ofrecen mayores ventajas para establecer un diagnóstico rápido y oportuno(10)

La seroprevalencia en estudiantes de medicina veterinaria fue del 57%, mayor a la reportada por Farrar (11) en veterinarios y operarios de matadero 15%, y difiere de lo observado en otro estudio donde se reportaron incidencias hasta del 40% (12).

La alta prevalencia encontrada en este estudio sugiere una falla en las medidas de protección dentro del ejercicio profesional. Es claro que en todas las universidades, en los estudiantes de veterinaria deben existir los

procedimientos y acciones respecto al control de las posibles formas de exposición a las más importantes zoonosis. Sin embargo en la práctica esto no ocurre.

Se ha demostrado que la infección por *Leptospira* proveniente de la manipulación de pequeñas especies principalmente perros y gatos, ocurren a través de piel o mucosas por contacto con secreciones de tejidos u orina (13)

De acuerdo con la OMS deberían hacerse exámenes periódicos para enfermedades zoonóticas en varios grupos ocupacionales incluidos los veterinarios.

Tal parece que en Colombia se le da poca importancia al riesgo biológico de origen animal subestimando la magnitud, y lo que es más grave una actitud pasiva de los profesionales del sector agropecuario por esta problemática (14).

A diferencia de lo que ocurre en otros países en donde la enfermedad se presenta en forma de brotes o de manera esporádica, esto no ocurre regularmente en Colombia en donde la enfermedad puede estar siendo subnotificada por el cuerpo médico dada su similitud en los signos clínicos con muchas otras enfermedades tropicales. Esta situación ha sido asociado a factores relacionados con la resistencia del huésped, las condiciones del medio ambiente y las características del agente (14,15). En Colombia en un brote ocurrido en la ciudad de Barranquilla en 1995 en 23 pacientes, 6 de ellos murieron y fue asociado con las inundaciones que se presentaron por aquella época (16).

Este estudio demostró que la presencia de *Leptospira* patógena se distribuye ampliamente en estudiantes de medicina Veterinaria, en consecuencia, es probable que la orina de bovinos, cerdos y perros que se mantienen

en contacto sea una fuente de infección por *Leptospira* para humanos, ya sea directamente o por contaminación ambiental. De acuerdo con los resultados en la presente investigación, se debe tener acciones de concienciación y extremar las medidas de protección cuando se trabaja con los diferentes reservorios de la enfermedad.(17)

Se detectó principalmente *L. autumnalis*, lo que está de acuerdo con informes previos sobre la prevalencia (18) sin embargo, los estudiantes no presentaron síntomas. Según la OMS (19) La leptospirosis humana puede variar desde una leve enfermedad parecida a la gripe hasta una enfermedad grave y algunas veces mortal, presenta una amplia variedad de manifestaciones clínicas, sin embargo, para dar un diagnóstico definitivo no es suficiente la prueba MAT, además, algunos estudiantes que estaban en primer semestre mostraron positividad lo que sugiere que su contacto fue en un lugar distinto a la universidad.

Actualmente, en Colombia es una enfermedad de reporte obligatorio y las estadísticas son publicadas en el boletín epidemiológico semanal, pero como se mencionó anteriormente, la falta de un diagnóstico apropiado, genera un alto porcentaje de casos no reportados, lo que sugiere que existe una incidencia aún mayor en el país (20)

El presente estudio queda abierto a futuras investigaciones que evalúen la cronicidad, el estado y la evolución de los estudiantes.

Agradecimiento

Al laboratorio de diagnóstico veterinario Zoo-lab S.A.S por su apoyo y respaldo a este proyecto, igualmente a los estudiantes y profesionales que hicieron parte de este.

Referencias

1. Adler, B., Lo, M., Seemann, T., Murray, G.L., 2011. Pathogenesis of leptospirosis: the influence of genomics. *Vet. Microbiol.* 153, 73–81,
2. Dolhnikoff M, Mauad T, Bethlem EP, Ribeiro CR. Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis. *Bras J Infect Dis* 2007; 11: 142-148.
3. Erosa-Barbachano G. Leptospirosis. *Rev Biomed* 2012; 12: 282- 287.
4. Instituto Nacional de Salud –. Factores de riesgo asociados a la leptospirosis.
5. Góngora, A.; Parra, J.; Aponte, L.; Gómez, L. (2014). Seroprevalencia de *Leptospira* spp. en Grupos de Población de Villavicencio, Colombia. 2011.
6. Protocolo de Leptospirosis, Instituto Nacional de Salud ver.2014.
7. Cole JR, Sulzer CR, Pursell AR. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl Environ Microbiol* 2013; 25: 976–980.
8. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2011; 14: 296–326.
9. Bajan MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, Plikaytis BD, Perkins BA, Phelan M, Levett PN, Weyant RS. Evaluation of Four Commercially Available Rapid Serologic Tests for Diagnosis of Leptospirosis. *J Med Microbiol* 2003; 41(2): 803–809.
10. Ardila RM, Mojica JD. Determinación de factores de riesgo a *L. canicola* en caninos de Clínicas Veterinarias en Villavicencio. [Trabajo de Grado]. Villavicencio: Universidad de los Llanos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2012.
11. Farrar W. Especies de *Leptospira* (Leptospirosis) IN: Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica. Mandell G, Gordon, R, Bennett J. Cuarta Edición; 1995.
12. Andreescu N, Tacorian D, Duminica E, Filip M, Sosin A. Investigarea serologica in complicatiile oculare ale leptospirozelor la om. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol* 2006; 33: 41-46.

13. Tan JS. Human zoonotic infections transmitted by dogs and cats. *Arch Intern Med* 2012; 157:
14. Cediell B, Natalia M, Villamil LC. Riesgo biológico ocupacional en la medicina veterinaria, área de intervención prioritaria. *Rev Salud Publica* 2014; 6(1): 28-43.
15. Atienzar E, Espino R, López C, Sed O, Alonso L. Brote de leptospirosis en la provincia de Camaguey y Las Tunas. Diagnóstico serológico, características clínicas y aislamiento microbiológico. *Rev Cubana Med Trop* 2015; 37: 105-112.
16. Pérez-García JA. Hallazgos histopatológicos en necropsias de leptospirosis. *Colomb Med* 1997; 28(1): 4-9.
17. Da Cunha, C.E., Felix, S.R., Neto, A.C., Campello-Felix, A., Kremer, F.S., Monte, L.G., Amaral, M.G., de Oliveira Nobre, M., da Silva, É.F., Hartleben, C.P., et al., 2016. Infection with *Leptospira kirschneri* serovar mozdok: first report from the southern hemisphere. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 94, 519–521
18. BG Corney , AT Slack , ML Symonds , MF Dohnt , CS McClintock , MR McGowan , LD Smythe *Leptospira weilii* serovar topaz, un nuevo miembro del serogrupo Tarassovi aislado de una fuente bovina en Queensland, Australia *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* , 58 (2008) , pp. 2249 – 2252
19. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control World Health Organization, Geneva (2003)
20. Luzlady Chavarría Joy Daniela Lara Gutiérrez William Méndez Hurtado Johanna Moscoso Gama, *Leptospira: revisión del agente causal de una enfermedad zoonótica*, Biociencia, 2015.