

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

(UNA)

FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL

(FACA)

DEPARTAMENTO DE VETERINARIA

TESIS

**DIAGNÓSTICO DE PREVALENCIA A LEPTOSPIROSIS CANINA CON
RESPECTO A LAS VARIABLES EDAD, SEXO Y RAZA, EN OCHO BARRIOS
DEL DISTRITO II DE LA CIUDAD DE MANAGUA SEPTIEMBRE 2007- ENERO
2008**

AUTORES

BIELKA JESSENIA COREA ZÚNIGA

JORDANKA PAOLA ESTRELLA TERCERO

TUTOR: PhD. CÉSAR MORA HERNANDEZ

ASESOR: MSc. CARLOS RUIZ

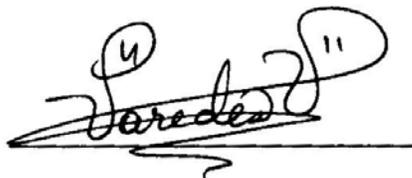
MANAGUA, NICARAGUA

MARZO, 2009

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la decanatura de la Facultad de Ciencia Animal (FACA) como requisito parcial para optar al título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

Miembros del tribunal examinador:



Dra. Varinia Pañedes Vanegas MsC.

Presidente



Dra. Deleana Vanegas MsC.

Secretaria



Lic. Yadira Mendoza

Vocal

Managua, Nicaragua viernes 20 de marzo 2009.

INDICE DE CONTENIDO

| | |
|-------------------------------------|------------|
| Dedicatoria | <i>ii</i> |
| Agradecimiento | <i>iii</i> |
| Índice de figuras | <i>iv</i> |
| Índice de anexo | <i>v</i> |
| Resumen | <i>vi</i> |
| Abstract | <i>vii</i> |
| I. Introducción | 1 |
| II. Objetivos | 3 |
| III. Marco de referencia | 4 |
| 3.1 Sinonimia | 4 |
| 3.2 Clasificación | 4 |
| 3.2.1. Clasificación de la bacteria | 4 |
| 3.3. Serovares de Nicaragua | 5 |
| 3.4. Característica de la bacteria | 6 |
| 3.5 Distribución y transmisión | 7 |
| 3.5.1 Transmisión | 8 |
| 3.6 Epizootiología | 8 |
| 3.7.Prevalencia | 9 |
| 3.8.Patogenia | 9 |
| 3.9.Sintomatología | 11 |
| 3.10.Lesiones anatomopatológicas | 11 |
| 3.11.Inmunidad | 12 |
| 3.12. Diagnóstico | 14 |
| 3.12.1. Pruebas serológicas | 15 |
| 3.12.2. Técnicas directas | 16 |
| 3.13. Diagnóstico diferencial | 17 |
| 3.14. Tratamiento | 17 |

| | |
|---|----|
| 3.15. Prevención y profilaxis | 18 |
| 3.15.1. Importancia sanitaria | 19 |
| IV. Materiales y métodos | 20 |
| 4.1. Ubicación del área de estudio | 20 |
| 4.2 . Población y muestra | 20 |
| 4.3 . Metodología del estudio | 21 |
| 4.3.1. Tipo de estudio | 21 |
| 4.3.2. Población en estudio | 21 |
| 4.4 Procedimiento para la colecta de muestras | 22 |
| 4.5 Técnica laboratorial | 23 |
| 4.6. Importancia del estudio | 26 |
| 4.7. Análisis Estadístico | 26 |
| V. Resultado y discusión | 28 |
| VI. Conclusiones | 37 |
| VII. Recomendaciones | 38 |
| VIII. Literatura Citada | 39 |
| IX. Anexos | |

DEDICATORIA

En primer lugar se la dedico a DIOS.

A mi querida abuelita María Cristina Gómez de Tercero (q.e.d) por siempre apoyarme y alentarme para culminar mis estudios profesionales.

A mi mami, María Lourdes Tercero Gómez, ya que sin su amor y respaldo nunca hubiera logrado llegar hasta aquí.

A mi tía Lic. Alejandra Tercero Gómez por su apoyo durante mis años de estudio.

A mi hermana Indiana Jaluska Estrella Tercero por apoyarme.

A mi familia y amigos que son una parte muy importante de mi vida.

A mi compañera de tesis y amiga Bielka Corea Zúniga.

A mis bebés ziggy, bubba y pirata.

J. Paola Estrella Tercero

DEDICATORIA

Este presente trabajo se lo dedico primeramente DIOS por guiarme y haberme dado la sabiduría para culminar una meta más, llegar hacer una profesional.

A mis padres el Sr. Julián Vicente Corea Robleto y la Sra. Sandra del Carmen Zúniga Pulido que depositaron su confianza y apoyo incondicional.

A mis tías, en especial a la Sra. Margarita Haydé Pulido Zúniga por inculcarme la importancia de estudiar y salir adelante en la vida, por haberme ayudado durante toda la carrera.

A mis dos hermanos Emilio de Jesús Corea Zúniga y Julio Domingo Corea Zúniga por su cariño, apoyo en cada una de mis decisiones.

A mi novio Jaime Alfredo Martínez Lewis por haberme acompañado en esta etapa, de mi vida.

A mi compañera de tesis y amiga, Jordanka Paola Estrella Tercero por su dedicación y empeño en nuestro trabajo.

A todos mis amigos de la universidad, por su cariño y apoyo que es de gran importancia.

A mi mascota luna (q.p.d.).

Bielka J. Corea Zúniga

AGRADECIMIENTOS

A nuestro asesor estadístico el Ing. Carlos Ruiz por orientarnos.

Agradecemos al docente el Dr. Lázaro de Jesús Morejón Aldama por ayudarnos en la realización de este estudio.

A la Vicedecana de la Facultad de Ciencia Animal, UNA Ing. Rosa Argentina Rodríguez por tomarse el tiempo, y ayudarnos en la corrección del documento.

Al Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación CEVEDI, UNAN –León en especial al Dr. William Jirón, Lic. Brenda Mora y Dr. Omar Bucardo por su apoyo en el análisis serológico.

Al Lic. Freddy Argüello por su ayuda al realizar el anteproyecto de tesis.

A Irayda Elena Álvarez Blanco y Emilia Anabel Casco Telleria ya que hicieron la realización de esta trabajo más ameno.

A los jóvenes Jaime Alfredo Martínez Lewis y Darwin Roberto Silva Brizuela por apoyarnos en la fase de campo del presente estudio.

Bielka J. Corea Zúniga

J. Paola Estrella Tercero

ÍNDICE DE FIGURAS

| FIGURAS | PÁGINA |
|--|---------------|
| 1. Porcentaje de afección de acuerdo a ELISA | 28 |
| 2. Porcentaje de afección de edad según ELISA. | 29 |
| 3. Porcentaje de afección por raza de acuerdo a ELISA | 30 |
| 4. Porcentaje de afección por sexo de acuerdo al ELISA | 31 |
| 5. Porcentaje de afección de acuerdo a la prueba de MAT. | 32 |
| 6: Afección de razas de acuerdo al método MAT. | 33 |

Índice de anexo

ANEXOS

| | |
|------|--|
| 1 A | Leptospiras spp |
| 2 A | Estructura de la bacteria |
| 3 A | Estructura de la bacteria interrogans |
| 4 A | Mapa del Distrito II de Managua |
| 5 A | Toma de la muestra de sangre |
| 6A | Toma de datos |
| 7 A | Centrifugado de las muestras |
| 8 A | Separación del suero |
| 9 A | Diluciones |
| 10 A | Vortex |
| 11 A | Aplicación del reactivo |
| 12 A | Aplicación del revelador |
| 13 A | Lector de ELISA |
| 14 A | Cepario utilizado |
| 15 A | Hoja de campo |
| 16 A | Porcentaje de edad de los canes muestreados |
| 17 A | Porcentaje de las razas de los perros muestreados |
| 18 A | Porcentaje según, sexo |
| 19 A | Porcentaje de afección de raza según edad de acuerdo ELISA |
| 20 A | Porcentaje de afección de sexo según edad de acuerdo ELISA |
| 21A | Afección de las razas según edad de acuerdo a MAT |

COREA, B.J.; ESTRELLA, J.P. 2009. Diagnóstico de prevalencia de leptospirosis canina con respecto a las variables edad, sexo y raza, en ocho barrios del distrito II de la ciudad de Managua septiembre 2007. Tesis para optar al grado de licenciado en medicina veterinaria.

Palabras claves: leptospirosis, caninos, prevalencia, ELISA, MAT.

Diagnóstico de prevalencia de leptospirosis canina con respecto a las variables edad, sexo y raza, en ocho barrios del distrito II de la ciudad de Managua septiembre 2007.

RESUMEN

La leptospirosis es considerada una de las zoonosis más difundidas en el mundo entero. El perro actúa como un potencial diseminador de esta enfermedad ya que mantiene una estrecha relación con el hombre, y al mismo tiempo con otros animales tanto domésticos como salvajes. Con el objetivo de conocer la presencia de leptospirosis canina, se realizó estudio en ocho barrios del distrito dos de la ciudad de Managua entre 8 de septiembre al 9 de diciembre 2007. Se realizó un muestreo de 76 canes, correspondiente al 5% del total de canes en los ocho barrios. Se extrajo 3ml de sangre de la vena safena externa, luego de procesarlas para separar el suero sanguíneo del plasma mediante centrifugación, fueron trasladadas al laboratorio del Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación CEVEDI, UNAN-León, para su análisis mediante los métodos ELISA y MAT. De acuerdo con los resultados obtenidos mediante la prueba ELISA un 93.4%, 71 canes, son negativos y un 6.6%, o bien 5 especímenes, son seropositivos a *Leptospira spp.* Según los resultados de la prueba de micro aglutinación MAT, el 96.1% de la población muestreada es negativa y el 3.9% es positiva a leptospirosis encontrándose los siguientes serovares *canicola*, *icterohemorrhagiae*, *pyrogenes*.

COREA, B. J.; ESTRELLA, J. P. 2009. Descriptive study of canine leptospirosis prevalence with respect to the variables age, sex and race, in District II of the eight towns of Managua city in September 2007-2008.

Key words: Leptospirosis, canine, seroprevalence, ELISA, MAT.

ABSTRACT

The Leptospirosis is considered one of the most widespread zoonosis in the world. The dog acts as a potential disseminator of this disease since it maintains a close relationship with man, while other animals both domestic and wild. In order to know the presence of leptospirosis canine study was conducted in eight towns of the district II of Managua city from September 8 to December 9 2007. We performed a sample of 76 dogs, corresponding to 5% of dogs in the eight towns . 3ml of blood was drawn from the external saphenous vein, then processed to separate the blood serum of plasma by centrifugation, were transferred to the laboratory of the Central Veterinary Diagnostic and Research CEVEDI, UNAN-León, for analysis by ELISA and MAT . According to the results obtained by an ELISA 93.4%, 71 dogs, and a negative 6.6%, or 5 specimens were seropositive for *Leptospira* spp. The results of the micro-agglutination test MAT, 96.1% of the sampled population is negative and the positive 3.9% to leptospirosis found the following serovars canicola, icterohemorrhagiae, and pyrogenes

I. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa causada por distintos tipos de *Leptospira*: *Leptospira canicola* y *Leptospira icterohemorrhagiae*. La serovariedad asociada con la leptospirosis de los perros es *L. canicola*, que ocasiona una grave enfermedad renal en los cachorros, pero pueden ser afectados por otros serovares (Quinn y Markey, 2005).

Por la conducta muy especial de la especie canina de marcar su territorio con orina, esta se disemina fácilmente y en ocasiones, lleva la contaminación directamente al alimento y agua de consumo; o incluso en algunos casos estos animales comparten un mismo espacio con otros animales domésticos y con el ser humano, lo que facilita aún más la contaminación directa del patógeno (Rosales, 1990 citado por Sheleby, 2006).

La transmisión se da cuando las bacterias penetran en las mucosas de la boca, nariz, u ojos, se multiplican e invaden la sangre (fase febril). Por esta vía se distribuyen a órganos como los riñones y el hígado. Tiene un periodo de incubación que varía entre 5 y 15 días, pero el perro despiden bacterias en su orina a partir del octavo día de la infección (fase de localización). Puede causar la muerte en 48h. Es una enfermedad de importancia sanitaria por ser zoonótica (Carter, 1969).

Los primeros signos clínicos son inespecíficos y consisten en fiebre, depresión, letargia, anorexia, artralgia o mialgia y secreción oculonasal. Estos pueden progresar a los pocos días hacia una crisis urémica caracterizada por vómitos, deshidratación, dolor lumbar por renomegalia y nefritis, ulceración y necrosis de la punta de la lengua. La ictericia y la bilirrubinuria que sigue la colestasis y/o necrosis hepática se desarrollan en un ~20% de estos casos y pueden estar presente sin insuficiencia renal (Kahn, 2007).

Los países tropicales y subtropicales son los más afectados, pues las condiciones climáticas como: precipitación, temperatura, humedad relativa, pH, estructura y composición de suelo, favorecen la supervivencia de estas bacterias (Sandow y Ramírez, 2007).

El agente infeccioso sólo requiere de una especie vertebrada para cumplir su ciclo de vida (zoonosis directa), en muchos de estos países, el perro es un significativo reservorio de infección para el humano, y puede ser una importante fuente de inicio de un brote epidémico (Silva y Riedemann, 2007).

El diagnóstico de la leptospirosis basado en los signos clínicos es difícil de establecer porque no son patognomónicos. El diagnóstico es un hecho complejo, en el que deben considerarse la epidemiología, los factores de riesgo, los signos clínicos, las lesiones y los hallazgos de laboratorio (Stanchi *et al*, 2007). La serología es la prueba diagnóstica más útil y frecuentemente utilizada en perros. Para confirmar un diagnóstico, pueden ser necesarios los títulos de las fases agudas y convalecientes (Kahn, 2007).

La insuficiencia renal y la enfermedad hepática se tratan con fluidoterapia y otras medidas terapéuticas de apoyo para mantener los niveles normales de líquidos y electrolitos. La antibioterapia consiste en penicilina, ampicilina o doxiciclina a fin de eliminar la leptospiremia, seguido de doxiciclina para eliminar la fase de portador renal (Kahn, 2007).

En el hombre, las manifestaciones clínicas varían ampliamente dependiendo de la forma de presentación: febril, meníngea o hepática. En el primer caso, se caracteriza por fiebre moderada (38-40° C), dolor de cabeza y muscular (Rossetti, 2008).

Puede también estar acompañado de anorexia y náuseas. Este estado suele confundirse con gripe o el inicio de alguna infección viral. Esta forma febril puede tener dos ondas, estando separadas ambas ondas febriles por 1 a 3 días afebriles. Si no se trata adecuadamente, la postración, epistaxis, delirio y alucinación suelen ser las consecuencias de este cuadro.

La forma meníngea se caracteriza por dolores de cabeza y cuello, fiebre, fotofobia y convulsiones. De las 3 formas, es la de mejor pronóstico.

La forma hepática suele también ir acompañada de falla renal. Hay ictericia y oliguria, junto con severas hemorragias y complicaciones cardíacas y pulmonares. Es la forma de leptospirosis humana en la que se registra el mayor porcentaje de muertes (Rossetti, 2008).

II. OBJETIVOS

- *Objetivo general:*

Conocer la prevalencia de Leptospirosis en canes de ocho Barrios del Distrito II de la ciudad de Managua, en el período de Septiembre 2007 - Enero 2008.

- *Objetivos específicos:*

1. Establecer la prevalencia de la leptospirosis, utilizando el método de Ensayo inmunoenzimático (ELISA) y Método de aglutinación en tubo (MAT).
2. Determinar si existe relación entre los canes seropositivos a leptospirosis y la edad, raza y sexo de los mismos.
3. Tipificar los serovares circulantes en el área muestreada.

III. MARCO DE REFERENCIA

La infección se presenta en aproximadamente 160 especies de mamíferos. Cada serovar tiene sus huéspedes animales predilectos, pero cada especie animal puede ser huésped de uno o más serovares (Acha, 2001).

La leptospirosis canina es producida por una *Leptospira*, que comúnmente es *L. canicola* (Cepa Hond Utrecht IV) o *L. icterohemorrhagiae*, cuyo principal transmisor es el perro (*Canis familiaris*) y el rata (*Rattus norvegicus*) respectivamente (Luna *et al*, 2004). Se presenta como una infección aguda de riñón e hígado y, a veces, como una septicemia.

La enfermedad crónica renal es una secuela común de infección y los abortos pueden ocurrir en hembras preñadas (McDonough, 2001).

3.1. Sinonimias

La Leptospirosis canina producida por *L. canicola* es conocida también como Tifus del perro, Enfermedad de los manipuladores de pescados, ictericia enzootica y enfermedad de Stuttgart en Europa (Sandow y Ramírez, 2007).

3.2. Clasificación

Las especies de leptospira se clasifican en genoespecies por su homología del ADN y dentro de cada especie se reconocen diversas serovariedades en función de sus reacciones serológicas. Se han definido más de 250 serovariedades en 23 serogrupos, las serovariedades con antígenos comunes pertenecen al mismo serogrupo (Nicolet, 1986).

3.2.1. Clasificación de la bacteria

| | |
|-----------|-------------------------------|
| Dominio | Bacteria |
| Phylum | <i>Spirochaetes</i> |
| Clase | <i>Spirochaetes</i> |
| Orden | <i>Spirochaetales</i> |
| Familia | <i>Leptospiraceae</i> |
| Género | <i>Leptospira</i> |
| Especie | <i>Leptospira interrogans</i> |
| Grupo | <i>Canicola</i> |
| Serogrupo | <i>canicola</i> |
| Especie | <i>Hond Utrecht IV</i> |

Fuente: Merchant y Parcker, 1980.

3.3. En Nicaragua se encuentran los siguientes serotipos de Leptospira

| Especie | Serogrupo | Serovar |
|-----------------------|--------------------------|--------------------|
| <i>Australis</i> | <i>Australis</i> | <i>nicaragua</i> |
| <i>Interrogans</i> | <i>Canicola</i> | <i>canicola</i> |
| <i>Interrogans</i> | <i>Icterohemorragiae</i> | <i>copenhageni</i> |
| <i>Interrogans</i> | <i>Pyrogenes</i> | <i>pyrogenes</i> |
| <i>Interrogans</i> | <i>Sejroe</i> | <i>hardjo</i> |
| <i>Borgpetersenii</i> | <i>Tarassovi</i> | <i>rama</i> |
| <i>Interrogans</i> | <i>Hebdomadis</i> | <i>recreo</i> |
| <i>Kirshneri</i> | <i>Grippotiphosa</i> | |
| <i>Borgpetersenii</i> | <i>Javanica</i> | <i>javamca</i> |

Fuente: Myers, 1985.

3.4. Características de la bacteria

El término "Leptospira" procede del griego lepto (fino) y espira (espiral) (Anexo1). Las leptospiras son bacterias helicoidales miembros del Orden *Spirochaetales*, con extremos libres que terminan en forma de ganchos; son móviles, aerobios, Gram negativas, cultivables, y de unos 6 a 20 μ de largo por 0.1 a 0.5 de ancho y pueden atravesar filtros que retienen a otras bacterias. Se pueden visualizar por microscopía de campo oscuro (Acha, 2001).

Poseen un movimiento activo flexuoso de rotación, ondulatorio y translucidación que se produce en ausencia de flagelos externos y depende de dos flagelos piro plasmático (filamento axial), que están insertados en ambos extremos de la bacteria (Anexo 2 y 3).

La leptospira no se tiñe bien con la tinción convencional de Gram, pero son fácilmente visibles con tinciones de anticuerpos fluorescentes (FA) de preparados tisulares o sedimento urinario, la tinción de plata de Warthin-Starry o tinción de tejidos fijados por inmunohistoquímica (McDonough, 2001).

Por lo general las espiroquetas se reproducen por fisión transversal. La temperatura óptima de crecimiento es 30°C, temperaturas menores de 13°C o mayores de 35°C provocan la muerte rápidamente (Sandow y Ramírez, 2007).

La leptospira no se multiplica fuera del huésped, y es altamente susceptible a la desecación y a los cambios de pH (pH<6 y pH>8 son inhibidores) y a la salinidad. Necesitan la presencia de materia orgánica.

No pueden sintetizar sus propios ácidos grasos, por lo tanto dependen de los exógenos de cadena larga que le suministre estos ácidos grasos, estos sirven como fuente de carbono y energía. Además necesitan vitaminas B1 y B2 para su crecimiento (Nicolet, 1986).

Las Leptospiras son susceptibles a distintas sustancias químicas: fenol al 5%, alcohol al 70%, formol al 2%, ácido clorhídrico 2%, emulsión de creolina al 5%, sosa cáustica al 2%, durante 5 minutos, solución al 0.05 % de ácido sulfúrico, en 5 minutos, solución hipertónica de sal común (2,8%), bilis, putrefacción y a la mayoría de los antibióticos in vitro o in vivo como la penicilina, estreptomycin, aureomicina y los grupos macrólidos (Sandow y Ramírez, 2007).

También son sensibles a los detergentes. En algunas ocasiones pueden resistir a tratamientos térmicos de 50-55°C durante 30 a 60 minutos. Se caracterizan por ser oxidasa, peroxidasa y catalasa positivas. Pueden elaborar hialuronidasas, fibrinolisin, lipasas y hemolisinas (Vadillo *et al*, 2003).

3.5. Distribución y transmisión

La Leptospirosis es una enfermedad cosmopolita. Hay serovares universales como el *L. interrogans* serovar *icterohemorrhagiae* y serovar *canicola*; y serovares que se presentan solo en ciertas regiones. Cada región se caracteriza por los serotipos que contiene, determinados por su ecología. La leptospirosis tiene una alta prevalencia en los países tropicales donde hay grandes precipitaciones pluviales y el suelo es neutro o alcalino (Acha, 2001).

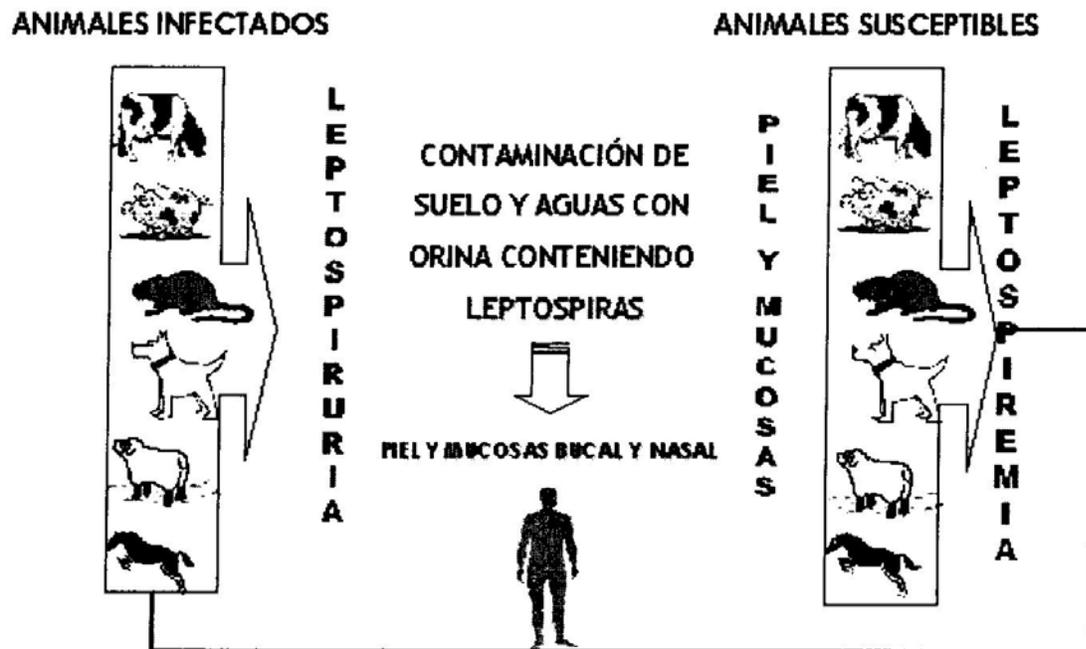
Es una enfermedad estacional, si bien el contagio puede producirse en cualquier mes del año. En climas templados es más frecuente en los meses de verano y otoño; en los climas tropicales coincide con las estaciones de lluvias.

No sólo se ven afectados por las leptospiras los mamíferos domésticos sino también los mamíferos silvestres, que en muchos casos constituyen los reservorios naturales de estos microorganismos, como es el caso de los roedores. A la especie humana le afectan todas las serovariedades patógenas para los animales, lo que hace que estos sean su fuente de infección (zoonosis) (Vadillo *et al*, 2003).

Las principales vías de transmisión se clasifican en: Directa e Indirecta.

- Horizontal directa: contacto directo y núcleos goticulares
- Horizontal indirecta: exposición a material contaminado, fómites, vectores y órganos de animales enfermos en el matadero.
- Vertical: Transplacentaria y vía oral (Sandow y Ramírez, 2007).

3.5.1 Trasmisión



Fuente: Alfaro *et al*, 2004.

3.6. Epizootiología

El perro es el "huésped reservorio primario" para la *L. canicola* (*L. canicola* se encuentra en los huéspedes accidentales como ratas, mapaches, erizos, ratones de campo y zorrillos). Los perros además pueden infectarse con varios serovares más, como *L. icterohemorrhagiae* y servir como "huéspedes accidentales ó incidentales" (McDonough, 2001).

3.7. Prevalencia

La prevalencia indica el número de casos que prevalecen en cierto tiempo. El punto de prevalencia es el número total de casos existentes en ese punto del tiempo, no importando si los casos son nuevos, viejos o casi recuperados (García, 1990).

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

La infección es más frecuente en machos y canes en edades de 3 a 8 años (Cordero, 1958). La OMS (Organización Mundial de la Salud) ha estimado una tasa de incidencia en humanos entre 4-100 casos por cada 100 000 habitantes en casos de países tropicales y subtropicales (Sandow y Ramírez, 2007).

En una encuesta realizada en 1997 por la OPS (Organización Panamericana de la Salud) en once países de la región (América Latina), (Brasil, Cuba, Ecuador, El Salvador, Honduras, México, Nicaragua, Paraguay, Perú y Uruguay), Brasil fue el país que notificó el mayor número de casos, seguido de Cuba, Nicaragua y México (Castillo y Urey, 2006).

3.8. Patogenia

Las Leptospiras penetran las membranas mucosas o piel intacta o raspada, esto se lo permiten los factores de virulencia, que incluyen, factores de adherencia asociados con proteínas de superficie (OSP) que le permiten adjuntarse a la fibronectina y colágeno del huésped (Rossetti, 2008).

Durante los 4 a 11 días próximos, los microorganismos invaden el torrente sanguíneo, multiplicándose en éste y en el parénquima hepático durante un período de incubación entre 2-30 días, circulando en la sangre provocando leptospiremia por al menos 7 días.

La leptospiremia temprana se asocia con los signos clínicos de fiebre, anemia transitoria debida a la hemólisis, leucocitosis, hemoglobinuria y albuminuria (Rossetti, 2008).

La aparición de anticuerpos específicos detectables aproximadamente a los 10 días de la infección junto a la acción leptospiricidas de las beta-macroglobulinas del suero y la acción del complemento y la lisozima, hacen que desaparezcan las *Leptospiras* en torrente sanguíneo.

Luego se localizan en diferentes órganos, tales como: la cámara anterior del ojo, las meninges y el riñón, donde los anticuerpos tienen poco acceso, y en el útero grávido provocando aborto. La razón más aceptada para explicar el aborto son las lesiones endoteliales sistémicas, que también se presentan en los placentomas e impiden la transferencia de nutrientes y metabolitos entre la madre y el feto (Rossetti, 2008).

La motilidad por excavación y el tropismo orgánico de las *Leptospiras* se han sugerido como mecanismos por los que éstas alcanzan sitios normalmente protegidos del organismo, como el líquido cefalorraquídeo (LCR) y el ojo (Sandow y Ramírez, 2007).

Las *Leptospiras* se acantonan en el riñón, lugar de difícil acceso para los anticuerpos, posteriormente se multiplican en la luz de los túbulos contorneados renales, principalmente en las proximidades de la microvelocidades.

Donde la nefritis está provocada por el daño capilar y la producción de determinadas endotoxinas y hemolisinas, que terminan por producir anoxia y nefrosis hemoglobinúrica, por la posible isquemia debida a la agregación intravascular de hemoglobina que obstruye los capilares y también por la presencia de mono nucleares infiltrados por una reacción autoinmune lo que da lugar a la siguiente fase, leptospiuria, que dura 6 meses o más en los perros, y en los roedores toda la vida (Sandow y Ramírez, 2007).

En los caninos la forma más aguda afecta a los cachorros produciendo fiebre, signos localizados y normalmente es mortal en un plazo de días. *Ante mortem*, con frecuencia se observan vómitos y hemorragias en las mucosas y piel, o se manifiestan por epistaxis, o por heces teñidas con sangre (Biberstein, 1994).

3.9. Sintomatología

Enfermedad peraguda a subaguda:

Los signos no siempre se presentan, pero puede ocurrir anorexia, fiebre de 38.5 – 40°C, mialgia, rigidez, temblores, depresión, vómitos ocasionalmente, diarrea y por consiguiente deshidratación (McDonough, 2001).

También se presentan hemorragias en las membranas y lesiones necróticas. Luego la temperatura corporal desciende. La ictericia es poco común en caso de infección con *L. canicola*. A la palpación del abdomen hay dolor.

Enfermedad aguda:

Hay conjuntivitis, mucosa oral congestionada, tos seca espontánea y con disnea. Puede haber micción frecuente, a menudo con hematuria y, en el caso de que se produzca una insuficiencia renal aguda habrá disminución de la orina en vez de aumento. La orina suele ser oscura. Hay deposición grisácea y pérdida de peso crónica (McDonough, 2001).

Sifosis, debido al dolor renal. Puede presentarse hematemesis, hematoquezia, melena y epistaxis, las extremidades se encuentran frías. La muerte ocurre en casos no tratados.

Enfermedad crónica:

No hay signos específicos, puede presentarse fiebre y una leve a severa conjuntivitis. Generalmente dura de 3-4 semanas y termina en la muerte del perro (McDonough, 2001).

3.10. Lesiones anatomopatológicas

Durante la necropsia se puede observar acumulo de líquido serolo-gelatiliforo rojizo en el tejido subcutáneo, hemorragias petequiales o equimóticas en cualquier órgano, en la superficie pleural o peritoneal, hígado hipertrofiado, friable, con un acentuado patrón lobular y puede presentar una decoloración parda amarillenta. Los hallazgos microscópicos en el hígado pueden incluir necrosis hepatocítica, hepatitis no supurativa y estasis de los conductos biliares (Kahn, 2007).

La vesícula biliar se encuentra llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro, bazo de tamaño normal de color amarillento, en pulmón las lesiones van desde alteraciones blanco amarillento en la superficie a focos hemorrágicos (Sandow y Ramírez, 2007).

Degeneración y hemorragia en el músculo cardíaco. Los riñones se hallan edematosos, de color rojizo o pardo oscuro con nefritis intersticial, focos blancos en la superficie capsular, lesiones necróticas e ictéricas por toda la superficie y hemorragia. La vejiga se encuentra llena de orina turbia o rosada, los ganglios se hallan tumefactos y hay enteritis (Kahn, 2007).

Microscópicamente puede observarse hinchazón de las células epiteliales tubulares, necrosis tubular y respuesta inflamatoria mixta (Kahn, 2007).

También se puede encontrar ictericia, fluido libre en cavidades corporales, lesiones petequiales dispersas y edema peri renal. En los fetos abortados se observan congestión generalizada (Sandow y Ramírez, 2007).

3.11. Inmunidad

Ante la agresión producida por las leptospiras, el organismo reacciona primariamente con una respuesta sérica caracterizada por la producción de inmunoglobulinas (Ig) del isotipo IgM, que pueden detectarse por el método de aglutinación microscópica (MAT) a los 5 a 7 días del comienzo de la infección. Sin embargo, por técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) pueden evidenciarse unos días antes, acelerando el diagnóstico.

Las IgM están dirigidas contra distintos tipos de epitopes del microorganismo, pero la de mayor importancia y a las cuales se asigna actividad protectora son inducidas por el lipopolisacárido (LPS) leptospiral (Stanchi *et al*, 2007).

Tras la infección, inicialmente se produce una elevación de las IgM, que alcanzan niveles detectables a los pocos días de la desaparición del periodo febril que acontecen durante la fase de bacteriemia, es decir a los 2-5 días de la aparición de los signos de la enfermedad aguda (McDonough, 2001).

Los anticuerpos IgM dificultan la multiplicación de las leptospiras, pero no las destruyen, disminuyen poco después de la aparición de las IgM, comienzan a detectarse las IgG específicos, que producen la lisis de las leptospiras.

Estos anticuerpos persisten durante años en el animal. Las IgM alcanzan su pico máximo a las 3-4 semanas y las IgG a las 4-12 semanas tras la infección.

Durante toda la fase de leptospiuria, los niveles de IgM pueden no detectarse en sangre. En cambio, se puede detectar las IgG en orina, aproximadamente a las 6 semanas después de la infección (McDonough, 2001).

La importancia de los anticuerpos en la defensa de la infección estaría dada por la acción opsonica, que a través de la fijación a los fagocitos mononucleares y los leucocitos polimorfonucleares (PMN), permite la ingestión más rápida y la destrucción más eficaz de las leptospiras. Aparentemente, el sistema de complemento no estaría involucrado en la destrucción de estos microorganismos (Stanchi *et al*, 2007).

La formación de anticuerpos tarda entre 15 y 20 días, por lo tanto para cuando estén listos en suficiente cantidad, el animal ya habrá enfermado.

Cuando un cachorro toma leche materna recibe anticuerpos contra varias enfermedades, según el estado de las defensas de la madre. Estos se mantienen en la circulación del cachorro durante un tiempo y le sirven de protección, pero se van destruyendo y hacia los 45 días, en promedio, ya no son suficientes para prevenir contagios. Es a partir de esta edad que comienzan a aplicarse las primeras dosis de vacunas para suplir a los anticuerpos maternos (Pazmiño, 2008).

El mecanismo de acción de las vacunas se basa en estimular el sistema de defensa del organismo. Cuando un virus (o cualquier otro agente infeccioso) penetra en el cuerpo, las células de defensa (linfocitos T) lo reconocen y crean anticuerpos específicos para atacar cualquier agente que contenga esa partícula que han detectado (McDonough, 2001).

Las vacunas actualmente utilizadas en perros en la mayoría de los países contienen los serovares *L. canicola* y *L. icterohemorrhagiae*. En vacunas más recientes *L. grippotyphosa* y *L. pomona* han sido agregadas.

Se deben considerar los serovares de leptospira en una región en particular y determinar que en la vacuna se encuentran los serovares apropiados (McDonough, 2001).

La investigación actual sobre vacunas está enfocada hacia los productos de la subunidad y su objetivo es determinar que fracción o fracciones de la pared celular de la leptospira son inmunogénicas y protectoras sin ser tóxicas al animal. Una vacuna ideal reduciría el índice de reacciones adversas, y así mismo produciría protección contra ambos serovares homólogos y heterólogos (McDonough, 2001).

En general se sabe que las hembras de todas las especies mamíferas son más reactivas inmunológicamente que los machos. Esta diferencia se debe a la influencia de las hormonas sexuales, que han demostrado claramente afectar al sistema inmunitario a distintos niveles aunque el mecanismo o los mecanismos, a nivel celular no se conocen (Sosa *et al*, 2007).

La principal célula afectada parece ser el linfocito T, y hay evidencias que sugieren que las hormonas sexuales pueden alterar el balance entre las poblaciones T-helper y T-supresor. El hecho de que las hembras "respondan mejor" se debe a la producción diferencial de hormonas esteroides en los respectivos sexos y su influencia sobre los tejidos linfoides.

Las hembras son más resistentes a los agentes infecciosos, pero, por otro lado, son más propensas al desarrollo de enfermedades de tipo inmune (Sosa *et al*, 2007).

3.12. Diagnóstico

La serología es la prueba diagnóstica más útil y frecuentemente utilizada en perros. Otras pruebas diagnósticas, como la microscopía de campo oscuro, los anticuerpos fluorescentes, la PCR, el cultivo y la histopatología se utilizan con menos frecuencia ante-mortem. La observación de las leptospiras en tejidos con tinción de plata o con la prueba de los anticuerpos fluorescentes es una prueba preferible post-mortem (Kahn, 2007).

3.12.1. Pruebas serológicas

A. ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzima): Es capaz de detectar la IgM durante la primera semana de la enfermedad y la detección tardía de IgG, que permite diferenciar entre infecciones recientes y pasadas (Sandow y Ramírez, 2007).

La detección de anticuerpos específicos IgM con una sola muestra es confirmatoria de una infección reciente por *Leptospiras*.

Se considera más sensible que MAT, es fácil de estandarizar los antígenos, pueden almacenar durante meses, no tiene ningún riesgo para los técnicos y presenta pocas reacciones cruzadas (Sandow y Ramírez, 2007).

No diferencia los anticuerpos vacunales de las infecciones. A pesar de que es una prueba muy eficaz, aun no está considerada como prueba oficial.

B. Método de aglutinación en tubo o microscópica (MAT): es la técnica de referencia internacional. Es altamente específica y no presenta reacciones cruzadas con otras enfermedades.

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

La prueba de MAT se realiza usando la metodología convencional con un panel de serovares de *Leptospira* como antígenos vivos.

La prueba se hace en microplacas agregando 50 µl de cada antígeno a 50 µl del suero previamente diluido 1:50 con PBS. Las placas se cubren y se incuban por 1 hora a 37°C. Con los sueros se efectúan reacciones de aglutinación microscópica, para ello en un portaobjetos se coloca una gota del suero por estudiar y una gota de suspensión de leptospiras tomadas directamente del cultivo en medio líquido.

Las laminillas se observan al microscopio de campo oscuro en 10X. La prueba se interpreta como positiva cuando se observa una aglutinación igual o mayor al 50% de las leptospiras con cualquiera de los serovares (Secretaría de salud México, 2007).

- C. PCR: Permite identificar leptospiras directamente a partir de muestras de orina o bien aisladas previamente en medios de cultivos (Vadillo *et al*, 2003).
- D. Prueba de Aglutinación Microscópica con Antígeno Muerto (MSAT): La aglutinación que se produce es semicuantitativa y puede leerse a simple vista. Pero no diferencia reacción entre anticuerpos de la infección reciente y tardía.
- E. Fijación del Complemento (FC): no permite la diferenciación de serovares y no detecta niveles bajos de anticuerpos.
- F. Aglutinación macroscópica: falta de sensibilidad y no es capaz de determinar el serovar.
- G. Aglutinación en micro cápsula: no puede detectar infecciones causadas por otros serovares.

3.12.2. Técnicas directas

- A. Observación en microscopio de campo oscuro: Este método se realiza para la observación de Leptospiras en los fluidos orgánicos (Sandow y Ramírez, 2007).
- B. Tinción Argénica: Se utiliza para la demostración de Leptospiras en los órganos de animales presumiblemente muertos por Leptospiras.
- C. Técnicas de tinción Inmunohistoquímica: Tienen baja sensibilidad, por lo que son poco adecuados para el diagnóstico de portadores crónicos.
- D. Inmunofluorescencia: Casi siempre se utiliza en el diagnóstico para los casos de abortos y de la presencia de Leptospiras en sedimentos de orina.

- E. El examen del sedimento de orina centrifugada mediante FA es una prueba más definitiva y las *Leptospiras* no necesariamente deben estar viables. Pero necesita la utilización de microscopio de fluorescencia.

- F. Aislamiento: técnica más sensible para el diagnóstico de *Leptospiras*, además confirma la presencia del germen, tanto en casos agudos como crónicos, a pesar de que requiere mucho tiempo y de laboratorios especializados.

- G. Cultivo: no es práctico debido a lo engorroso de la enfermedad (Sandow y Ramírez, 2007).

3.13. Diagnóstico diferencial

Los diagnósticos diferenciales de enfermedad peraguda ó aguda en el perro, incluyen la enfermedad por gusanos cardiacos (dirofilariosis), anemia autoinmune hemolítica, bacteriemia (debido a heridas por mordedura, prostatitis, enfermedad dental), hepatitis infecciosa viral canina, neoplasia hepática, trauma, lupus, fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, ehrlichiosis, toxoplasmosis, neoplasia renal, y cálculos renales.

Los diagnósticos diferenciales de enfermedad crónica, por ejemplo, aborto, síndrome del cachorro débil, incluyen brucelosis canina, infección canina por herpesvirus y distemper (McDonough, 2001).

3.14. Tratamiento

En caso de disfunción renal y/o leptospiremia, se recomienda el uso de penicilina G procaína (40 000 a 80 000 unidades por kg, IM, una vez al día, o en dosis divididas, dos veces al día).

La estreptomina en dosis de 40mg por kg de peso durante 3 a 5 días suprime el serotipo *canicola* de los riñones de los perros infectados, la quimioterapia se considera eficaz si se inicia antes del tercer o cuarto día de la enfermedad y se continua cada 6 horas hasta que el paciente no presente manifestaciones clínicas (Merchant y Parcker, 1980).

También pueden utilizarse fármacos alternativos en lugar de penicilinas como ampicilina o amoxicilina.

La eliminación de leptospira del tejido intersticial renal a fin de controlar el estado de portador se logra mejor utilizando Dihidroestreptomina (10 a 15mg/kg, IM, 2 veces al día por dos semanas). La doxiciclina no está formalmente aprobada, pero una administración oral de 5.0mg por kg una vez al día durante 7 días, ha sido propuesta. Los aminoglicósidos no pueden utilizarse en pacientes hasta que se restablezca la función renal (McDonough, 2001).

Se deben utilizar protectores hepáticos como el Hematopan B12 1ml por 5kg de peso IM diario por 5 días, y hematínicos (antianémico contiene hierro, ácido fólico, B12 y eritropoyetina) (Bustamante, 2005).

La terapia de sostén depende de la magnitud del cuadro, de la presencia de disfunción renal o hepática. Se infunden líquidos para superar el estado de choque y deshidratación, y se indica diuresis química con agentes osmóticos (glucosa al 10% 5.5ml/kg) o diuréticos tubulares (furosemida) para los casos oligúricos (Ettinger y Feldman, 2001 citado por Sheleby J., 2007).

3.15. Prevención y profilaxis

Primeramente deben desinfectarse con yodo 4ml por litro de agua, los sitios que fueron contaminados con la orina del perro enfermo y aislamiento de estos. Evaluación por el médico veterinario de los niveles o títulos de anticuerpos serológicos (Bustamante, 2005). Los perros deben evitar, aguas estancadas o lodosas (McDonough, 2001).

El control de roedores debe instituirse. Instaurar un programa de vacunación anual con bacterinas que contengan los serotipos más frecuentes diagnosticados (Bustamante, 2005). En áreas endémicas debe reforzarse cada seis meses.

La eliminación de *Leptospiras* del tejido intersticial renal a fin de controlar el estado portador se logra mejor utilizando dihidroestreptomicina (10 a 15mg por kg, IM, dos veces al día por 2 semanas) o estreptomicina (McDonough, 2001).

3.15.1. Importancia sanitaria

La importancia radica en que esta es una enfermedad zoonotrófica, es necesario llevar un control de los transmisores de la enfermedad, como lo son las ratas y los perros. Está considerado que los casos de leptospirosis humana adquirida por contacto con perros son más del doble que los adquiridos con otras especies como bovinos, cerdos y ratas (Luna *et al*, 2004).

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1. Ubicación del área de estudio

El estudio descriptivo de leptospirosis canina realizado en ocho barrios del Distrito II del municipio de Managua, que geográficamente, limita al norte con el lago de Managua (Xolotlán), al sur con el distrito III, al este con el distrito IV y al oeste con el municipio de Ciudad Sandino (Anexo 4).

La extensión del distrito abarca una superficie de 18.0514 km², cuenta con 106 barrios y la densidad de población es de 8 007 habitantes/km², con un promedio de un perro por cada ocho personas (Manfut, 2008).

Según INETER 2008, la ciudad de Managua cuenta con precipitaciones de 1 119.8 mm anuales, una temperatura ambiental promedio de 26.9°C, una humedad relativa del 74% y vientos de 1.6m/ s.

4.2. Población y muestra

Sánchez F.¹ y Rayo L.² 2008 informaron que la población de canes en los ocho Barrios muestreados del Distrito II de Managua para el año 2007 fue de 5 449 especímenes.

Población canina por barrio

| Barrio | M. Lezcano | Las palmas | Sn. Sebastián | El Bóer | Sn. José | Acahua- linca | Batahola Norte | St. Ana Norte | Total |
|--------|------------|------------|---------------|---------|----------|---------------|----------------|---------------|-------|
| Pobl. | 766 | 113 | 678 | 758 | 525 | 1177 | 925 | 507 | 5449 |

¹En comunicación personal Centro de salud Sócrates Flores.

²En comunicación personal Centro de salud Morazán.

La muestra se tomó con un margen de error del 5% y un grado de confianza del 95%, para esta población se determinó que el tamaño de la muestra que se debe tomar es de 73.

4.3. Metodología del estudio

4.3.1. Tipo de estudio

Un estudio observacional de tipo transversal mide la prevalencia de la enfermedad y por eso suelen denominarse estudio de prevalencia. Al inicio sólo se conoce el número total de individuos que se incluirán. La medición de la cantidad de enfermedad y de los factores de exposición se realiza simultáneamente una vez seleccionada la muestra. Técnicamente un estudio transversal ofrece una instantánea de los sucesos que pasan en un momento determinado del tiempo (Fabrega y Mateu, 1999 citado por Centeno, A. y Marengo, E. 2007).

4.3.2. Población en estudio

La unidad de análisis fueron todos aquellos canes que asistieron a la jornada de vacunación antirrábica impulsada por el departamento de epidemiología del MINSA (Ministerio de Salud) en el territorio seleccionado para el estudio y cuyos propietarios autorizaron la toma de la muestra en el periodo comprendido entre Septiembre – Diciembre 2007, teniendo como meta recolectar 76 muestras.

La muestra es no probabilística, y se toma de una población tipo Contigua, es en la que se encuentra un amplio contacto con los miembros de otra población.

Nos acoplamos a la jornada de vacunación antirrábica del MINSA que se llevó a cabo en los centros de salud Sócrates Flores y Morazán en donde se colectaron 76 muestras de sangre, por si se nos presentaba algún problema al almacenarlas, y luego ser analizadas.

Los barrios fueron seleccionados de acuerdo al nivel social y económico, en este caso donde los ingresos son más bajos, ya que es el segmento de la población que generalmente asiste a las jornadas de vacunación antirrábica realizadas por el MINSA.

Las variables a evaluar son la seropositividad a *Leptospira spp.* con respecto a la edad representada en meses, sexo (hembra y macho) y las razas tanto definidas e indefinidas de los canes muestreados.

Edad: desde el punto de vista práctico, todas las enfermedades en sus distintas manifestaciones muestran alguna variación según la edad de los animales. Las variaciones de la enfermedad con la edad se deben a varias razones, la diseminación de la enfermedad en los diferentes estratos de edades se explica a través de la inmunidad de la población, que en el caso de algunas enfermedades está ausente, principalmente en las poblaciones que nunca han estado en contacto con los agentes causales, pero una vez expuestos se establece la inmunidad de estos (García, 1990).

Sexo: en apariencia la asociación del sexo con la enfermedad se combina frecuentemente con otros factores como edad, ambiente y funciones zootécnicas por lo que debe tenerse mucho cuidado en la interpretación de esta relación. Otro error se observa cuando se estudia la asociación del sexo con una enfermedad, ya que existe, generalmente, una distribución desigual de sexos en la población animal.

Raza: una respuesta diferente a los agentes no sólo se encuentra entre las especies sino también entre las razas, la resistencia o susceptibilidad innata a la enfermedad esta mediada por uno o varios genes (García, 1990).

Seropositividad es el término aplicable al paciente que presenta anticuerpos hacia una enfermedad infecciosa, en este caso a leptospirosis.

4.4. Procedimiento para la colecta de las muestras

Luego de inmovilizar al paciente se desinfectó el área de punción, la vena safena externa, con un algodón humedecido en alcohol al 70%, procediendo a la toma de la muestra (Anexo 5).

Cada muestra tomada fue de 2ml de sangre como mínimo, éstas fueron colocadas en tubos de ensayo estéril e identificado, para lo cual se tomaron los datos generales del paciente (Anexo 6), luego se transportaron, en posición vertical, en un termo a una temperatura de 4°C, al laboratorio de parasitología de la Facultad de Ciencia Animal de la Universidad Nacional Agraria.

Aquí fueron procesadas separando el suero sanguíneo del plasma, centrifugándolas a 3 500 revoluciones por minuto, durante 15 minutos (Anexo 7 y 8).

El suero fue almacenado en tubos para centrifuga debidamente identificados, en un congelador en el laboratorio de microbiología a una temperatura de -20°C, trasladándose en termos con hielo al laboratorio de león, donde se guardaron en frío para luego ser analizados en el laboratorio del campus agropecuario de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua- León.

4.5. Técnica laboratorial

a. Método inmunoenzimático (ELISA)

El ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzima) es una técnica de ensayo inmunoenzimático (EIA: Enzyme-ImmunoAssay) que permite la detección tanto de antígenos como de anticuerpos (Batista, 2000).

Hay diversos tipos de ELISA: Directo, Indirecto, de Competencia y de Sándwich. Las características del ELISA de Sándwich son su alta objetividad, sensibilidad y especificidad, la buena estabilidad de sus reactivos, su automatización y que no requiere de equipos caros ni muy sofisticados.

El ELISA de Sándwich también es conocido como ELISA de Captura dado que, en el mismo se captura un antígeno y se detecta mediante la utilización de inmunocomplejos.

Se trata de un ensayo muy empleado en el que se recubre el pocillo con un primer anticuerpo anti-antígeno. Después de lavar el exceso de anticuerpo se aplica la muestra problema en la que se encuentra el antígeno, que será retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo.

Después de un segundo lavado que elimina el material no retenido se aplica una solución con un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado. Así pues cada molécula de antígeno estará unida a un anticuerpo en la base que lo retiene y un segundo anticuerpo, al menos, que lo marca (Batista, 2000).

ELISA de sándwich o de captura (método utilizado):

- Se diluyó la muestra 1/80 que es 12.5ul de la respectiva muestra y 100ul de leche al 2.5%.(Anexo 9)
- Se colocó 100ul de la dilución después, dar vortex (para mezclar) en cada paso de Ag y dejar incubar 1h a 37°C (Anexo 10)
- Se lavó 7 veces con PBS (Phosphate-buffered saline)
- Se Sacudió bien y colocar 100µl de conjugado Anti-dog 1/1000 en cada uno de los pozos de las muestras y de los controles (Anexo 11)
- Se incubó 1h a 37°C, luego lavar siete veces con PBS
- Se sacudó bien y agregar 1000ul de TMB (Tetrametil Benzidini liquid) (Anexo 12)
- Se incubó a temperatura ambiente y en oscuridad por media hora
- Luego se agregó 50ul de ácido sulfúrico H₂SO₄ para detener la reacción
- Se encendió el lector quince minutos antes de colocar la placa en él, luego se imprimen los resultados (Anexo 13). Todo el proceso se realiza en aproximadamente 6 horas, según el Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación CEVEDI unidad de microbiología Campus Agropecuario carretera a la ceiba 1km al Este, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua- León.

Kit ELISA

- Placa
- Leche desnatada en polvo para microbiología
- Lavado PBS (Phosphate-buffered saline)
- Conjugado Anti-dog (específico)
- Solución stop Tetrametil Benzidini liquid (TMB)

b. Método serológico (MAT)

Se tomaron en cuenta los serovares existente en el país (Anexo 14). Se enumeraron tubos estériles en los que se agregaron 1990µl de PBS y 10µl de la muestra con una pipeta de 20µl, al control se le aplicó 50µl de PBS y 50µl de antígeno.

Se colocó 50µl de la primera dilución en los pozos de la placa, se agregó 50µl de antígeno y se tapó con papel de aluminio para incubarlo a 28°C durante 1 hora.

Luego en un portaobjetos enumerado según la muestra, se colocó con una pipeta 100µl de cada una. Se lee en el microscopio de campo oscuro con objetivo 10X con una aglutinación igual o mayor al 50% de la leptospira con cualquiera de los serovares, según el Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación, CEVEDI.

Seguridad del laboratorio

Deben tomarse debidas precauciones, desinfectar todo material contaminado inmediatamente después del uso, las Leptospiras son sumamente susceptibles a la mayoría de los desinfectantes y antisépticos, y mueren rápidamente por efectos del calor y el secado (Myers, 1985).

Los tubos de ensayo, portaobjetos y pipetas se deben sumergir en una solución débil de hipocloruro de sodio o una solución al 10% de lejía para el hogar antes de lavarlo y secarlo para volver a usarlos (Myers, 1985).

Todo el material contaminado restante debe colocarse en un recipiente de metal con tapa y desinfectado por autoclavado, antes de reutilizarlos (Myers, 1985).

4.6. Importancia del estudio

La importancia de este estudio radica en que la Leptospirosis es una enfermedad zoonótica. El perro es la mascota de elección en la mayoría de los hogares, por lo tanto tiene más contacto con el humano que otros animales jugando un papel relevante en la transmisión de esta enfermedad.

En nuestro país se han presentado casos de leptospirosis humana y de animales domésticos, se puede referir la epidemia de Achuapa, León en 1995, donde se registraron 2000 casos y 40 defunciones en humanos; en El sauce, León 1998 posteriormente al paso del huracán Mitch se registraron 523 casos con un total de 7 personas fallecidas; presa La Leona (dpto. de León) 2006, entre los casos documentados por el MINSA. (Kaki y Shich, 1996; Ochoa *et al.*, 2001 citados por Sandow y Ramírez, 2007).

4.7. Análisis estadístico (análisis descriptivo y de frecuencia)

Para la interpretación de los datos se utilizó estadística descriptiva utilizando distribución de frecuencia para las variables.

La base de datos proveniente de las observaciones de campo y laboratorio (Anexo 15). Se registraron en hojas de Excel, para luego ser analizadas en el paquete estadístico del programa SAS (Stadistic Analysis System), para realizar el análisis de varianza y correlación lineal entre la seroprevalencia de Leptospirosis y las variables edad, sexo y raza por la homogeneidad de varianza (Myers, 1985).

Regresión y correlación:

Estudios científicos requieren una descripción de la relación entre dos variables. Generalmente estas circunstancias permiten pensar en una variable que tiene influencia sobre otra variable. En forma convencional se denomina variable dependiente a aquella que es influenciada por la independiente (García, 1990).

El análisis de normalidad demostró una distribución normal de la variables, encontrándose una media y las desviaciones. Luego se realizó el análisis descriptivo de frecuencia en el programa SPSS (Statistical Package For the Social Sciences) versión 13.

El análisis de X^2 (CHISQ) para la prueba ELISA con respecto a las variables edad, raza y sexo no se encontró significancia estadística, encontrándose independencia entre las variables. En el caso de la prueba MAT, se halló independencia entre las variables sexo y edad, no así para la variable raza, en donde se encontró mayor significancia en el grupo de los no definidos N/D o sin definición racial.

V. Resultados y Discusión

5.1. Diagnóstico mediante el ensayo inmunoenzimático

ELISA como prueba de sensibilidad permite la detección tanto de antígenos como de anticuerpos (Batista, 2000). En el análisis realizado a las muestras en este estudio mediante la prueba ELISA se determinó la presencia de anticuerpos antileptospira, recientes o tardíos en cinco canes, que representa el 6.6%, de los 76 sueros analizados.

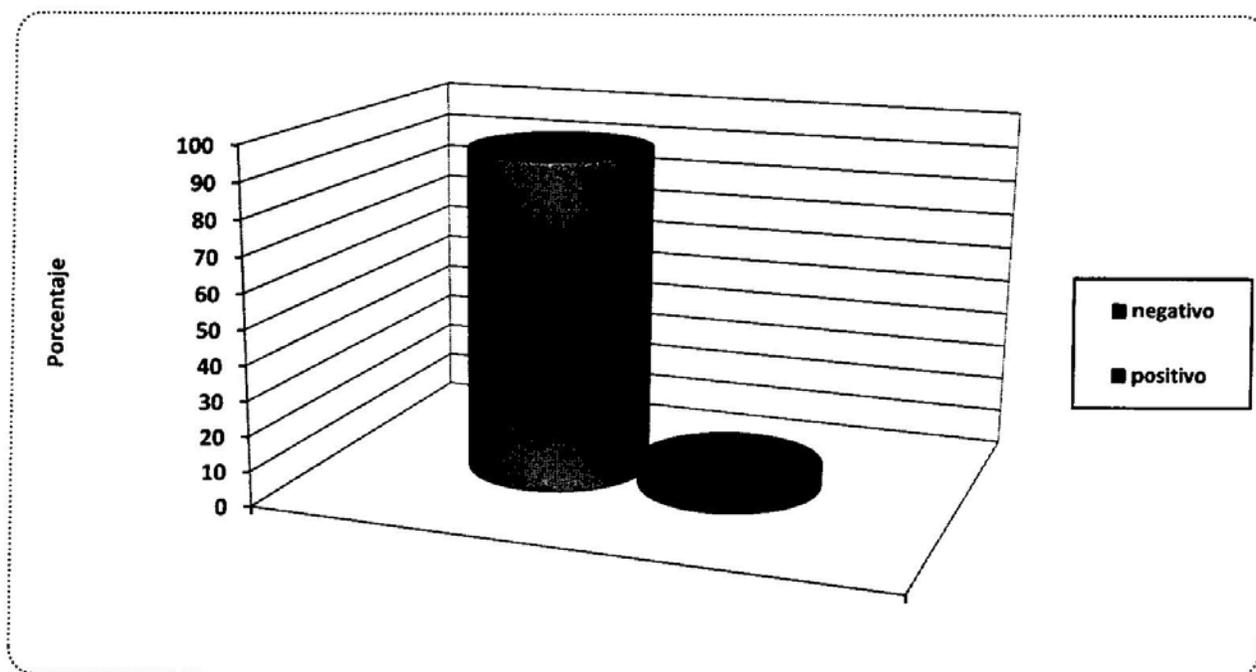


Fig.1: Porcentaje de afección de acuerdo a ELISA

- **Edad**

Según O'Driscoll (2005) el sistema inmunitario de los perros y gatos maduran completamente a los 6 meses de edad. El 80.3% de los canes muestreados se encontraban entre los 12 y 48 meses de vida, el 10.5% de 108 a 144 meses y sólo el 9.2% corresponde a canes entre 60 y 96 meses de edad (anexo 16).

El análisis de ELISA con respecto a la edad, como se observa a continuación, dio como resultado que los canes afectados fueron: uno de 8 meses, uno de 36 meses, dos de 48 meses y uno de 108 meses de edad.

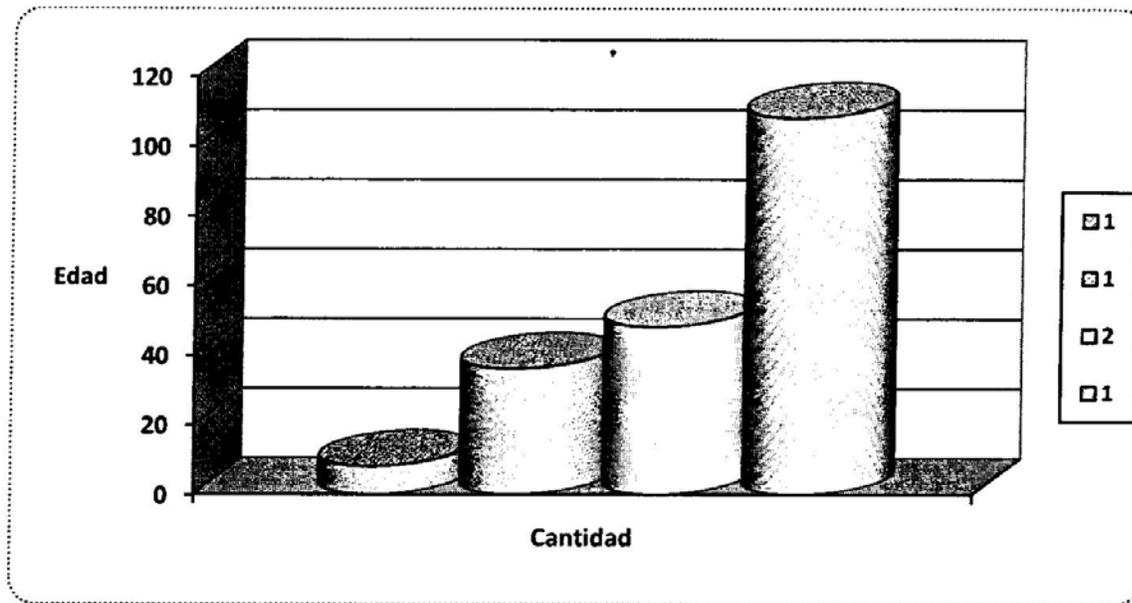


Fig.2: Porcentaje de afección de edad según ELISA.

- **Raza**

El porcentaje de las razas de los perros muestreados fue, el 52.6% como no definido (N/D): mezcla de distintas razas o bien canes criollos, seguido de la raza Pastor alemán con un 10.5%, Terrier y Doberman 6.6%, Pitbull 5.3%, otras razas van de 3.9 a 1.3% (Anexo 17).

Las razas seropositivas a *Leptospira spp.* utilizando el método ELISA fueron los siguientes: dos canes sin raza definida (N/D), del grupo de las razas definidas, un Pastor alemán, un Chow Chow y un Terrier .Se observó una tendencia a que el grupo N/D se viera más afectado, se presume que esto se debe a que este fue el que tuvo mayor asistencia a la toma de muestra.

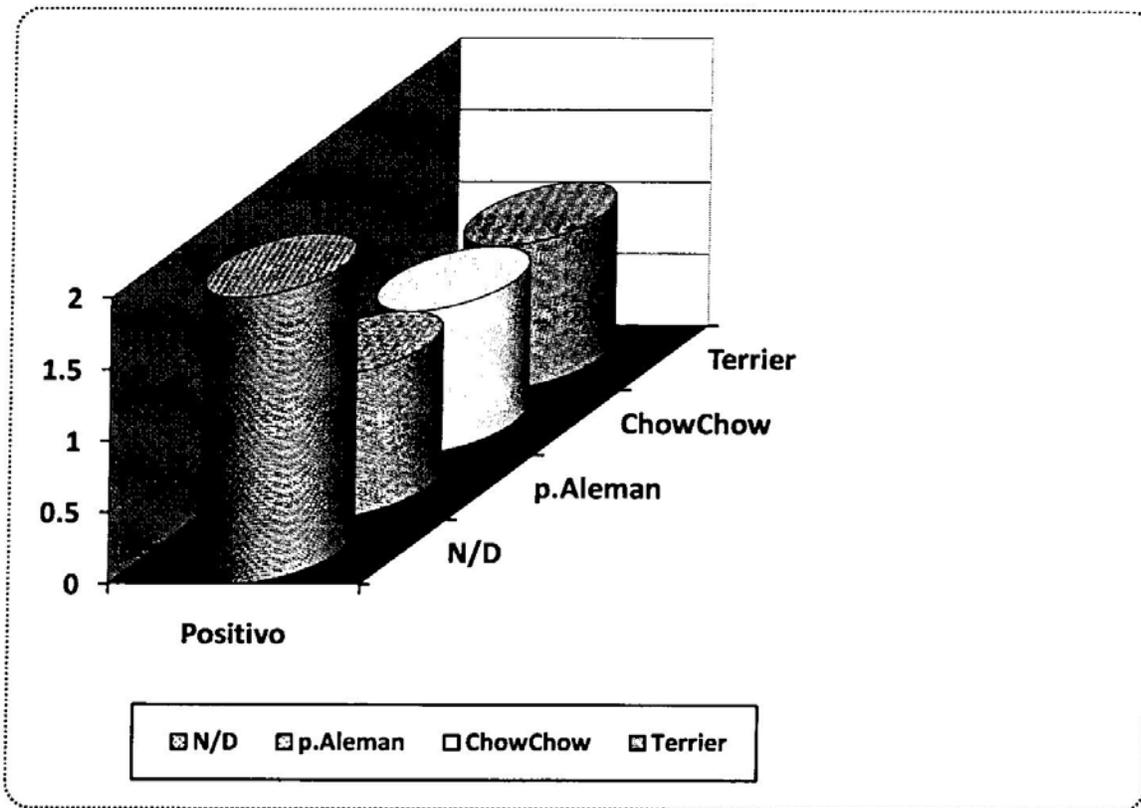


Fig.3: Porcentaje de afección por raza de acuerdo a ELISA.

- **Sexo**

En el porcentaje según el sexo se determinó que, de 76 perros muestreados 50 son machos, representando el 65.8% y 26 son hembras que representa el 34.2%. Esta estimación se inclina hacia los machos debido a mayor asistencia (Anexo 18).

En el presente estudio, donde de 76 canes muestreados, 46 machos fueron negativos y de estos 4 (8.6%) fueron positivos, 25 hembras negativas, 1 hembra (4%) positiva.

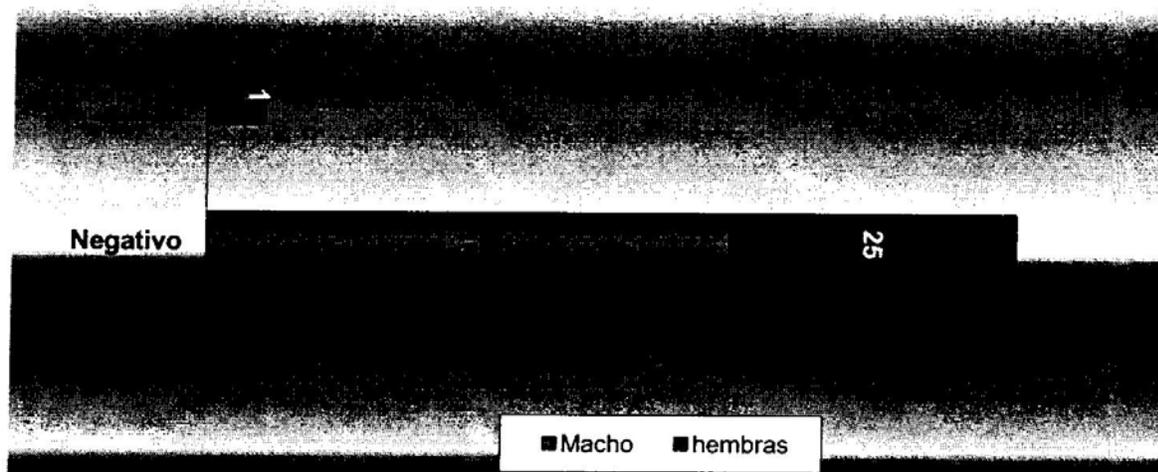


Fig.4: Porcentaje de afección con respecto a sexo de acuerdo al ELISA.

- **Raza y sexo según edad**

Para la afección de las razas según la edad, mediante el ELISA, se encontró que en los No Definidos, los animales afectados tenían en promedio 78 meses de edad, en cambio las raciales como Chow Chow, Pastor Alemán y Terrier tenían 48, 36 y 8 meses de edad, respectivamente. En la variable sexo los machos seropositivos tenían en promedio 53 meses y las hembras 36 meses de edad (Anexos 19 y 20).

5.2. Prueba confirmatoria

En el presente estudio a los positivos a ELISA (sensibilidad) se les realizó la prueba MAT (especificidad) obteniendo seropositividad del 6.6 % y 3.9% respectivamente, con los serovares existente en el país: *canicola estrato Hond Utrecht IV*, *grippotyphosa-mosKva V*, *hebdomadis - hebdomadis*, *icterohaemo - wijnberg*, *javanica -veidrat batavia*, *pomona -pomona*, *pyrogenes - salinem* y *patoc - patoc I*. Luna et al (2004) recomienda utilizar cepas representativas de todos los serogrupos presentes en un lugar determinado concreto, y de la especie objeto de estudio.

Vanasco *et al* (1998) como prueba de tamizaje aplicaron la técnica de aglutinación macroscópica con antígeno termo resistente, seguida de la prueba de ELISA y, como prueba de confirmación, la aglutinación microscópica frente a 10 serovariedades de *L. interrogans*.

5.3. Diagnóstico mediante el método de microaglutinación (MAT)

Para los carnívoros domésticos la técnica aceptada internacionalmente para el diagnóstico serológico es la Microaglutinación (MAT) con antígeno vivo. Esta técnica tiene la ventaja de ser serovariedad específica (Sosa et al, 2007).

En este estudio, realizado con 76 sueros caninos y analizados con el método MAT, se obtuvo que un 96.1% de la población muestreada fue negativa y el 3.9% fue positiva a leptospirosis.

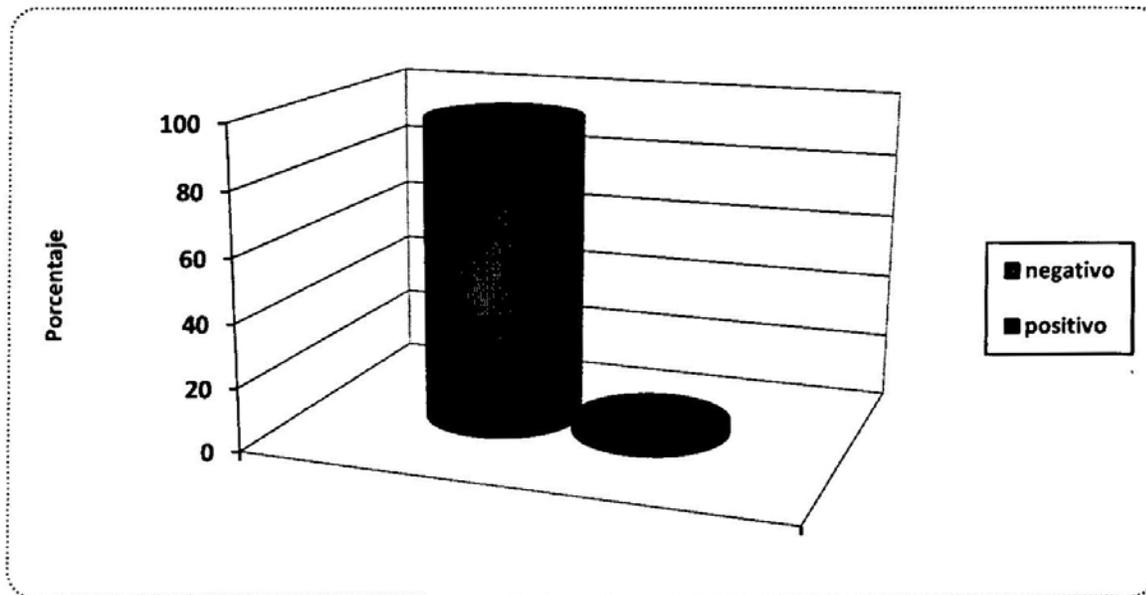


Fig.5: Porcentaje de afección de acuerdo a la prueba de MAT.

Estos resultados son menores a los obtenidos por Silva y Riedemann (2007) Valdivia-Chile, mediante el mismo método, analizaron 400 sueros caninos, de los cuales 59 resultaron positivos correspondiendo al 14.8%.

- **Edad**

Utilizando la prueba de Microaglutinación se obtuvo como resultado, un can positivo con 36 meses y dos canes positivos con 48 meses de edad.

- **Raza**

Según Luna *et al* (2004) toda la especie Cánida es susceptible a la leptospirosis, sean de raza o criollos, concordando con el presente estudio, ya que la seroprevalencia de afección por raza usando el MAT, según el análisis de correlación, se manifestó indistintamente (1 can N/D, 1 P. Alemán y 1 Chow Chow, de manera que no hubo predilección por ninguna raza.

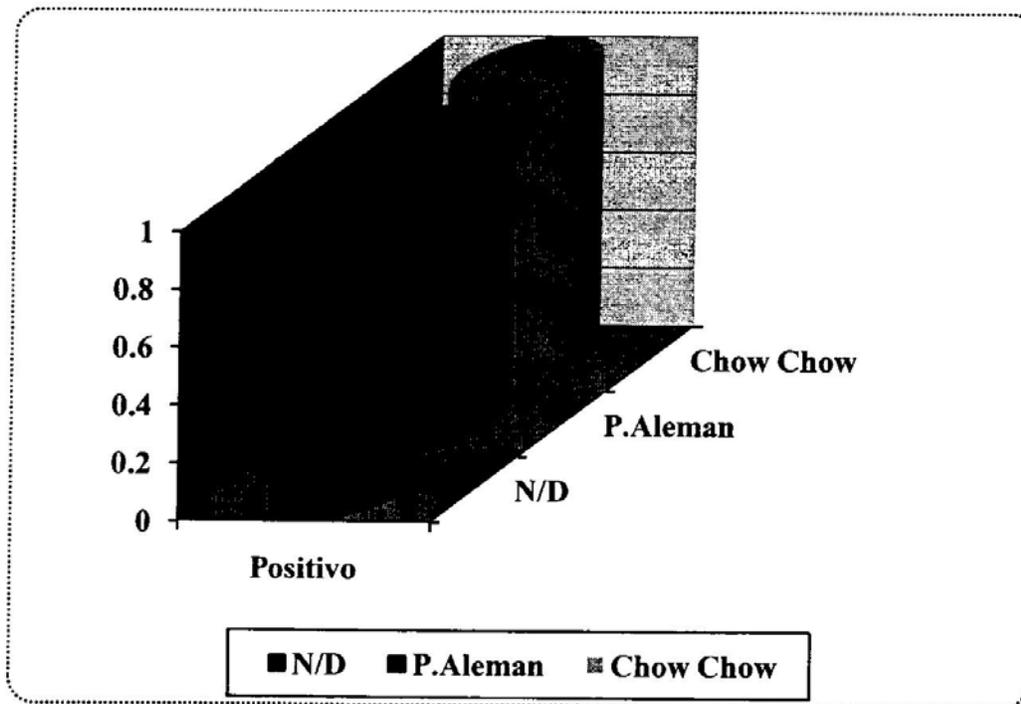


Fig.6: Afección de razas de acuerdo al método MAT.

En cambio X^2 demostró una significancia mayor en cuanto a esta variable con respecto a la seropositividad, encontrándose que el grupo N/D fue el más afectado. El dato prob, mientras más se aleja de 1 hay mayor significancia.

| Statistic | DF | Value | Prob |
|------------|----|---------|--------|
| Chi-Square | 12 | 27.2073 | 0.0072 |

- **Sexo**

De acuerdo al MAT, de un total de 76 canes muestreados, 48 machos fueron negativos y 2 positivos, en el caso de las hembras 25 fueron negativas y 1 positiva. Hubo una tendencia a una mayor afección de los machos, pero esta no fue estadísticamente significativa

Los resultados obtenidos no concuerdan con Sosa *et al* (2007), que expresa que las hembras de todas las especies mamíferas son más reactivas inmunológicamente que los machos. Esta diferencia se debe a la influencia de las hormonas sexuales, que han demostrado claramente afectar al sistema inmunitario a distintos niveles aunque el mecanismo o los mecanismos, a nivel celular no se conocen.

Pero Iglesias (2008) indica que la incidencia de la leptospirosis es mayor en los machos que en las hembras, debido a que van husmeando el suelo para marcar su territorio y Sandow *et al* (2007), expresa que la costumbre de estos de lamer los genitales y/u otras áreas corporales de sus compañeros, puede permitir también la transmisión de la infección, por eso están más expuestos a adquirir la enfermedad.

- **Raza según a edad**

La afección de las razas según la edad de acuerdo al MAT, dio como resultado que las razas afectadas, fueron los canes sin definición racial (N/D) y Chow Chow con 48 meses y Pastor Alemán con 36 meses de edad, (Anexo 21).

- **Sexo según edad**

De acuerdo al MAT los machos negativos se encontraban en promedio entre los 42 meses y los positivos en los 48 meses de edad, las hembras negativas entre 25 meses y las positivas entre los 36 meses de edad. Los resultados obtenidos son similares a lo expresado por Cordero, (1958) que indica que la infección es más frecuente en machos y canes en edades de 3 a 8 años., (Anexo 22)

- **Serovar**

En este estudio, de 76 canes muestreados 3 de estos resultaron positivos obteniendo los siguiente serovares: *canicola* (50%), *icterohemorragiae* (25%) y *pyrogenes* (25%). Los resultados concuerdan con Céspedes *et al* (2001) que de los 241 animales que analizaron, en Chancay Perú, 67 (27,8%) canes tuvieron serología positiva para *Leptospiras spp*. Los serogrupos más frecuentes fueron: *canicola* (58,2%) seguido de *icterohemorragiae* (47,7%), *pyrogenes* (31,3%), así mismo se encontró anticuerpos contra otros serovares en menor proporción, por medio del MAT.

Sheleby, (2006) en un estudio realizado en 197 canes en el área rural del Sauce y Achuapa del departamento de León utilizando los mismos métodos, se encontraron los serovares *canicola*, *icterohemorragiae* y *pomona*.

Según McDonough, (2001) los perros pueden infectarse con varios serovares más además del *canicola* y servir como "huéspedes accidentales", al igual Acha (2001), indica que cada serovar tiene su o sus huéspedes animales predilectos, pero cada especie animal puede ser huésped de uno o más serovares. Lo cual concuerda con presente estudio donde se encontró coaglutinación (presencia de anticuerpos contra dos o más serovares) en 1 (33.3%) de 3 canes que resultaron seropositivos por el método MAT. El patrón de coaglutinación fue *canicola-pyrogenes*.

Rodríguez *et al* (2004) obtuvieron que de 197 sueros analizados, de perros callejeros en Cali Colombia, encontraron coaglutinaciones en el 48,1% de los 81 perros seropositivos que estudiaron. Los patrones de coaglutinación más frecuentes fueron *gryppytyphosa-hardjo (hardjobovis)-canicola* y *hardjo (Hardjobovis)-icterohemorragiae-canicola* y *grippytyphosa*.

De los 8 barrios muestreados, según MAT, se encontraron canes seropositivos en 2 de ellos; San Sebastián (2/7) 28.5% y Santa Ana Norte (1/7) 14.2%.

Peláez *et al* (2007) realizó una evaluación de la seroprevalencia de leptospiras empleando la técnica de aglutinación microscópica (MAT). En los animales evaluados (cerdos, perros y bovinos) la seroprevalencia estuvo dirigida al serovar pomona, canicola y sejroe respectivamente con títulos aglutinantes entre 1\200 y 1\800. En este caso los títulos aglutinantes fueron de 1/100.

Carter, (1969) expresa que la leptospirosis es una enfermedad de importancia sanitaria por ser zoonótica. En este caso en mayor grado, por la convivencia del ser humano con los canes, por lo tanto es deber de todo médico veterinario velar por la salud animal y humana. Teniendo en cuenta que en el presente estudio resultaron canes positivos a esta enfermedad.

VI. Conclusiones

- De acuerdo con los resultados obtenidos podemos concluir que al menos el área en estudio se encontró presencia de anticuerpos para *Leptospira spp.*
- La prevalencia es de 3.3% correspondiente a los ocho barrios muestreados del Distrito II de Managua.
- No existe relación significativa en cuanto a la seropositividad y las variables raza, sexo y edad.
- De las 76 muestras analizadas por el método de ensayo inmunoenzimático (ELISA) 5 de estas fueron rectoras a la prueba del total de la población muestreada.
- Se utilizó como técnica confirmatoria y especificación del serovar, el método de microaglutinación en tubo (MAT), encontrando sólo 3 reactores.
- Los serovares encontrados mediante el método de microaglutinación en tubo (MAT) fueron *L. canicola*, *L. icterohemorrhagiae* y *L. pyrogenes*, siendo los dos primeros los que incluyen las vacunas que se encuentran actualmente en el mercado nacional.
- Los resultados fueron notificados a las autoridades de epidemiología del centro de salud Sócrates Flores.

VII. Recomendaciones

Al Ministerio de salud:

- Dar seguimiento a los casos positivos.
- Ejecutar la prevención y control de la enfermedad por medio de campañas.
- Concientizar a la población acerca de la gravedad de la enfermedad, el peligro que representa ésta para la salud y para la vida de los humanos, así como el rol de los caninos en la transmisión de la leptospirosis.
- Realizar estudios epidemiológicos cada año en todos los animales domésticos y silvestres, no enfatizar solamente en los roedores.

A los laboratorios:

- Agregar a las vacunas comercializadas en Nicaragua, los serovares existentes en éste país.

A los Médicos Veterinarios:

- Tomar medidas profilácticas durante la práctica de sus labores.
- Informar a los propietarios acerca de las enfermedades zoonóticas, instruyéndoles las medidas que deben tomar para evitar la propagación de éstas.

A la población:

- Mantener la higiene en el hogar, evitar aguas servidas, control de vectores.
- Llevar un control veterinario.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acha, P. 2001 Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales vol. 1. EU. Publicación científica y técnica OPS. 175, 179p
- ➔ Alfaro, C., Aranguren Y. y Clavijo A. 2004 Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis como fundamento para el diseño de estrategia de control Ve. (en línea) Consultado 26 nov. www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy3/articulos/n6/arti/alfaro_c/arti/alfaro_c.htm
- Batista R. 2000. Método de ELISA-sándwich. PA. (en línea) Consultado 25 Nov. 2008. Disponible en www.Telmeds.org/modules.php?name=new&file=article&sid=495
- Biberstein, E. 1994. Tratado de microbiología veterinaria. ES. ACRIBIA. 269-271p.
- Bustamante, E. 2005. Enfermedades de los bovinos. NI. UNA-FACA.
- Carter, G., y Tarazona, M^a. (1969). Procedimiento de diagnóstico en bacteriología y micología veterinaria. ES. ACRIBIA. 170, 171p.
- Castillo, G; Urey, M. 2006. Seroprevalencia de leptospirosis porcina y tipificación de serovares circulantes, en Achuapa y Sauce departamento de León, agosto – octubre 2006. Tesis MV en el grado de licenciatura. León, NI. Universidad Nacional Autónoma -León. (UNAN). 40p.
- Centeno, A. y Marengo, E. (2007). Estudio descriptivo de hembras bovinas gestante sacrificadas en el matadero central S.A. "MASESA", Juigalpa, Chontales, Nicaragua. Tesis MV en el grado de licenciatura. Juigalpa, NI. Universidad Nacional Agraria. (UNA). 25p.

- Céspedes, M. Chun, M.; Cano, E.; Huaranca, I.; Atoche, H., Ortiz H. Valentín, M.; Balda, L.; Huamán T. 2001. Prevalencia de anticuerpos contra leptospira en personas asintomáticas y en perros de Chancay, Lima 2001. Pe. (En línea) Consultado 23 de nov. 2008. Disponible en www.Scielo.org.pe/pdf/rins/v24n47a04v24n4.pdf.
- Céspedes, M. Ormaeche M. Condori, P. Balda I. Glenny, M. A1. 2003. Prevalencia de leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la provincia de Manu, Madre de Dios, Perú 2003. Pe. (en línea) consultado 28 nov. 2008. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342003000400002
- Cordero, M. 1958. Bacteriología y virología veterinaria. ES. ACRIBIA 233p
- García, Z; 1990. Epidemiología Veterinaria y Salud animal. MX. NORIEGA-LIMUSA 88, 89 y 205p.
- INETER 2008 Meteorología en Nicaragua. NI (en línea) consultado 23 abr. 2008. Disponible en www.ineter.gob.ni/Direcciones/meteorologia/clima%20nic/caracteristicasdelclima.htm
- Kahn, C. 2007. Manual Merck de Veterinaria. Sexta edición. ES. OCEANO 516p.
- Luna, M.; Moles L.; Torres J.; Salazar F.; Nava C.; Urrutia M. 2004. Leptospirosis canina en México. MX (en línea) Consultado 25 Mrz. 2008. Disponible en www.ipk.sld.cu/lepto2004/reunion/orales/luna1%20perros.pdf
- Manfut. 2008. Ciudad de Managua, Nicaragua, características distritales Distrito II (en línea) NI. consultado 10 mar 2008. Disponible en <http://www.manfut.org/managua/barrios/Distrito2.html>
- McDonough, P. 2001. Leptospirosis en caninos-estado actual. EU (en línea). Consultado 7 Nov. 2008. Disponible en http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/mcdonough_es/ivis.pdf

- Merchant, I. & Parcker. R.1980. Bacteriología y Virología Veterinaria.ES. ACRIBIA 508p
- Myers. D. 1985. Manual de método para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis AR Centro Panamericano de zoonosis 5p.
- Nicolet, J. 1986. Compendio de bacteriología médica veterinaria. ES ACRIBIA 217p
- O'Driscoll C. 2005 Vacunaciones del gato. ES (En línea). Consultado 15 Nov. 2008. Disponible en <http://www.angorasturcos.es/vacunaciones.htm>
- Pazmiño A. 2008. Vacunas y desparasitantes. CL. (en línea) consultado 26 nov. 2008. Disponible en www.petzoo.cl/vacunas
- Peláez. O. García, G., Batista N, Blain K. 2007. Informe del trabajo realizado en el enfrentamiento del brote epidémico de leptospirosis 27 Octubre-14 Diciembre 2007. Ni. (En línea) Consultado 16 de nov. 2008. Disponible en: http://www.conamornicaragua.org.ni/documentos_4/DICIEMBRE/INFORME_BRIGADA_MEDICA_CUBANA_FINAL_IMPRESION.doc
- Quinn, P. y Markey, B. 2005. Elementos de microbiología veterinaria. ES. ACRIBIA 113p
- Rodríguez, A. Ferro, B. Varona, M. Santafé, M. 2004 Evidencia de exposición a leptospirosis en perros callejeros de Cali, CL (en línea) Consultado 12 de marzo 2008 disponible en desastres.cies.edu.ni/destacados/2007/LEPT_BIOMEDICAv24n3a08.pdf
- Rossetti, A. 2008. Enfermedades Infecciosas en Medicina Veterinaria leptospirosis s.r. (en línea). Consultado 7 Nov. 2008. Disponible en http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet_enf_inf_tripod/lepto/lepto.htm

- Sheleby, J. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis y tipificación de serovares circulantes en caninos de los Municipios de el Sauce y Achuapa del departamento de León, durante el periodo de Agosto a Septiembre 2006. Tesis MV en el grado de licenciatura. León, NI. Universidad Nacional Autónoma -León. (UNAN). 62p.
- Sandow, K.; Ramírez, W. 2007, Leptospirosis. CU (en línea) Consultado 16 mar 2008 Disponible en www.monografias.com/trabajos17/leptospirosis.htm
- Secretaria de salud de México 2007. Demostración de anticuerpos antileptospira por microaglutinación. MX (en línea) consultado 14 abr. 2008. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/indre/zoonos.htm#LEPTOSPIROSIS>
- Silva y Riedemann 2007. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. CL (en línea) Consultado 07 Nov. 2008. Disponible en www.scielo.cl/pdf/amv/v39n3/art11.pdf
- Sosa, I.; Lugo, S. y Peña J. 2007. Poder patógeno de los serogrupos de Leptospiras de mayor importancia. Cu. (en línea) consultado 20 nov. 2008. Disponible en www.Monografias.com/trabajos58/leptospira-canina/leptospirosis-canina2.hhtml.
- Stanchi, N.; Brihuega. & Gatti, E. 2007. Microbiología veterinaria AR. Inter-médica 324-325p.
- Vadillo, S; Piriz, E; Mateos, E. 2003. Manual de Microbiología de veterinaria. ES. McGraw-Hill 249y 245p.

Vanasco, N.; Sequeira, Gl.; Dalla, M.; Fusco S.; Sequeira M. y Enría, D. 1998. Descripción de un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fe, Argentina, marzo-abril de 1998.AR. (en línea) consultado 22 nov. 2008. disponible en http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892000000100006

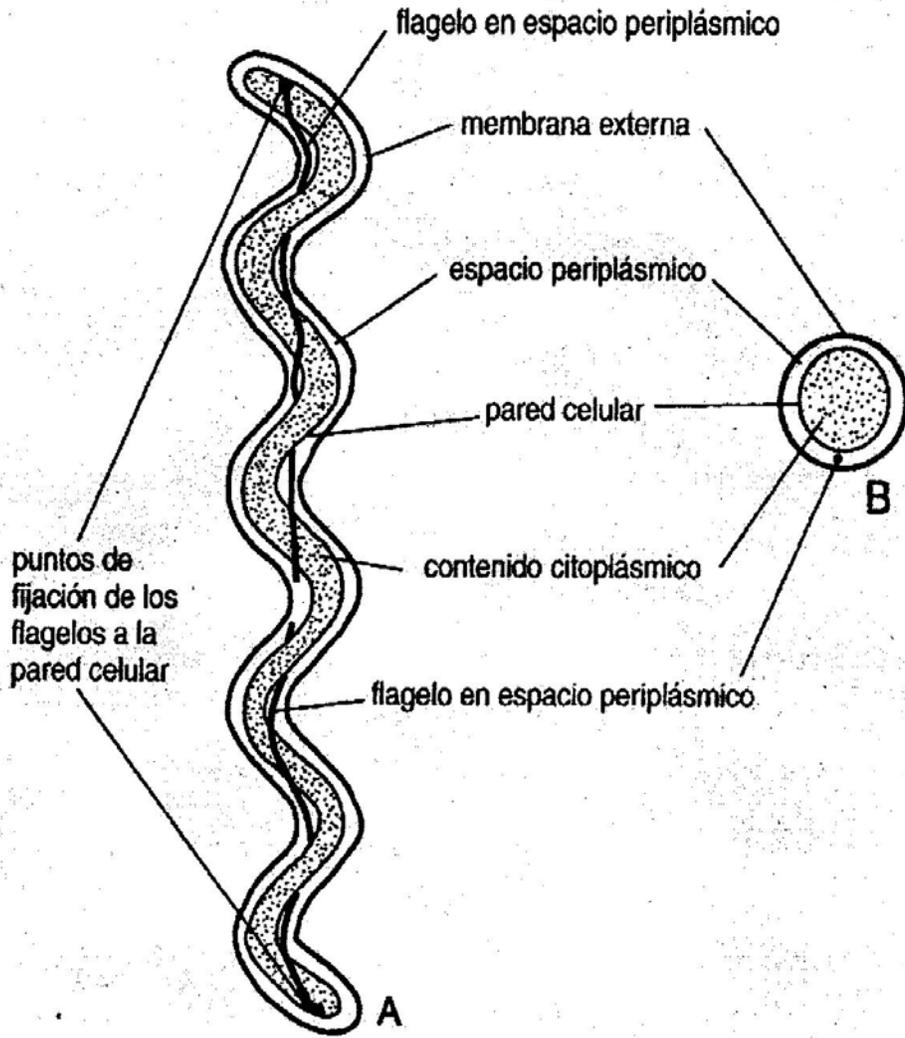
IX. ANEXOS

Anexo A. 1: *Leptospira spp.*

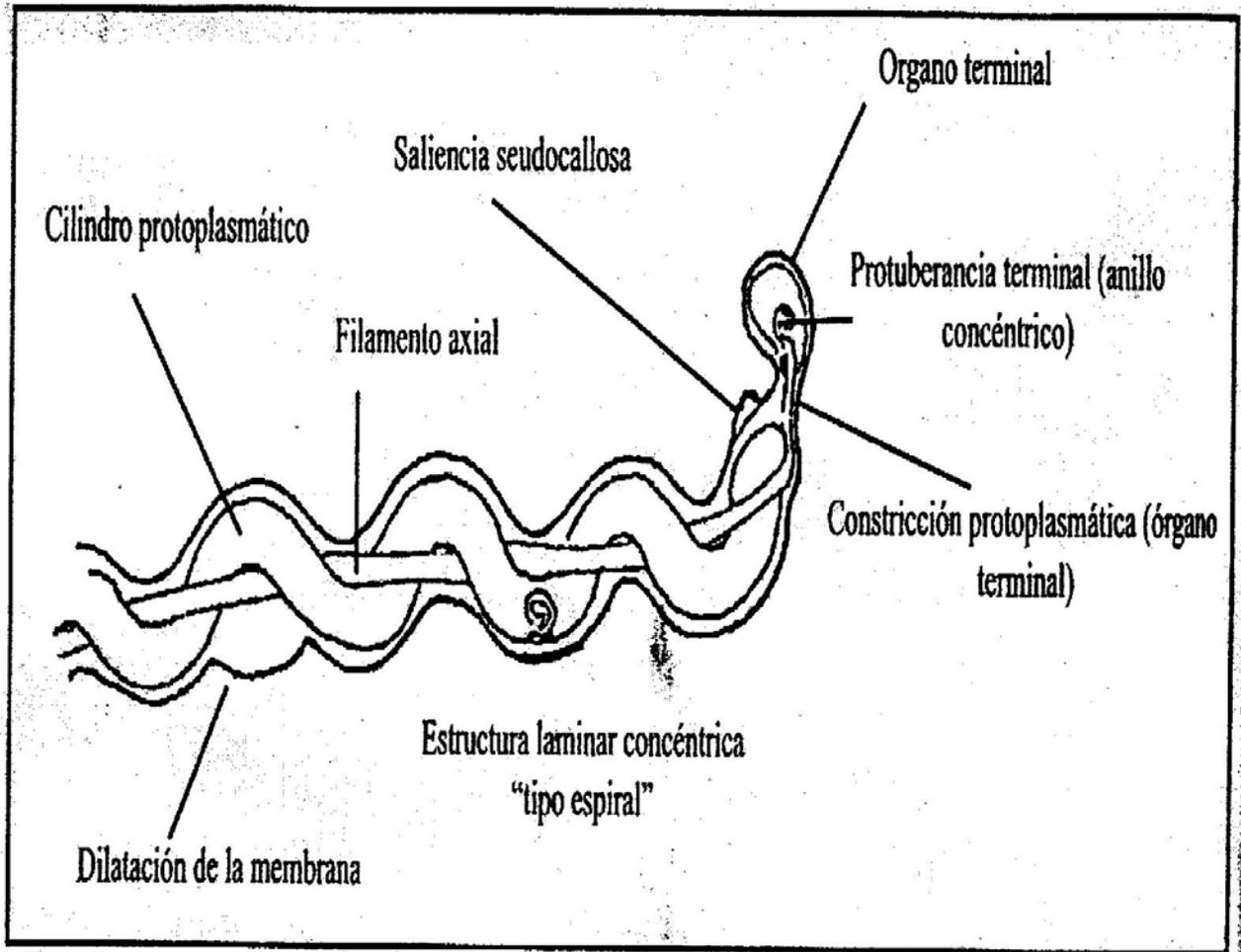


Fuente: Sapia, L. 2008

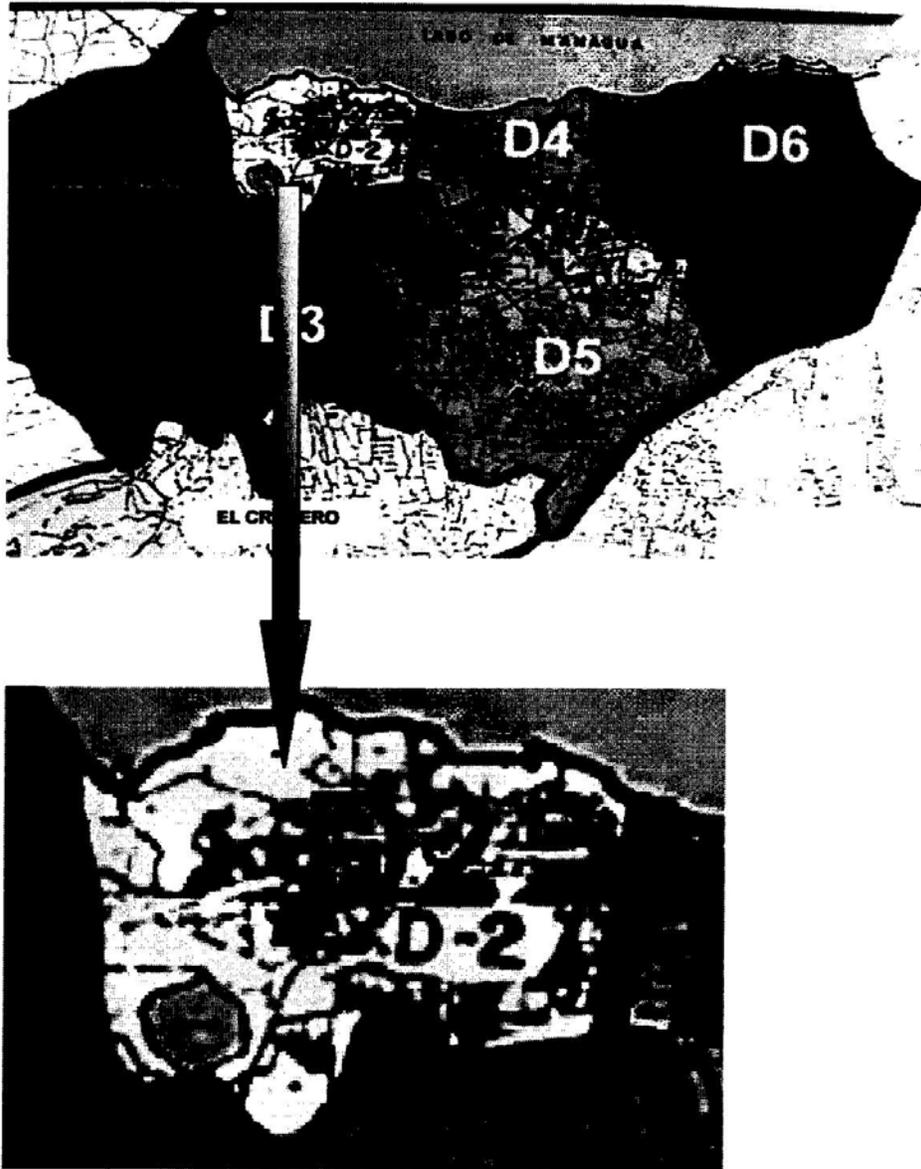
**Características estructurales de una espiroqueta típica (A)
y sus relaciones en un corte transversal (B)**



Anexo 3 A. Estructura de la *Leptospira interrogans*



Fuente: Stanchi, *et al.* 2007.



Anexo 4 A. Mapa del Distrito II de Managua

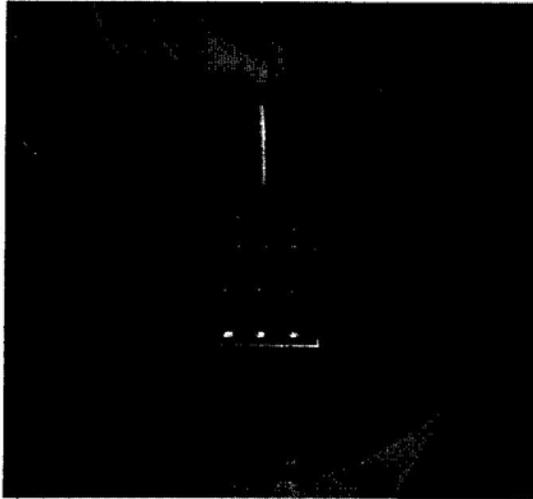
Fuente: Manfut, 2008.



Anexo 5 A: Toma de la muestra de sangre en la vena safena externa.



Anexo 6 A: Después de la toma de la muestra se anotaban los datos del can.



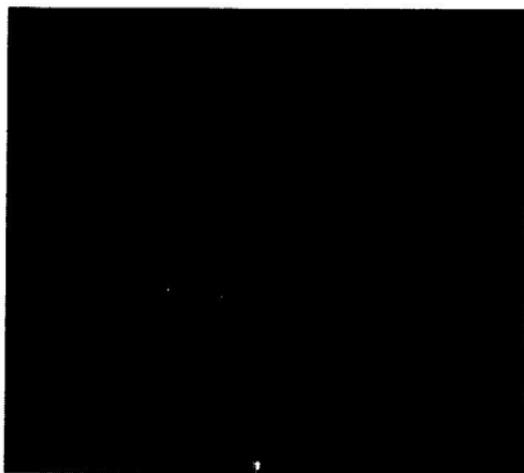
Anexo 7 A: Centrifugado de las muestras.



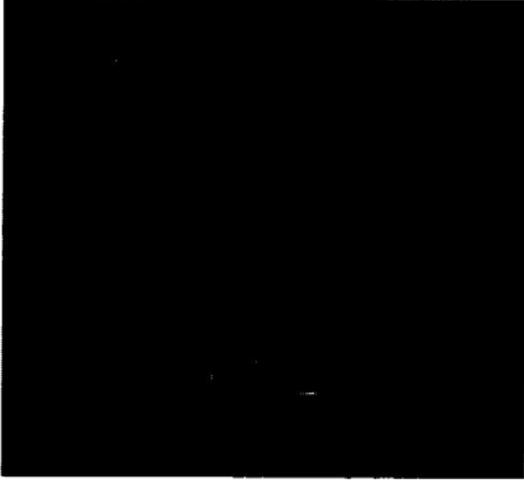
Anexo 8 A: Separación del suero.



Anexo 9 A: Colocar 100ul de la dilución (muestra más leche desnatada) para mezclar



Anexo 10 A: Vortex (mezclado de las muestra).



Anexo 11 A: Aplicación del reactivo (anti-dog).



Anexo 12 A : Aplicación del revelador (TMB).



Anexo 13 A: Lector de ELISA.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA - LEÓN
 LABORATORIO VETERINARIO DE DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN (LAVEDI)
 LABORATORIO SEROLOGÍA LEPTOSPIROSIS. PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN (MAT)
 CEPARIO HOLANDES
 ANEXO 41 A.



PROCEDENCIA: Managua

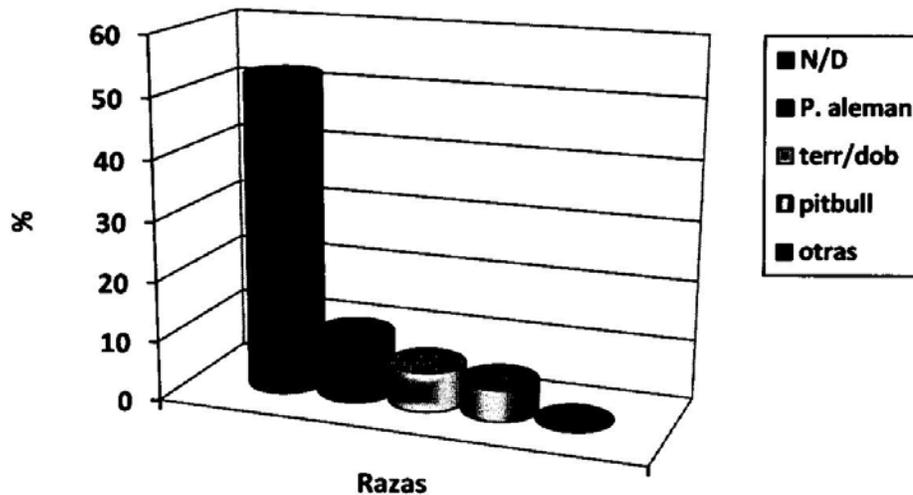
FECHA DE REALIZACIÓN: 20-11-08

| CODIGO LAVEDI | | | | | |
|---------------|--------------|----|---|--|--|
| X | Otro CODIGO | | | | |
| | ESPECIE | | | | |
| | Australis | 1 | | | |
| | Australis | 2 | | | |
| | Autumnalis | 3 | | | |
| | Ballum | 4 | | | |
| | Bataviae | 5 | | | |
| | Canicola | 6 | + | | |
| | Celledoni | 7 | | | |
| | Cynopteri | 8 | | | |
| | Djasman | 9 | | | |
| | Gripotyflosa | 10 | | | |
| | Hebdomadis | 11 | | | |
| | Icterohaemo | 12 | | | |
| | Icterohaemo | 13 | | | |
| | Icterohaemo | 14 | + | | |
| | Icterohaemo | 15 | | | |
| | Javanica | 16 | | | |
| | Lousiana | 17 | | | |
| | Manhao | 18 | | | |
| | Mini | 19 | | | |
| | Panama | 20 | | | |
| | Pomona | 21 | | | |
| | Pyrogenes | 22 | + | | |
| | Ranarum | 23 | | | |
| | Sarmin | 24 | | | |
| | Sejrroe | 25 | | | |
| | Sejrroe | 26 | | | |
| | Sejrroe | 27 | | | |
| | Patoc | 28 | | | |
| | Shermani | 29 | | | |
| | Tarassovi | 30 | | | |



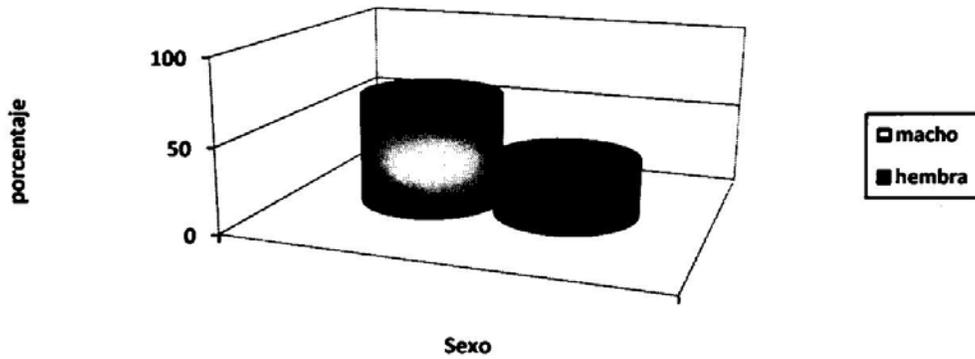
Anexo 16 A. Porcentaje de edad de los canes muestreados

El 80.3% de los canes muestreados se encontraban entre el primer y cuarto año de vida, el 10.5% de 9 a 12 años y sólo el 9.2% corresponde a canes entre 5 y 8 años de edad

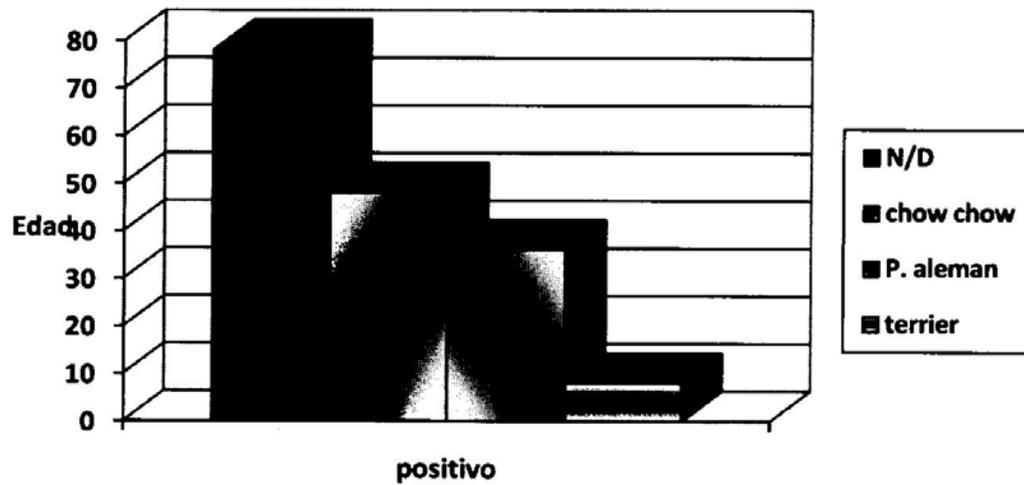


Anexo 17 A: Porcentaje de razas de los perros muestreados.

N/D (No Definida), mezcla de distintas razas o bien canes criollos con 52.6%. Seguido de la raza P. alemán 10.5%, terrier y Doberman 6.6%, pitbull 5.3%, las otras ocho razas van de 3.9 a 1.3%.

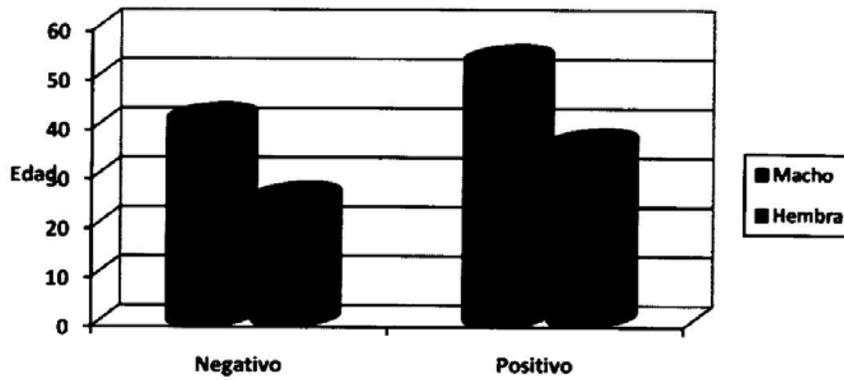


Anexo 18 A: Porcentaje según el sexo: De 76 perros muestreados 50 son machos, representando el 65.8% y 26 son hembras que representa el 34.2%.



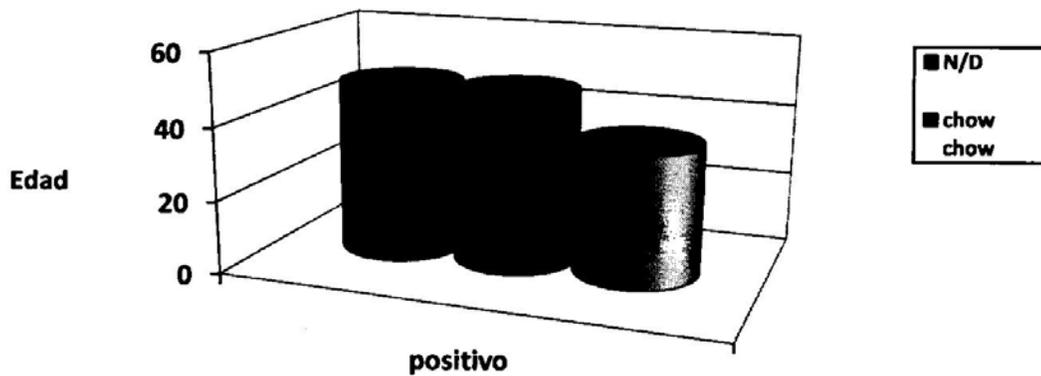
Anexo 19 A: Afección de las razas según la edad de acuerdo a la prueba ELISA

No Definida con 78 meses, seguida del chow chow 4 meses, pastor alemán 36 meses y del terrier 8 meses.



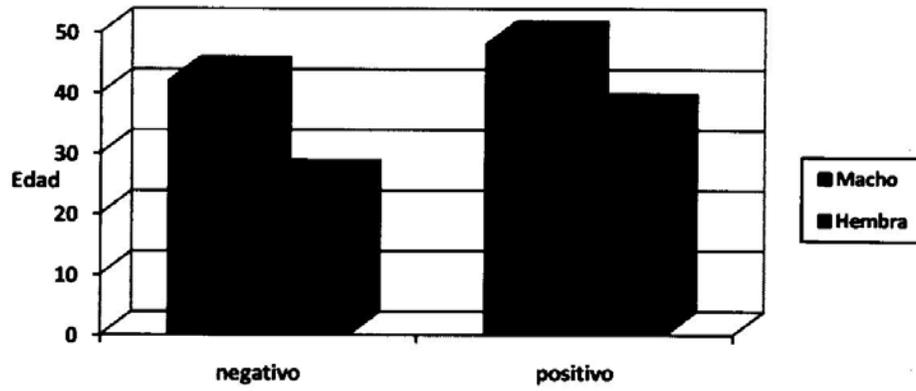
Anexo 20 A: Porcentaje de afección del sexo con respecto a la edad de acuerdo a la prueba ELISA.

Los machos entre los 53 meses de edad y las hembras que se encontraban dentro de los 36 meses resultaron positivos a la leptospirosis.



Anexo 21 A: Afección de las razas según la edad de acuerdo a MAT.

Las razas afectadas, son la No Definida y chow chow con 48 meses y pastor alemán 36 meses de edad.



Anexo 22 A. Porcentaje de afección del sexo con respecto a la edad de acuerdo a la prueba MAT.

Los machos negativos se encontraban entre los 42 meses y los positivos los 48 meses de edad, las hembras negativas entre 25 meses y las positivas 36 meses de edad.