

CONTRIBUCION
AL ESTUDIO DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA
EN NICARAGUA

Por

Guillermo Cruz Escobar

Tesis

Presentada a la consideración del Honorable Tribunal Examinador, como requisito parcial para obtener el Título de
INGENIERO AGRONOMO

Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería
Managua, Nicaragua, C. A.

1964

CONTRIBUCION
AL ESTUDIO DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA
EN NICARAGUA

Por

Guillermo Cruz Escobar

Tesis

Presentada a la consideración del Honorable Tribunal Examinador, como requisito parcial para obtener el Título de
INGENIERO AGRONOMO

Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería
Managua, Nicaragua, C. A.

1964

Aprobada:

Fecha:

Juan E. Cruz
17 agosto 1964

Dedico este trabajo
a la memoria de mi tío, Dr. Modesto R. Vargas
y
a mis padres,
y compañeros

RECONOCIMIENTOS

El autor agradece la valiosa cooperación que los profesores de la Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería, Dr. L. G. Clark, y Sr. Víctor M. Varela-Díaz, Miembros de la Misión Científica de la Universidad de Pennsylvania, prestaron en la realización del presente trabajo.

Así mismo, agradece al Sr. Director de la Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería, Ing. Orlando Lindo E. por su contribución a su formación profesional.

A los doctores J. L. Eguaras y José Escalante por sus oportunos consejos.

INDICE

Introducción	1
Revisión de Literatura	1
Materiales y Métodos	17
Resultados y Conclusiones	20
Resumen	31
Bibliografía	32

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro I	Porcentajes de Positivos.....	23
Cuadro II	Examen de Variación entre Grupos.....	24
Cuadro III	Examen de Variación entre Departamentos.....	25
Cuadro IV	Títulos por Edades.....	26
Cuadro V	Serotipos por Edad.....	27
Cuadro VI	Edades por Departamentos.....	28
Figura I	Gráfica ilustrando la relación entre la frecuencia de los títulos y las edades de los animales.....	29
Figura II	Mapa de Nicaragua mostrando los departamentos visitados.....	30

INTRODUCCION

El presente estudio se realizó en los Departamentos de Estelí, Chontales y León, departamentos que aportan a nuestra industria ganadera una buena densidad en su población bovina.

El objetivo de este trabajo fue el de establecer la prevalencia de Leptospirosis, los serotipos y los títulos existentes, y sus preferencias en edades, y razas de bovinos atacadas.

La importancia de este estudio para la Salud Pública, es que se trata de una zoonosis, con sus consecuencias de orden económico en el rendimiento total de las explotaciones ganaderas.

Se examinaron muestras obtenidas en el campo en una cantidad de 600, correspondientes a 21 fincas ubicadas en diferentes zonas de los departamentos y atendiendo a un 10% del total de animales en producción en cada finca visitada. Se hizo énfasis en las edades y razas de éstos.

Los datos se analizaron estadísticamente de acuerdo al número de positivos en los tres departamentos y a las razas o grupos sometidos a estudio. No se hizo análisis para cada departamento en particular.

LITERATURA REVISADA

DESCRIPCION DE LA ENFERMEDAD

La leptospirosis es una enfermedad causada por una espiroqueta, *Leptospira*, que ataca al hombre y a los animales. Los diversos tipos de leptospirosas patógenas aunque exhiben características morfológicas, biológicas y culturales así como epidemiología y patogeni-

cidad prácticamente idénticas, pueden distinguirse unos de otros por métodos serológicos. Las condiciones ambientales y el tipo de *Leptospira* causante de la infección determinan la variación en la gravedad de la enfermedad (5).

Muchos animales salvajes, entre ellos pequeños roedores y varios otros mamíferos, y animales domésticos como el cerdo, el perro, el caballo y los bovinos son portadores de leptospiras. Los animales portadores expulsan leptospiras en su orina por períodos que pueden variar de algunas semanas a varios años, sin presentar signos de enfermedad. El hombre es raramente un portador (4).

Las formas en que la leptospirosis afecta económicamente al ganadero son: pérdidas ocasionadas por abortos, muertes de camadas de cerdos y lotes de terneros, así como de animales jóvenes y aún adultos a consecuencia de una anemia hemolítica (19), hepatitis o trastornos renales (3). Las ganancias en peso resultan pequeñas, debido al retardamiento en el crecimiento. La producción láctea decrece, debido a la lactación interrumpida o disminuida. Además, hay pérdidas resultantes de mantener animales improductivos en un hato (19).

MORFOLOGIA DE LAS LEPTOSPIRAS

La longitud de las leptospiras es muy variable, casi siempre entre 6 a 12 micrones, aunque se han observado especímenes de 30 a 40 micrones. Poseen una diminuta cola espirilada y tienen una amplitud de cerca de 0.5 de micra. Aunque la mayoría de los investigadores han encontrado su anchura cerca de 0.25 de micra, medidas recientes con microscopio electrónico sugieren que ésta puede ser menor

que 0.1 de micra. Son visibles al campo oscuro y con bajo poder; los rollos espirales primarios son escasamente visibles. Una impresión usual al observarlas al microscopio es la de una hilera de pequeños puntos o de una sarta de finas cuentas. Las leptospiras tienen movimientos muy peculiares en medio líquido. Su parte media es mantenida rígida, mientras que uno o dos de sus extremos son curvos como ganchos. Hacen rápidos movimientos retorciéndose como un látigo lanzado, y rotan a lo largo de su eje (20).

CLASIFICACION

Wolff y Broom decidieron que no es posible tener un criterio exacto de la subdivisión del género (4). Por lo tanto definieron a un grupo de cepas de la misma constitución antigénica como una "especie" y aportaron el término "serotipo" en vez de "especie". Para establecer la individualidad de los serotipos se usó la prueba de la absorción-cruzada. Por medio de ella, si cada cepa remueve todos los anticuerpos del antisuero de la otra cepa, son consideradas serológicamente iguales, no siendo así cuando sólo una parte del contenido de anticuerpos es absorbida en cada caso. Por lo tanto se hizo necesario fijar un "límite de absorción" para poder decidir si ambas cepas se consideran o no pertenecientes al mismo serotipo. Decidieron que 2 cepas pertenecen a diferentes serotipos, si al usar cantidades iguales de antígeno heterólogo el 10% o más del título homólogo permanece con regularidad en cada uno de los dos antisueros.

FISIOLOGIA DE LAS LEPTOSPIRAS

Las leptospiras son fácilmente destruidas por el calor, luz solar, desecación, desinfectantes químicos y ácidos fuertes y bases. A pesar de eso pueden sobrevivir con relativa facilidad en condiciones ambientales. Considerables variaciones en el tiempo de supervivencia en diferentes tipos de medio ambiente han sido reportadas. El medio más común de difusión aparentemente son las aguas superficiales y charcos, por lo que han sido estudiados extensivamente. Van Theil (4) encontró organismos virulentos por un tiempo de 22 días en aguas superficiales.

Chang (4) demostró que el pH del agua es importante. L. icterohaemorrhagiae puede sobrevivir en agua fresca por sólo 28 horas y a un pH 5, pero podría sobrevivir por 30 días a un pH 7. En agua salada su período de supervivencia fue reducido a 18 ó 20 horas.

Kirschner & McGuire (4) observaron que L. hyos, L. icterohaemorrhagiae y L. pomona se lisificaron con leche de vaca, cabra y humana (4). El efecto leptospiricida de la leche no se redujo por almacenamiento, pasteurización o calentamiento por 5 minutos a 80°C.

Las leptospiras se cultivan con comparativa facilidad en medio artificial. Desde 1916 en que Inada y sus colaboradores (4) cultivaron las primeras cepas de Leptospira icterohaemorrhagiae en una forma modificada del medio de Noguchi para otras espiroquetas, el constituyente esencial del medio de cultivo utilizado, ha sido un fluido formado naturalmente, como suero o fluido hidrocefálico.

Si la sangre de conejo se hallaba levemente hemolizada se encontró que mejoraba el crecimiento de la leptospira.

Chang (1947) (4) elaboró un medio en el cual la triptosa tomó el lugar de la peptona y en el cual se usaba un extracto de hígado además de sales, suero, hemoglobina y agar. El encontró que los sueros de conejo, caballos o cobayos eran igualmente satisfactorios. Los miembros del género *Leptospira* se cultivan en medio líquido, sólido y semi-sólido con 10% o 15% de suero de mamíferos. Es más conveniente usar suero de conejo.

TRANSMISION

La orina de los animales infectados es una de las primeras fuentes de leptospiras. Es difícil determinar la manera exacta en que la enfermedad se transmite sin contar para ello con una investigación completa de cada caso individual. Las leptospiras cuentan con una extensa gama de huéspedes y pueden entrar al organismo de diversos modos. En estanques, arroyos o áreas pantanosas contaminadas por la orina pueden sobrevivir prolongados períodos de tiempo. Pueden penetrar en el animal a través de las grietas de la piel cuando se está bañando en un estanque o charco, o caminando en terrenos pantanosos contaminados por la orina infectada. Las membranas mucosas también pueden ser invadidas por leptospiras procedentes de aguas contaminadas o de membranas fetales infectadas aunque con menos frecuencia. Las delicadas membranas del ojo son fácilmente infectables por salpicaduras de orina. En la transmisión de estos organismos los vacunos desempeñan un papel importante, sirviendo de vehículo

de éstos organismos durante una fase más corta que la que tiene el ganado porcino, y es menor el número de organismos en su orina. La transmisión de esta enfermedad es fácil en algunas fincas debido a los grandes hatos existentes. La importancia de las infecciones en muchos animales silvestres no ha sido determinada. Las leptospiras se multiplican rápidamente en los tejidos de los huéspedes una vez que trasponen el obstáculo de la piel y pueden observarse en la circulación sanguínea de 2 a 6 días después que el animal ha quedado expuesto a la infección. Mientras las bacterias permanecen en la sangre, el animal padece frecuentemente de fiebres y presenta otras señales de la enfermedad (13).

SINTOMATOLOGIA

La leptospirosis bovina puede manifestarse como una aguda y febril enfermedad cuando es adquirida naturalmente, y puede mostrar todos los grados intermedios de severidad y duración, hasta terminar con la muerte en varios días en los casos más severos. La leptospirosis bovina es esencialmente comparable a la enfermedad en el hombre, donde los factores de edad, resistencia individual y la naturaleza del organismo infectante exhiben una gran variedad de manifestaciones clínicas.

Los síntomas clínicos de la leptospirosis bovina pueden dividirse para su discusión en los síndromes de homoglobinuria leptospiral, mastitis leptospiral y abortos leptospirales. Todos ellos pueden ser exhibidos en animales individuales o en todo un hato.

Hemoglobinuria leptospiral fue la primera leptospirosis bovina reconocida. Este síndrome se presenta en animales de todas las edades y de ambas explotaciones (leche y carne de vaca). Ha ocurrido más a menudo en terneros y animales jóvenes. La fiebre que ocasiona esta enfermedad a menudo varía desde 104°F a 107°F por un espacio de 1 a 5 días. Se observa durante este período febril, anorexia y depresión y también anemia e ictericia las que pueden continuar por varias semanas.

La hemoglobinuria puede ocurrir tan temprano como el período febril y persistir por horas o días. Cuando el animal es severamente afectado, el color característico de la orina cambia a un rojo oscuro. A menudo ocurre diarrea en la temprana etapa febril, seguida por constipación. La muerte por hemoglobinuria bovina es atribuible a la destrucción en masa de glóbulos rojos, por la invasión de leptospira. Se ha observado frecuentemente restablecimiento incompleto y en casos no fatales la enfermedad puede extenderse por un período de varias semanas.

La mastitis leptospírica fue primeramente descrita por Baker y Little (11), siendo la más sobresaliente en las experiencias clínicas estudiadas por ellos. Se caracteriza por la producción de leche sanguinolenta y espesa. En sus experiencias estos autores encontraron que las ubres eran suaves y flácidas considerándolas patognómicas. Otros investigadores sin embargo reportaron ubres duras. La explicación más plausible para esta aparente discrepancia puede ser que estos últimos investigadores descubrieron mastitis leptospírica compli-

cada con otras bacterias concurrentes de mastitis bovina.

La secreción de leche en el caso de la mastitis leptospírica es espesa, amarillenta o con manchas de sangre. El animal se recupera pronto pero la lactancia es muy lenta y nunca alcanza el nivel producido por un ataque previo durante una lactancia dada (11).

Basándose principalmente en observaciones de una alta frecuencia de abortos, la leptospirosis se considera como un abortifaciente. En varios casos se han demostrado leptospiras en fetos de ganado abortado y en membranas fetales de ganado preñado. Este concepto está apoyado por evidencia experimental que está apareciendo ahora. En Dinamarca no se ha reportado casos de leptospirosis bovina, sin embargo, informes de otros países han indicado que los abortos pueden ser el único síntoma de ella. Una serie de investigaciones se han hecho para tratar de encontrar una respuesta al problema de cuántos de los 30 a 35 abortos ocurridos anualmente de los 2 millones de ganado adulto (brucelosis-negativo), después del tercer mes de preñez, se deben a infecciones leptospirales, y resultados preliminares se han reportado (7).

Clínicamente, Freund (1947) reconoció tres formas de la enfermedad (4). Una es la forma sobre-aguda que ocurre durante la preñez o cuando los animales están sufriendo de otra infección aguda. El comienzo es súbito con fiebre alta, la orina se hace negra, y las membranas mucosas se presentan fuertemente ictéricas; la estasis general en el sistema digestivo es pronunciada, la orina contiene albúmina y se encuentra hemoglobina y pigmentos biliares en gran cantidad.

La urea en la sangre es elevada en las etapas terminales y la muerte ocurre en 3 a 7 días.

De la forma sub-aguda, como de dos semanas de duración y en la cual la mayoría se recuperan, son muchos los casos entre el ganado vacuno. El comienzo es lento y los primeros signos se observan usualmente en la leche, que se torna color rosado y contiene coágulos de sangre. El flujo de la leche es reducido, a veces hasta sólo varias gotas de un fluido viscoso. La ictericia se presenta acompañada por el cese de la ruminación y estasis del sistema digestivo. Los riñones se hinchan y retornan al tamaño normal, lentamente, durante la convalecencia que se prolonga de 2 o más semanas.

En las formas crónicas o recurrentes los síntomas son menos pronunciados. En algunas epidemias, no ocurren ictericia ni hematuria y los abortos parecen ser la única indicación de la infección (4).

LESIONES

Las lesiones en leptospirosis bovina son principalmente confinadas a los riñones. En casos agudos pueden encontrarse a menudo petequias en la superficie de los riñones las que pueden ser acompañadas por depósitos de hemosiderina. Frecuentemente se observa en la superficie de los riñones, pequeños focos blancos siguiendo al estado agudo de leptospirosis. Exámenes microscópicos de tejidos de riñones afectados muestran una nefritis intersticial.

Usando tinción argéntica pueden ser demostradas las leptospiras en túbulos afectados. Petequias e ictericias son observadas en varias membranas mucosas. El tejido de hígado es marcadamente amarillo y congestionado en casos severos (12).

DIAGNOSTICO

Los procedimientos de laboratorio de más rápida confirmación en el diagnóstico de leptospirosis son los más deseables desde el punto de vista del paciente, del médico, del veterinario y del epidemiólogo. Estos procedimientos como en otras infecciones bacterianas, están basados en las pruebas de cultivo e inoculación de animales experimentales para tratar de aislar la leptospira, la demostración histológica de leptospiras en tejidos o líquidos orgánicos y en las pruebas serológicas para descubrir anticuerpos específicos.

PROCEDIMIENTOS RECOMENDADOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE LEPTOSPIROSIS

I. PROCEDIMIENTOS DE AISLAMIENTO

A. Cultivo directo:

- 1.- Sangre
- 2.- Líquido cefalorraquídeo
- 3.- Orina (técnica de dilución).
- 4.- Orina (por punción de vejiga).
- 5.- Cultivo de órgano y orina al hacer una necropsia.

B. Inoculación de animales con muestras de orina:

- 1.- Hamsters
- 2.- Cobayos
- 3.- Pollitos.

II. PROCEDIMIENTOS SEROLOGICOS

A. Prueba macroscópica en placas.

B. Prueba de aglutinación microscópica.

C. Identificación de serotipos de leptospiras (17).

La deficiencia de los análisis serológicos es que no indican si en determinado tiempo el animal tiene o no la enfermedad, en virtud de que el suero de ciertos animales puede permanecer positivo,

desde uno o varios años después de haber contraído la enfermedad. Siempre es necesario correlacionar los resultados serológicos con los antecedentes históricos del hato o criadero (13).

En casos de leptospirosis los anticuerpos aparecen generalmente del sexto al duodécimo día de la enfermedad, y aumentan rápidamente, alcanzando títulos máximos en la tercera o cuarta semana. Títulos bajos de aglutininas pueden persistir por meses o años y es por eso imposible determinar si existe una infección leptospiral corriente o los anticuerpos se deben a experiencias pasadas con la enfermedad, a no ser que se examinen por lo menos dos muestras de sangre. La primera muestra debe tomarse durante las etapas tempranas de la enfermedad y la otra de 10 días a dos semanas más tarde, para detectar un alza en título. Estos exámenes serodiagnósticos son de gran ayuda en la confirmación de infecciones leptospirales activas o pasadas al considerarse conjuntamente con los datos clínicos y epidemiológicos,

No es confiable depender totalmente de las reacciones serológicas del suero del paciente para determinar el serotipo infectante. Por ejemplo, se observa frecuentemente durante la fase aguda de infecciones con L. icterohaemorrhagiae, que pueden ocurrir reacciones paradójicas con otro serotipo, tales como las cepas de L. icterohaemorrhagiae, L. ballum, L. canicola y otras. Es obvio que el serotipo infectante puede determinarse con certeza sólo mediante el aislamiento e identificación serológica de las leptospiras. Puede ocurrir que una reacción negativa, aún en muestras en serie, no elimine

la posibilidad de infección ya que el paciente podría estar infectado con un serotipo que no ha sido incluido en la batería de antígenos usados para el examen. En caso de no encontrarse aumento en títulos no debe eliminarse la posibilidad de una infección corriente. Existe evidencia que parece indicar que el tratamiento antibiótico temprano, puede suprimir el desarrollo de anticuerpos leptospirales, así que éstos pueden aparecer tarde y no mostrar aumento alguno o quizás no logren aparecer del todo (10).

EVALUACION DE LOS RESULTADOS DE AGLUTINACION-LISIS EN GANADO ADULTO

No existe ninguna relación entre títulos y severidad de la enfermedad, o sea que se pueden encontrar animales que exhiban títulos de 6400 por ejemplo sin que necesariamente presenten síntomas clínicos. La presencia de títulos altos es evidencia de infección reciente, al contrario de títulos bajos, que representan infecciones viejas.

Significado de un examen negativo de aglutinación-lisis:

Una reacción negativa no elimina la posibilidad de que el animal haya tenido leptospirosis más de 5 semanas antes del examen, ni las posibilidades de que el animal haya estado en la fase temprana de una leptospirosis, (los primeros 4 a 5 días) cuando la muestra de sangre fue sacada.

Significado de un examen positivo de aglutinación-lisis:

Factores hereditarios y ambientales pueden condicionar seroreacciones no-específicas con algunos serotipos de leptospiras. Esto ocurre en casi todas las infecciones. Además los títulos de una

aglutinación-lisis también pueden ser influenciados por factores tales como la "sensibilidad" y la densidad del antígeno y el método de determinar el tiempo final, o sea factores que pueden variar en diferentes laboratorios y algunos de ellos hasta en un mismo laboratorio. La respuesta a qué título puede dar evidencia serológica de leptospirosis presente o pasada debe basarse en experiencias locales y con respecto a los diferentes serotipos (7).

INMUNIZACION

La vacunación de animales de finca se ha estudiado principalmente en Rusia, los Estados Unidos y Nueva Zelanda. Nefed'ev (1949) reconoció que una vacuna dada en dos dosis era efectiva para reducir la incidencia de la enfermedad en vacas de hatos infectados, y que la vacuna se había usado en miles de vacas y ovejas en la Unión Soviética con buenos resultados (4).

Con una bacterina se requieren 10 días o más después de la vacunación para desarrollar anticuerpos demostrables en suero, aunque los abortos en vacas vacunadas pueden continuar por 3 a 5 semanas. Para reducir éstas pérdidas, las cuales pueden llegar hasta el 25 por ciento y más, se recomienda primero, vacunar lo más temprano posible al presentarse la infección, acompañándola con la administración de antibióticos parenteralmente; segundo, el tratamiento parenteral con antibióticos a las vacas que han abortado, para reducir la pérdida por muerte asociada a la retención de placenta; tercero, controlar el acceso del hato a aguas superficiales para reducir la exposición a la contaminación (15).

Durante una epizootia se probó una vacuna viva de una cepa de Leptospira pomona en vacas, resultando un 66% de efectividad sobre los resultados obtenidos con la bacterina. Esta vacuna, primero estimula la formación de anticuerpos que aparecen por el cuarto día, y persisten por lo menos 36 meses y segundo, producen una leptospiruria mínima en el ganado joven por una o dos semanas y que no puede ser determinada por examen al microscopio de campo oscuro de la orina; tercero, no aparece interferencia con la gestación normal y cuarto, no se encontró transmisión por contacto de los vacunados a los no vacunados (15).

TRATAMIENTO

Todos los serotipos son altamente sensitivos a bastantes drogas antibióticas in vitro, pero inesperadamente ineficaces cuando se trata de infecciones naturales y experimentales (Broom 1951). El hombre aún cuando comienza a tratarse tan temprano como sea posible no responde a la penicilina en las formas serias de infección. Sin embargo algunos beneficios se han obtenido con grandes dosis de penicilina para llevar la temperatura a normal lo más rápidamente, esto en las formas leves recuperables de leptospirosis, pero no ha sido ésta la experiencia general de todos los observadores. En caso de oliguria y anuria el tratamiento más necesario es el régimen Bull, o por el riñón artificial. La cortisona puede ser utilizada en el caso de que las lesiones renales severas sean de naturaleza alérgica. Hasta el presente en animales de finca no se ha establecido claramente, por observaciones controladas, el tratamiento de la

enfermedad leptospiral. La Streptomocina fue una droga efectiva en el tratamiento de una infección de perros por Leptospira icterohaemorrhagiae. La Penicilina fue reportada con éxito en una infección de L. canicola (Joshua & Freak) pero Brooner y Meyer (3) encontraron que la Streptomocina fue más eficaz que la penicilina, para prevenir leptospiruria después de la recuperación.

MEDIDAS PREVENTIVAS

Estas medidas deben ser aplicadas de acuerdo a las circunstancias y son: a) la destrucción de roedores y el acondicionamiento de edificios a prueba de roedores; b) higiene de los predios y el suelo y protección de los alimentos; c) aislamiento, destrucción vacunación o tratamiento con drogas, de los animales domésticos infectados; d) higiene de los individuos humanos; e) avisar al médico del riesgo de infección en ciertas ocupaciones; f) la inmunización bien sea pasiva por suero o activa por vacunas (4).

RESUMEN HISTORICO-GEOGRAFICO

En 1886 fue descrita la leptospirosis, como la enfermedad de Weil en el hombre, como un ente clínico (10). Patólogos militares alemanes y británicos durante la Primera Guerra Mundial encontraron una espiroqueta como el agente causante de ictericia entre los soldados. Científicos japoneses simultáneamente, por inoculación de cobayos con sangre humana, demostraron que era una espiroqueta la causante de esta enfermedad, y la llamaron Spirochaeta icterohaemorrhagiae. Al mismo tiempo encontraron anticuerpos de larga duración en pacientes convalescientes. La rata fue la fuente de infección entre los soldados en la Primera Guerra Mundial, según los investigadores euro-

peos. En 1927 fue sugerido el género leptospira por Noguchi, siendo L. icterohaemorrhagiae, la especie típica de éste género. En 1926 L. bataviae y en 1923 L. pyrogenes se reportaron como causantes de enfermedades en el hombre en las Indias Orientales por investigadores holandeses. En 1928 L. grippotypbosa fue aislada por trabajadores rusos, causando enfermedades en humanos y animales en Europa y Asia. En 1937 se reportaron L. australis y L. pomona por investigadores australianos en ese país (10).

Jungherr de Connecticut en 1944, fue el primero que reportó la leptospirosis bovina en los Estados Unidos, seguido por los reportes de Marsh de Montana en 1945, Mathews de Tejas en 1946 y Sutherland y Morrill de Illinois en 1948 (1).

Solamente se ha comprobado definitivamente de Méjico a Panamá la existencia de 7 serotipos, y de 5 en América del Sur. L. icterohaemorrhagiae ha sido relacionada en la mayoría de los casos de leptospirosis en Latinoamérica y anteriormente había sido confundida con la Fiebre Amarilla. L. canicola ha provocado algunos casos de infección en Cuba, Puerto Rico, Jamaica, Argentina, Brasil y Uruguay. La enfermedad en los animales ha sido poco estudiada, concretándose únicamente a infecciones caninas y estudios etiológicos de la oftalmía periódica, ésta última en caballos de la Argentina y el Brasil.

Hay indicios de que se descubran nuevos serotipos en Latinoamérica debido a los resultados obtenidos en una serie de encuestas realizadas recientemente en Panamá, Méjico, Perú, Bolivia y Surinam, que indican la existencia de leptospirosis múltiple en gran proporción en humanos y animales (2).

Una encuesta serológica hecha en Guatemala (1) en animales domésticos reveló la presencia de aglutininas leptospirales en vacas, cerdos, caballos, perros y cabras aunque no en ovejas. Además se presentó evidencia obtenida sobre la distribución de la leptospirosis en ese país.

En Nicaragua, Eguaras (4) utilizando antígenos muertos para L. pomona encontró 2 casos positivos en el Departamento de Rivas y 9 en el Departamento de Granada. El Ministerio de Agricultura y Ganadería informó a la OIRSA, 4 focos con 42 casos de leptospirosis bovina en el Departamento de Granada entre julio de 1961 a junio de 1962. L. pomona, L. hardjo y L. hyos, fueron detectadas en 27 pacientes de 120 sueros, en muestras enviadas a la Universidad de Pennsylvania, E.U.A., por el Ministerio de Agricultura y Ganadería ese mismo año (16).

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo entre el 10 de octubre de 1962 y 1° de septiembre de 1963. El trabajo se realizó en dos etapas, una de campo, otra de laboratorio. El trabajo de campo consistió en la recolección de muestras de sangre, para ello se visitó un total de 21 fincas en los departamentos de Estelí, Chontales y León; se colectaron 600 muestras, todas de vacas de diversas edades y razas y atendiendo a un 10% del total de vacas en producción en las fincas visitadas.

El procedimiento seguido fue el siguiente: Una vez metido el animal en la manga y sujeto con la naricera, se procedió a san-

grarlo por punción de la vena yugular. La muestra obtenida fue de 5 a 10 cc. Se mantuvo un registro del número y orden de cada animal sangrado, anotando esta información tanto en el tubo de la muestra como en una papeleta. En esta papeleta se anotó la información considerada pertinente, tal como, finca, Departamento, región; edad, raza, número de registro o nombre de la vaca, y si había abortado o no en fecha reciente.

En las papeletas se siguió el siguiente sistema de codificación. El número de la vaca sangrada se expresó con un número ordinal; el Departamento visitado, en orden de muestreo, se representó con una letra; las fincas en orden visitado en el Departamento se señalaron con sub-índices de números ordinales; y por último se anotaron las dos últimas cifras del año en que se visitó dicha finca. Así, la papeleta codificada 1 A, 62 corresponde a la primera vaca sangrada en la primera finca del primer Departamento (Estelf), visitado en el año 1962.

En el Laboratorio se llevaron a efecto los siguientes pasos: Con un palillo de madera o de vidrio se separaron los coágulos de las paredes de los tubos de ensayo de 10 cc. que contenían la sangre entera. Estas se centrifugaron por 5 minutos a 3,010 revoluciones por minuto. Inmediatamente se pasaron por decantación a tubos nuevos, los que nuevamente fueron centrifugados por 3 minutos a la misma velocidad. Los sueros quedaban listos para usarse o de lo contrario se refrigeraban.

Para la preparación del antígeno se usaron cepas de *Leptospira* que fueron obtenidas del OMS/FAO.-Instituto Militar de Investiga-

ciones Walter Reed. Ellas se mantuvieron en medio líquido de Stuart y se transfirieron cada 5 a 7 días. El rápido transferimiento parece reducir la formación de nidos de crías al mínimo. Estos cultivos de crecimiento rápido se usaron en la relación aproximada de 1:10, para sembrar la cantidad deseada en medio líquido de Stuart. Se incubaron a 28 o 30°C. durante 4 a 6 días y luego se observaron al microscopio de campo oscuro. Si los cultivos se presentaban demasiado densos se hacían diluciones con medio líquido de Stuart o solución salina fisiológica buferada.

Para la aglutinación microscópica se usaron antígenos vivos de los siguientes serotipos: L. bataviae, L. pomona, L. autumnalis, L. ballum, L. canicola, L. icterohaemorrhagiae, L. alexi, L. grippotyphosa, L. australis, L. hardjo, L. hyos.

Los sueros problemas se diluyeron en solución salina al 0.85% de manera que quedaron las siguientes diluciones: 1/50, 1/200, 1/800 y 1/3,200. Estas diluciones se colocaron en pocitos plásticos de incubación, los que estaban marcados de tal manera que indicaran la mayor y menor dilución. Luego se vertió 0.2 cc de la solución en cada pocito con una pipeta de 2 cc. Con una jeringa graduada de pipeteo continuo se agregaron 0.2 cc de los 11 antígenos en los pocitos de incubación donde se encontraban las diferentes diluciones del suero, de manera que éstos quedaron en diluciones de: 1/100, 1/400, 1/1600 y 1/6400. Estas diluciones se agitaron manualmente y se llevaron a incubación a 37°C. por 1 o 2 horas. Se examinaron gotitas de la mezcla incubada en laminillas con el microscopio de campo oscuro, usando objetivos de 10X y oculares de 10X, sin usar cubre-

objeto. Se observaron primero las dos diluciones más bajas y cuando ambas resultaron positivas se hizo la observación de las 4 diluciones hasta encontrar el título mayor. Si solamente hubo aglutinación en la gota correspondiente a la dilución más baja el título fue de 100, que en la papeleta se marcó con una cruz (+) debajo de la columna de 100 y en la fila del serotipo correspondiente cuando las gotas correspondientes a las dos diluciones más bajas presentaron aglutinaciones el título fue de 400, por lo que hubo que observar las dos diluciones más altas correspondientes a los títulos de 1.600 y 6.400. El título final fue tomado como la última dilución en donde aparecen aglutinaciones o leptospiras inactivas (18).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los datos fueron analizados estadísticamente con la prueba de significancia por medio de X^2 (6) y comparado luego el valor calculado de X^2 con el valor tabulado al 0.1%, de probabilidades.

Las muestras fueron analizadas en grupo o sea que no se hizo análisis por separado de cada departamento. Los animales por su raza se agruparon así: puros, mezclados y criollos, atendiendo a los datos obtenidos en las fincas.

En el cuadro I se presentan los porcentajes de positivos con referencia a razas y a departamentos. El grupo de los mezclados aparece con el mayor porcentaje encontrado que es de 38.5%, seguido de los puros con 26.7 y los criollos con 23.9.

En cuanto a departamentos, Chontales nos muestra el mayor porcentaje de positivos 75.33%, seguido de León con 51.54% y Estelí con 12.02%.

Para saber si esta aparente diferencia en razas y departamentos era o no debida al azar en el muestreo, se efectuó con los datos la prueba de X^2 , que nos demostró que existía una diferencia verdadera y significativa en los niveles de 0.1 y 1% de probabilidad. (Ver cuadros II y III).

Los títulos aparecieron en casi todas las edades y el mayor porcentaje de ellos se presentó a la edad de 4 años, seguido de las edades de 3 y 5 años como se desprende del Cuadro IV. Se observaron también solamente 5 casos relacionados con el título de 6400 en las edades de 4, 8 y 10 años. Es de notar que los porcentajes de positivos se encontraron bajando según la edad aumentaba. Los títulos de 100 y 400 se encontraron prevalentes en números de 188 y 75 respectivamente.

En el cuadro V, el serotipo L. hardjo encabezó el orden de prevalencia con 100 casos seguido de L. pomona con 36 y L. hyos con 35.

El cuadro VI nos presenta que las edades más comúnmente muestreadas estaban comprendidas entre los 4 y 8 años.

En la figura I se observa que el título nos presenta su mayor frecuencia en las edades comprendidas entre 5 y 6 años.

CONCLUSIONES

Se encontró prevalencia en los 3 departamentos muestreados y en los 3 grupos de razas examinados.

El grupo de más riesgo de infección estaba comprendido en las edades de 3 a 5 años como lo demostró sus mayores porcentajes de

positivos relacionados con los títulos. Esto es importante porque en las referencias se hace notar la persistencia de títulos durante muchos años y aun por toda la vida de muchos animales; los resultados obtenidos aquí demuestran que decrece según la edad aumenta. Títulos altos en las edades mayores son indicación de infecciones recientes.

Es evidente la presencia de anticuerpos para todos los serotipos estudiados. La leptospirosis se encontró atacando en todas las edades estudiadas (excepto a los 2 años).

Aunque las edades más comunmente muestreadas estaban comprendidas entre los 4 y 8 años, y que el Departamento de Chontales presentó el mayor porcentaje de casos positivos; en las edades de 4 y 6 años, los departamentos de Estelí y León fueron numéricamente superiores, lo que nos indica que en el muestreo no se hizo selección alguna sino únicamente efectuada al azar.

CUADRO I

PORCENTAJES DE POSITIVOS

Razas	Positivos	Negativos	Total	% de Positivos
Criollo	50	159	209	23.9
Mezclados	110	176	286	38.5
Puros	<u>28</u>	<u>77</u>	<u>105</u>	26.7
Total	188	412	600	

Departamento	Positivos	Negativos	Total	% de Positivos
Chontales	168	55	223	75.33
León	100	94	194	51.54
Estelí	22	161	183	12.02

CUADRO II

EXAMEN DE VARIACION ENTRE GRUPOS

Grupos	Positivos		Negativos		Totales
	Observados	Esperados	Observados	Esperados	
Criollo	(a) 50	65.48	(b) 159	143.52	209
Mezclados	(c) 110	89.61	(d) 176	196.39	286
Puros	(e) <u>28</u>	32.90	(f) <u>77</u>	72.10	<u>105</u>
Total		188		412	600

Valores esperados

$$a = \frac{209 \times 188}{600} = 65.48$$

$$b = 209 - 65.48 = 143.52$$

$$c = \frac{286 \times 188}{600} = 89.61$$

$$d = 286 - 89.61 = 196.48$$

$$e = \frac{105 \times 188}{600} = 32.90$$

$$f = 105 - 32.90 = 72.10$$

Contribución a X^2

$$a = \frac{(50 - 65.48)^2}{65.48} = 3.65$$

$$b = \frac{(159 - 143.52)^2}{143.52} = 1.77$$

$$c = \frac{(110 - 89.61)^2}{89.61} = 4.68$$

$$d = \frac{(176 - 196.39)^2}{196.39} = 2.12$$

$$e = \frac{(28 - 32.90)^2}{32.90} = 0.72$$

$$f = \frac{(77 - 72.10)^2}{72.10} = \frac{0.33}{13.29}$$

$$X^2 = 13.29$$

Grados de Libertad = 2

CUADRO III

EXAMEN DE VARIACION ENTRE DEPARTAMENTOS

Departamento	Positivos		Negativos		Totales
	Observados	Esperados	Observados	Esperados	
Chontales	(a) 168	107.78	(b) 55	115.22	223
León	(c) 100	93.77	(d) 94	100.23	194
Estelf	(e) 22	88.95	(f) 161	94.55	183
Total	290		310		600

Valores esperados

$$a = \frac{223 \times 290}{600} = 107.78$$

$$b = 223 - 107.78 = 115.22$$

$$c = \frac{94 \times 290}{600} = 93.77$$

$$d = 194 - 93.77 = 100.23$$

$$e = \frac{183 \times 290}{600} = 88.45$$

$$f = 183 - 88.45 = 94.55$$

Contribución a χ^2

$$a = \frac{(168 - 107.78)^2}{107.78} = 3.36$$

$$b = \frac{(55 - 115.22)^2}{115.22} = 3.14$$

$$c = \frac{(100 - 93.77)^2}{93.77} = 0.41$$

$$d = \frac{(94 - 100.23)^2}{100.23} = 0.38$$

$$e = \frac{(22 - 88.45)^2}{88.45} = 4.99$$

$$f = \frac{(161 - 94.55)^2}{94.55} = \frac{4.67}{16.97}$$

$$\chi^2 = 16.97$$

Grados de Libertad = 2

CUADRO IV
TITULOS POR EDADES

Edades	100	400	1600	6400	Total en edades agrupadas	Total de % de positivos por edad
2	0	0	0	0	8	0
3	26	7	0	0	57	57.4
4	38	8	3	2	76	68.5
5	39	14	2	0	102	53.9
6	42	8	2	0	104	50.0
7	16	14	2	0	89	36
8	13	12	1	2	81	34.5
9	9	10	0	0	47	40.4
10 +	6	2	0	1	36	25
Total	188	75	10	5	600	

CUADRO V

SEROTIPOS POR EDAD

Años	Nº Anim.	Bat	Pom	Aut	Bal	Can	Ict	Alex	Grip	Aust	Hardjo	Hyos	Total
2	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	57	0	6	7	1	4	1	2	5	0	12	6	44
4	76	4	6	0	7	3	2	0	5	2	16	9	54
5	102	2	10	1	2	4	2	0	8	0	24	8	61
6	104	3	3	3	1	3	2	0	3	1	14	6	39
7	89	2	4	3	6	3	0	1	4	0	16	3	42
8	81	1	4	1	3	3	2	0	3	0	12	2	31
9	47	0	1	1	0	3	1	1	1	1	4	1	14
10 +	36	0	2	0	1	1	0	1	0	0	2	0	6
Total	600	12	36	16	21	23	10	5	29	4	100	35	291

CUADRO VI
EJADES POR DEPARTAMENTOS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	T
Estelí	0	4	10	26	19	34	21	32	17	14	3	2	1	0	183
Ghontales	0	1	31	23	36	31	39	26	23	8	2	0	1	2	223
León	0	3	16	27	47	39	29	23	7	3	-	-	-	-	194
Totales	0	8	57	70	102	104	89	81	47	25	5	2	2	2	600

FIGURA I

Gráfica ilustrando la relación entre la frecuencia de los títulos y las edades de los animales

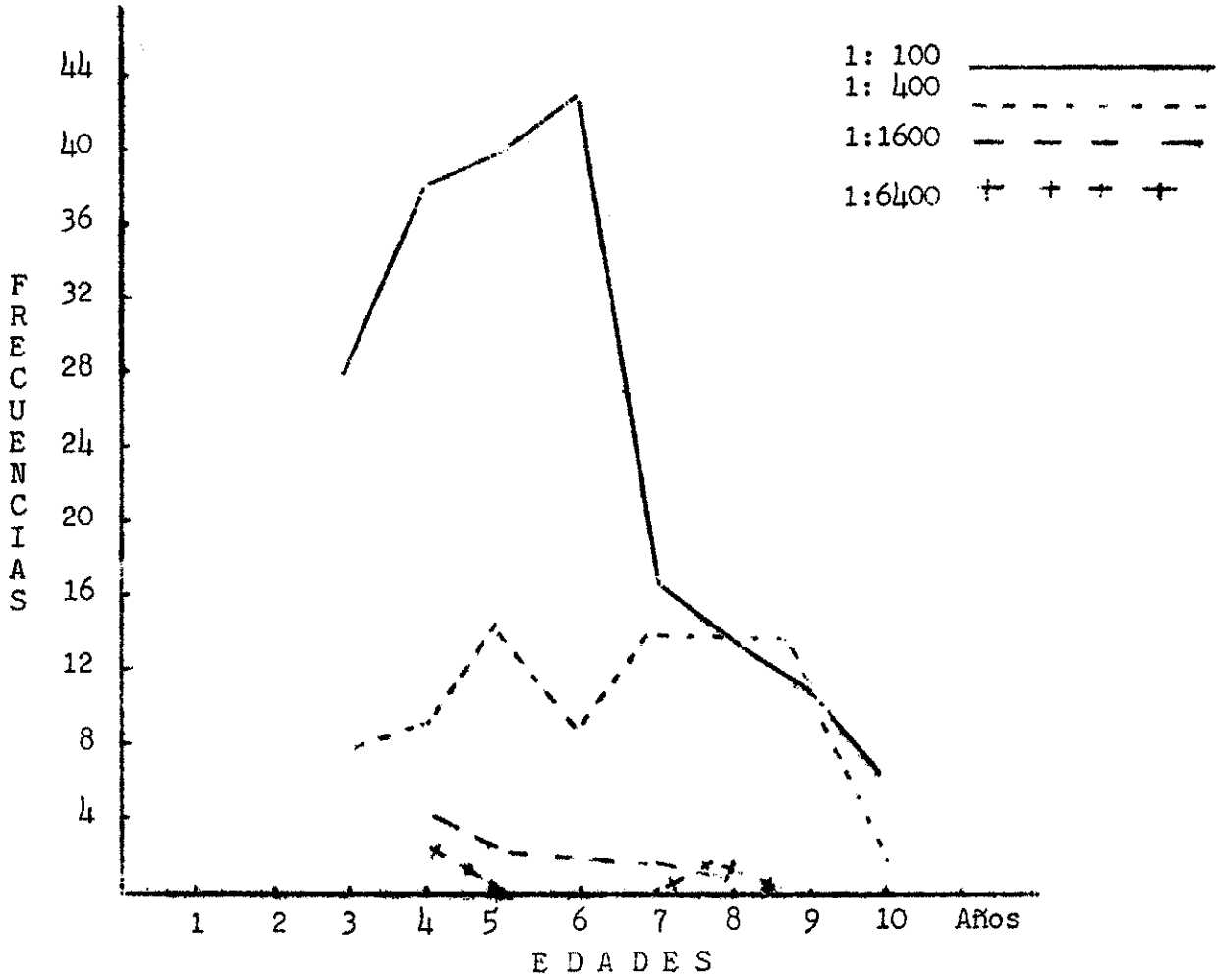
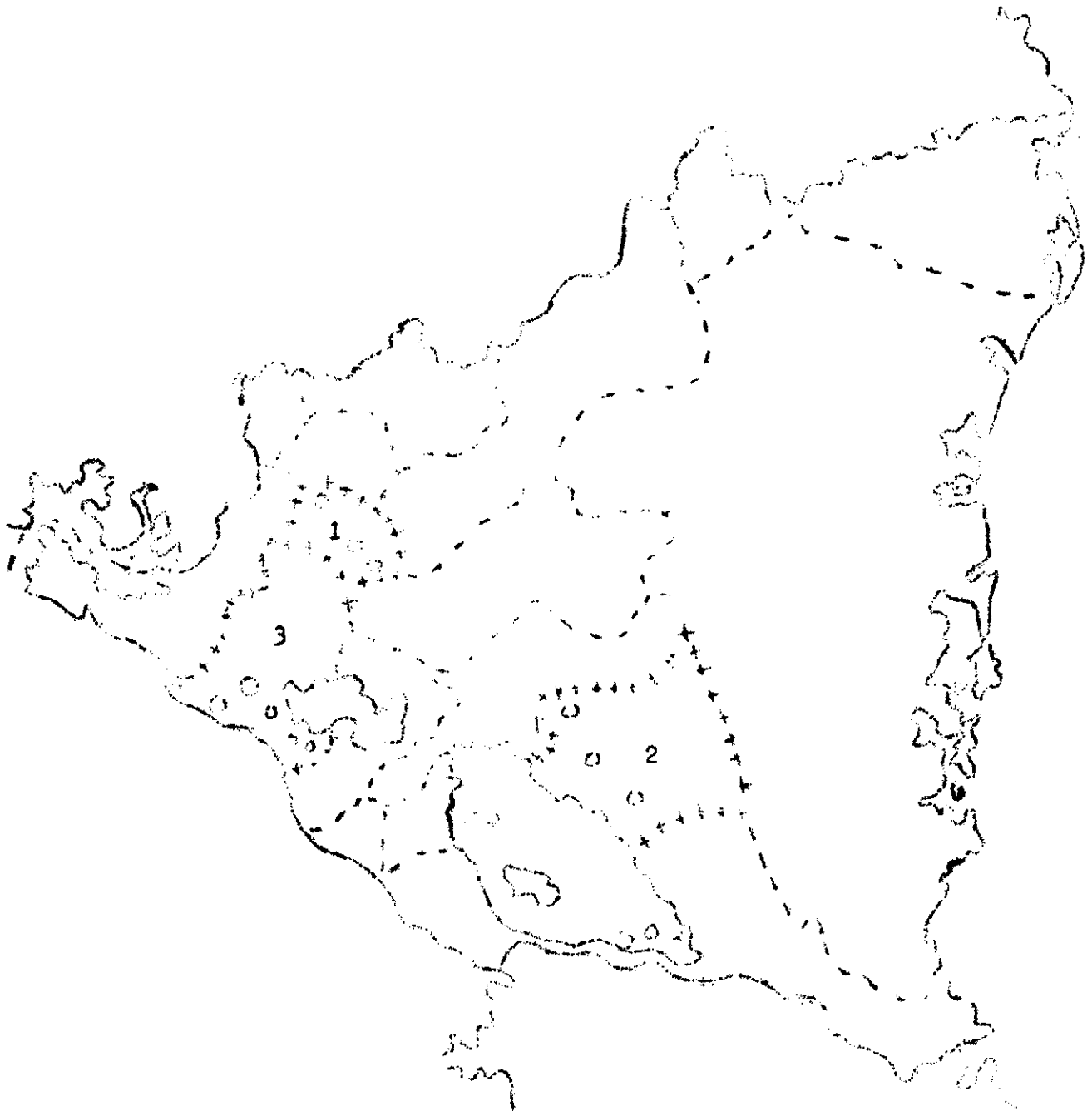


FIGURA II
Mapa de Nicaragua donde se ilustra la
localización de las zonas estudiadas.-



+ + + + Dptos. Examinados
○ ○ ○ ○ Localización De Fincas

RESUMEN

El presente estudio se realizó entre el 10 de Octubre de 1962 y el 1° de Septiembre de 1963, en los Departamentos de Estelí, Chontales y León. Se estudiaron los siguientes aspectos: Prevalencia de la Leptospirosis en vacas en producción, los serotipos existentes, las edades más comunmente atacadas y la prevalencia observada en las razas. Los resultados en conjunto fueron: Prevalencia de la Leptospirosis en las vacas de los 3 departamentos estudiados. El Departamento más atacado fue el de Chontales, luego el de León y por último el de Estelí. Los serotipos encontrados en orden de importancia numérica son: L. hardjo, L. pomona, L. grippotyphosa, L. canicola, L. ballum, L. autumnalis, L. bataviae, L. icterohaemorrhagiae, L. alexi, L. australis. Los títulos mayormente encontrados fueron los de 100 y 400.

Se encontró diferencia significativa para grupos y Departamentos.

La prevalencia observada respecto a las edades fue que la Leptospirosis además de producir anticuerpos en animales de todas las edades estudiadas (excepto 2 años), fue mayor en los animales entre 3 y 7 años.

BIBLIOGRAFIA

- 1/ Acha, Pedro N., Alexander, A. D., Santamarina, G., Robin, H. L. and Yager, R. H.: Serological Studies on Leptospirosis in Guatemala. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 12 (1963): 580-585.
- 2/ Alexander, A. D.: La Distribución de la Leptospirosis en América Latina. *BoI. Of. San. Pan.* XLIX (1960): 149-164.
- 3/ Alston, J. M.: Recent Developments in Leptospirosis. *Proc. Royal Soc. Med.* 54 (1961): 61-67.
- 4/ Alston, J. M. and Broom, J. C.: Leptospirosis in Man and Animals. E & S Livingston LTD (1958): 367 pp.
- 5/ Babudieri, B.: Laboratory Diagnosis of Leptospirosis. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 24 (1961): 45-58.
- 6/ Batson, H. C.: An Introduction to Statistics in the Medical Sciences. Burgess Publishing Co. (1961): 81 pp.
- 7/ Borg-Petersen, C. and Fennestad, K. L.: Studies on Bovine Leptospirosis and Abortion. I Serological Examination of Aborting and "Normal" Cattle in Denmark. *Nord. Vet. Med.* (1956): 465-480.
- 8/ Bryan, H. S.: Leptospirosis en el ganado vacuno y porcino. *Agricultura de las Américas* 5 (1956): 28-29.
- 9/ Eguaras, J. L.: Informes al Ministerio de Agricultura y Ganadería. Unidad Móvil Campaña de la Brucelosis (1962).
- 10/ Galton, M., Menges, R. M., Shotts, E. B.: Leptospirosis Methods in Laboratory Diagnosis. U. S. Department of Health, Education And Welfare, Public Health Service. Communicable Disease Center, Atlanta, Ga. (1960): 31 pp.
- 11/ Gochenour, W. S., Yager, R. H., Manifestations of Bovine Leptospirosis. *Vet. Med.* 48 (1953).
- 12/ Hanson, L. E.: Bovine Leptospirosis. *J. Dairy Sc.* 43 (1960): 453-462.
- 13/ Hanson, L. E.: La Leptospirosis en los bovinos y los cerdos. *Agricultura de las Américas* 10 (1961): 52-53.

- 14/ Kenzy, S. G., Kedwn, G. H., Okazaki, W., Gillespie, R. W. H. and Ringen, L. M.: Detection of viable L. pomona in Bovine Kidneys after Leptospirosis had apparently ceased.
- 15/ Kenzy, S. G., Gillespie, R. W. H., Ringen, L. M.: Problems in Treatment and Control of Leptospirosis. Am. Vet. Med. Ass., 136 (1960): 253-255.
- 16/ Ministerio de Agricultura y Ganadería de Nicaragua. Informe a la OIRSA (1962) Archivos.
- 17/ Oficina Sanitaria Panamericana-Oficina Regional de la OMS. Manual para el Curso sobre métodos de Laboratorio en Leptospirosis (1961): 28 pp.
- 18/ Redmond, H. E.: Problems in Leptospirosis Serology. Southwestern Vet. 14 (1961).
- 19/ Reinhard, Karl R.: Present Knowledge and Concepts of Leptospirosis in Farm Animals. JAVMA 123 (1953): 487-493.
- 20/ Wolff, J. W.: The Laboratory Diagnosis of Leptospirosis. Charles C. Thomas. (1954): 99 pp.