



***CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA DE LEPTOSPIRA SPP COMO
CAUSANTES DE ENFERMEDAD ZONÓTICA EN ESTUDIANTES DE
MEDICINA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
AMBIENTALES Y APLICADAS (U.D.C.A) 2017***

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C.
2018**



CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA DE LEPTOSPIRA SPP COMO CAUSANTES DE ENFERMEDAD ZONÓTICA EN ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y APLICADAS (U.D.C.A).

BRANDON DAYAN RANGEL SEPULVEDA

Asesores:

Johanna Marcela Moscoso Gama
Bacterióloga y Laboratorista Clínica
Magíster en Ciencias Biológicas.

William Alberto Méndez Hurtado
Médico Veterinario.
Especialista en pequeñas especies.

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C.**

2018

DEDICATORIA

“Al Creador quien da el aliento de vida; a mi luchadora, consejera y soñadora madre por ser la musa de mi triunfo; a la hermosura canicie de mi sabia abuela, a los icónicos consejos de mi abuelo, a mis cuatro soportes mis amados hermanos quienes han sido una sombra madura que cuida de mí, a mi motor de voluntad, mis amados sobrinos. A mis adoradas tías, tíos y primos, quienes aportaron un grano de arena en la construcción de mi sueño. A los bellos sentimientos de la amistad y el amor, por último, a mí mismo por demostrarme que un pequeño puede llegar a ser grande, es hora de dejar que el universo llame al acantilado: sí la verdad te hará libre”

Brandon Dayan Rangel Sepulveda

AGRADECIMIENTOS

A mí asesora de tesis Johanna Moscoso, quien vio en mí un potencial como próximo colega e investigador y quien se convirtió en amiga y consejera.

A todos quienes hicieron parte de este proyecto, los estudiantes de medicina veterinaria de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. por permitir realizar esta investigación.

A la universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por permitirme en estos cinco años disfrutar de cada vivencia y formarme para llegar a reunir las competencias para ser excelente profesional e íntegro bacteriólogo. Al grupo de Investigación ECZA quien fomento el espíritu de investigación. Al cuerpo docente de la Universidad quienes han contribuido a nuestra excelente formación.

Al laboratorio Zoolab SAS, por abrirme sus puertas para el procesamiento de las muestras, por ofrecerme un apoyo y seguimiento a la investigación, también por ser una gran escuela en donde aprendí y conocí personas maravillosas.

A los amigos que la vida me regaló, Laura, César, Héctor, Leonardo y Andrés, quienes me han regalado las mayores alegrías y motivaciones para salir adelante.

A la hermosa amistad de Estefany, Fernanda, Cristian, Alejandro, Greisy, Sonia y Camila, por estar con su apoyo siempre.

A la paciencia de David Barón, quien siempre ha sido un gran apoyo en mi proceso.

Por último, a los congresos nacionales e internacionales, donde aceptaron y reconocieron mi trabajo realizado

CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA DE LEPTOSPIRA SPP COMO CAUSANTES DE ENFERMEDAD ZONÓTICA EN ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y APLICADAS (U.D.C.A) (2017)

RESUMEN EJECUTIVO

El término zoonosis comprende a las enfermedades infecciosas transmisibles en condiciones naturales, entre los animales vertebrados y el hombre, donde los animales son la parte esencial en el ciclo biológico del agente etiológico, que pueden ser priones, virus, bacterias, hongos y parásitos. Todas pueden ser de origen profesional, encontrándose mayor incidencia en actividades relacionadas con la agricultura, la manufactura de productos animales, la silvicultura, la ganadería y la clínica veterinaria.

Dentro de estas enfermedades se destaca la leptospirosis, la cual tiene una prevalencia muy alta en países tropicales y subtropicales y es una de las zoonosis más extendidas y potencialmente mortales en el mundo.

Aunque su distribución es mundial, y que esta enfermedad se ha presentado a lo largo de la historia de Colombia, la información con la que se cuenta es muy escasa y las estadísticas que se muestran son pocas, no se tienen datos sobre su prevalencia en estudiantes y profesionales de las ciencias de la salud animal y existe un desconocimiento considerable de su clínica, patología y métodos de diagnóstico por parte de los médicos veterinarios y demás personal vinculado al área de la salud.

Por todo lo anterior, se hace necesario realizar estudios que demuestren la prevalencia y los factores de riesgo asociados a esta enfermedad en poblaciones

como los estudiantes de medicina veterinaria, pues basado en nuestras hipótesis y conociendo sus actividades diarias al estar expuestos a reservorios de la enfermedad, se sugiere que ellos han entrado en contacto con una o varias especies del género *Leptospira spp.* De esta manera se puede establecer e implementar planes adecuados de prevención y control de las zoonosis.

El objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia de *Leptospira spp* y sus factores de riesgo asociados, en estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas U.D.C.A. A cada uno ellos se le aplicó una encuesta epidemiológica para determinar factores de riesgos para adquisición de esta enfermedad y se le recolectó una muestra de sangre en la que se determinó la presencia *Leptospira spp*, por medio de pruebas de confirmación aprobadas por la OMS como la Microaglutinación

Palabras Clave: *Leptospirosis, zoonosis, factor de riesgo, MAT, reservorio, serovar, Estudiantes de Medicina Veterinaria.*

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS.....	
LISTA DE TABLAS.....	
LISTA DE GRÁFICAS.....	
LISTA DE ANEXOS.....	
SIGLAS.....	
INTRODUCCIÓN	17
1 ANTECEDENTES	19
2 MARCO TEÓRICO	22
2.1 Leptospirosis	22
2.1.1 Características generales de <i>Leptospira spp.</i>	22
2.1.2 Taxonomía.....	27
2.1.3 RESERVORIOS	28
2.1.4 Epidemiología	30
2.1.5 Factores de Virulencia.....	32
2.1.6 Patogénesis	33
2.1.7 La respuesta inmune en el control de la infección	37
2.1.8 Manifestaciones clínicas	37
2.1.9 Complicaciones.....	40
2.1.10 Diagnóstico	41
2.1.11 Control y prevención.....	43
2.1.12 Tratamiento	44
2.2 Estado actual de la Leptospirosis	45
2.2.1 Contexto mundial	45

2.2.2	Contexto en Latinoamérica	46
2.2.3	Contexto en Colombia	46
3	OBJETIVOS.....	48
3.1	Objetivo general	48
3.2	Objetivos específicos.....	48
4	DISEÑO METODOLÓGICO.....	49
4.1	Tipo de investigación	49
4.2	Universo, población y muestra.....	49
4.2.1	Universo	49
4.2.2	Población.....	49
4.2.3	Muestra.....	49
4.3	Criterios de selección	50
4.3.1	Criterios de inclusión	50
4.3.2	Criterios de exclusión.....	50
4.4	Variables.....	51
4.5	Instrumentos	52
4.6	Técnicas y procedimientos	52
4.6.1	Identificación de anticuerpos por MAT:	53
5	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	59
5.1	Descripción de la población	59
5.2	Resultados obtenidos en la prueba MAT	67
5.2.1	Resultado positivo.....	69
5.2.2	RESULTADO NEGATIVO	69
5.3	Caracterización serológica de <i>Leptospira spp</i>	70
6	DISCUSIÓN	77

7	CONCLUSIONES.....	84
8	RECOMENDACIONES.....	85
9	REFERENCIAS	86

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estructura de la pared celular de *Leptospira spp.* Autoría de García Gonzales Rafael.....23
- Figura 2.** Observación de *Leptospira sp* por microscopia de campo oscuro. Autoría de García Gonzáles Rafael.....24
- Figura 3.** Impregnación argéntica de *Leptospira spp* mediante la técnica de Warthin-Starry. Autoría García Gonzales Rafael..... 24
- Figura 4.** Mecanismos de acciones tisulares de *Leptospira spp.* Autoría: Brandon Dayan Rangel, Adaptación de Helbert Acosta M.D..... 33
- Figura 5.** Patogenia. Factor en la tendencia hemorrágica en la leptospirosis. Autoría: Brandon Dayan Rangel. Adaptación de Helbert Acosta.....34
- Figura 6:** Aglutinación mayor o igual al 50%, fue tomado como un resultado positivo. Fotografía tomada por Brandon Dayan Rangel.....61
- Figura 7:** Aglutinación negativa o menor del 50%, fotografía tomada por Brandon Dayan Rangel.....62

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Serogrupos y serovares de <i>Leptospira interrogans</i> . Autoría Brandon Dayan Rangel.....	29
Tabla 2. Variables utilizadas para el estudio.....	50
Tabla 3. Serovares utilizados en la Técnica Mat, para la caracterización serológica.....	53
Tabla 4: Resumen metodología empleada en el estudio.....	57
Tabla 5: Descripción por edad de los estudiantes.....	59

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Distribución de los participantes de acorde a su sexo.....	58
Gráfica 2. Rango de edades de estudiantes de medicina veterinaria.....	60
Gráfica 3. Distribución de los estudiantes en los semestres.....	60
Gráfica 4: Distribución porcentual de aglutinación.....	63
Gráfica 5. Distribución porcentual de aglutinación en hombres y mujeres.....	64
Gráfica 6. Porcentaje de aglutinación a cada serovar.....	65
Gráfica 7. Número de aglutinaciones por serovar.....	66
Gráfica 8. Porcentaje de aglutinación por semestre.....	67
Gráfica 9. Número de aglutinaciones por semestre.....	67

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado.....	67
Anexo 2. Encuesta.....	69
Anexo 3. Fotografías.....	75

SIGLAS:

OMS: Organización mundial de la salud

OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal

INS: Instituto Nacional de Salud

MAT: Test de Microaglutinación

PBS: Buffer Fosfato Salino

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una de las zoonosis más extendidas en el mundo¹. En la última década los niveles de incidencia de esta enfermedad han aumentado. La leptospirosis es una enfermedad zoonótica causada por la *Leptospira*, una bacteria del orden de las espiroquetas ampliamente distribuida y genera grandes daños en la salud animal y humana. La población humana ha incrementado sus índices de contagio lo que la hace más vulnerable. La presencia de esta enfermedad no solo implica problemas a nivel epidemiológico sino también de tipo económico y social. En Colombia, esta zoonosis es diagnosticada en pocas ocasiones, debido a la falta de conocimiento de la enfermedad o ausencia de métodos diagnósticos².

La exposición a *leptospira* se atribuye tradicionalmente al ámbito ocupacional, siendo la población expuesta trabajadores de predios rurales, veterinarios, personas encargadas de remover tierra y limpieza de alcantarillas o de aguas negras. Sin embargo, y a pesar de que por su localización geográfica Colombia se encuentra en situación de riesgo, no existe información actualizada sobre la patogenia y epidemiología de esta zoonosis y se desconoce la prevalencia de la misma entre los profesionales de la medicina veterinaria².

En Colombia se han realizado investigaciones sobre la epidemiología de la leptospirosis en varias regiones del país, sin embargo, es poco el conocimiento que se tiene de prevalencia en estudiantes de Medicina veterinaria, además de la falta de conocimiento de la enfermedad, a todo ello se le suma el desconocimiento del personal médico asistencial sobre el comportamiento y las manifestaciones clínicas de la leptospirosis, además de una débil red de laboratorios que no cuenta con la capacidad y las pruebas diagnósticas confirmativas³

Por lo tanto, es de gran importancia realizar estudios que brinden información nueva y actualizada acerca de esta enfermedad con el fin de implementar programas de promoción de la salud y prevención de la enfermedad que permitan disminuir la incidencia y prevalencia de la misma en nuestra población.

1 ANTECEDENTES

La leptospirosis es conocida con diferentes nombres: enfermedad de Weil, enfermedad de los porqueros, fiebre de los arrozales, fiebre de los cañaverales, etcétera. Existen reportes que describen síndromes muy parecidos a este padecimiento en civilizaciones antiguas: se cuenta con vestigios de la antigua Mesopotamia, que mencionan signos patológicos sugerentes de leptospirosis; lo mismo se puede deducir de papiros recuperados del antiguo Egipto (2500 a.C.) y de evidencias que mencionan su existencia en la Grecia de Hipócrates y Galeno, y tiempo después durante las campañas bélicas de Napoleón⁴

En 1802, Lacereaux hizo la primera descripción clínica de un padecimiento muy parecido a leptospirosis y, en 1883, Landarouzi describió un caso típico con ictericia y hemorragias, al que llamó «tifus hepático». En 1886, casi al mismo tiempo, Mathieu en Francia y Adolf Weil en Alemania, describieron casos clínicos con cuadros agudos de fiebre, ictericia y daño renal severo; debido a la relevancia del trabajo de este último, en 1887 el padecimiento fue nombrado por Goldschmidt como «enfermedad de Weil»⁵

En 1907, Stimson pudo visualizar al microorganismo en un corte de riñón de un paciente muerto por fiebre amarilla y debido a su morfología, lo nombró *Spirochaeta interrogans*. En 1914, los japoneses Inada e Ido encontraron una espiroqueta en el hígado de cobayos infectados experimentalmente con sangre de mineros que presentaban fiebre severa, con eventos hemorrágicos, por lo que la denominaron *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*. En 1915, estos mismos autores lograron aislar y cultivar al agente causal.⁵ Entre 1917 y 1918, Noguchi propuso el género *Leptospira spp*, dando el nombre definitivo al agente causal de leptospirosis. Durante la Primera Guerra Mundial, en Europa hubo brotes de leptospirosis en soldados alemanes que combatían. En 1922 se reportó el primer caso de este padecimiento en Estados Unidos, y hasta 1946, ya se había

reportado la enfermedad en 46 países.⁴ En 1947, Wood aisló *Leptospira* en excretas de ratas grises en Estados Unidos⁴⁻⁶

El primer registro de leptospirosis humana severa fue reportado en 1966⁷, y la primera epidemia urbana de leptospirosis severa ocurrió en Barranquilla (Colombia) en 1995, durante un período de inundación; cuatro muertes fueron reportadas y se presentó una epidemia con un total de 47 casos confirmados (17% de letalidad en este grupo), 284 casos sospechosos, y el aislamiento de los serotipos *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona* y *Canícola* de *Leptospira interrogans*⁶. por la técnica de MAT, siendo *Icterohaemorrhagiae* el serogrupo más relevante en la epidemia ⁸⁻⁹

Estudios de seroprevalencia han sido realizados con la técnica de MAT en sujetos sanos de diferentes áreas de Colombia, con seroprevalencias entre 12.0 % en Urabá (Antioquia)¹⁰ hasta 23.3 % en Cali¹¹

La caracterización clínica de la leptospirosis humana en Colombia ha sido realizada en pocos estudios; los datos de vigilancia rutinaria están disponibles apenas desde 2010. El número de casos de leptospirosis registrados en la vigilancia rutinaria del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila) aparece desde 2010¹². Los entes territoriales con mayor número de casos preliminares reportados son Antioquia y Barranquilla para 2010; Valle y Antioquia para 2011 y Antioquia y Cesar para 2012 a la semana 38¹²⁻¹³⁻¹⁴.

En un estudio realizado en el departamento del Atlántico (1999-2004), la prevalencia en humanos fue del 9,7 %, y los síntomas más frecuentes fueron fiebre, mialgias, cefalea e ictericia; el 8,6 % de estos casos presentaron síndrome de Weil, pero no se registraron muertes; la mayoría de los casos se presentaron en hombres; el serogrupo presuntivo predominante fue el *Icterohaemorrhagiae*¹⁵.

En un segundo estudio realizado en Barranquilla (2007- 2009), la infección fue confirmada en un 12.5 %, la mayoría de los casos sin ictericia (87.5 %), y los síntomas más frecuentes fueron fiebre, cefalea, dolor ocular y náusea/vómito. El 6.3 % desarrolló daño hepático y un caso probable murió con síndrome de Weil. Los serogrupos presuntivos másfrecuentes fueron Australis, Sarmin, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi¹⁶

En Colombia, la leptospirosis ha sido estudiada principalmente desde la salud animal, siendo una enfermedad prevalente en ganado vacuno y porcino¹⁷. Pero también se han realizado estudios de prevalencia en humanos expuestos a factores de riesgo en sus respectivas ocupaciones, encontrándose anticuerpos anti-leptospira entre el 13.1% y el 22.4% de las personas evaluadas. Se detectó que la transmisión de leptospirosis no solo ocurre a nivel rural sino también en el entorno urbano, lo cual ha sido reportado en países como: Brasil, Perú, Cuba, Nicaragua, México y Estados Unidos. Algunos brotes epidémicos en Colombia se han reportado en Barranquilla, Buenaventura y Lérica⁵

En el 2012, Pedraza adelantó una investigación para determinar la seroprevalencia de Leptospirosis en trabajadores de las plantas de beneficio bovino de los municipios de Sogamoso, Chiquinquirá, Paipa, Aquitania y Tuta en el departamento de Boyacá. Para tal efecto se tomaron muestras la totalidad de los operarios de los mataderos, los cuales fueron analizados mediante la prueba de MAT, obteniendo una seroprevalencia del 35%⁵

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Leptospirosis

La leptospirosis es una zoonosis causada por una espiroqueta del genero *Leptospira*, de amplia distribución mundial¹. En muchas regiones se presentan brotes en áreas endémicas o epidemias urbanas¹⁸. Se ha considerado en años recientes una enfermedad reemergente en varios países, incluidos los desarrollados. Sin embargo, en el trópico se reportan los mayores casos, posiblemente por las condiciones ambientales y la compleja dinámica de crecimiento de las poblaciones urbanas asociada con la mala disposición de basuras y aumento de roedores¹⁸⁻¹⁹. La presentación clínica en humanos es similar al dengue, fiebre amarilla, malaria, influenza y muchas otras enfermedades tropicales. Los síntomas son fiebre, dolor de cabeza y mialgias, lo que hace difícil el diagnóstico y la orientación de un tratamiento oportuno²⁰⁻²¹.

2.1.1 Características generales de *Leptospira spp.*

Las leptospiros pertenecen al orden Spirochaetales, familia Leptospiraceae y género *Leptospira*, que comprende dos especies fenotípicas: *Leptospira biflexa*, no patógena, de vida libre, saprófita y se encuentra en ambientes húmedos y aguas superficiales, y *L. interrogans*, a la que pertenecen las leptospiros patógenas causantes de la leptospirosis y que, de acuerdo con sus características serológicas, se clasifican en serogrupos constituidos por serovares²².

Las leptospiros son microorganismos helicoidales, enrolladas estrechamente, delgadas, flexibles de 5-60 μm de longitud por 0.1-0.5 μm de diámetro,

constituidas por un cuerpo citoplasmático y un axostilo que se dispone en forma de espiral con una membrana envolvente que recubre ambas estructuras. Esta membrana externa multiestratificada es rica en lípidos (20%); la bacteria presenta además peptidoglicano y, en algunos casos, ácido α , ϵ -diaminopilémico. La membrana externa contiene lipopolisacáridos (LPS) altamente inmunogénicos, responsables de la especificidad de los serovares, varias lipoproteínas (LipL32, LipL41), porinas (OmpL1, Omp85) que son altamente conservadas, constituyen el sitio de interacción con el hospedero y al parecer participan en la patogénesis de la nefritis intersticial y en la respuesta inmune innata²³. En la membrana interna, recubierta por el peptidoglicano, se encuentran lipoproteínas Sec, SPasa I y II, LolCDE y el cuerpo basal del endoflagelo, un sistema de secreción tipo II que enlaza ambas membranas²⁴.

El axostilo consiste en dos filamentos axiales que se insertan en extremos opuestos del cuerpo citoplasmático, por medio de botones terminales y extremos libres que se extienden hacia la mitad de la célula sin llegar a cruzarse. Este organelo es el encargado de la motilidad de la *Leptospira* y le confiere un movimiento activo de rotación. Dependiendo de la longitud, la bacteria tiene un promedio de 18 a 20 hélices por célula y la conformación es dextrógira (en dirección de las manecillas de un reloj).

Las leptospiras se observan fácilmente con apoyo de microscopia de campo oscuro, teñidas con técnicas de inmunodetección e impregnación argéntica y se colorean débilmente con colorantes de anilina (figuras 2 y 3). No se visualizan con microscopio de campo brillante y tinciones habituales. Con microscopia de campo oscuro, en fresco, puede observarse que una o ambas extremidades terminan en gancho²³⁻²⁴.

Este microorganismo es sensible a la desecación, al calor, al frío excesivo y a las variaciones de pH; no toleran el medio ácido debido a que pierden su motilidad aproximadamente en 15 minutos. El pH óptimo para su multiplicación es de 7.2 a 7.4. No sobreviven en agua salada, pero pueden permanecer hasta 180 días en

agua dulce, tres semanas en aguas estancadas y hasta cerca de un año en soluciones viscosas, como lodos con bajo contenido de materia orgánica²⁵.

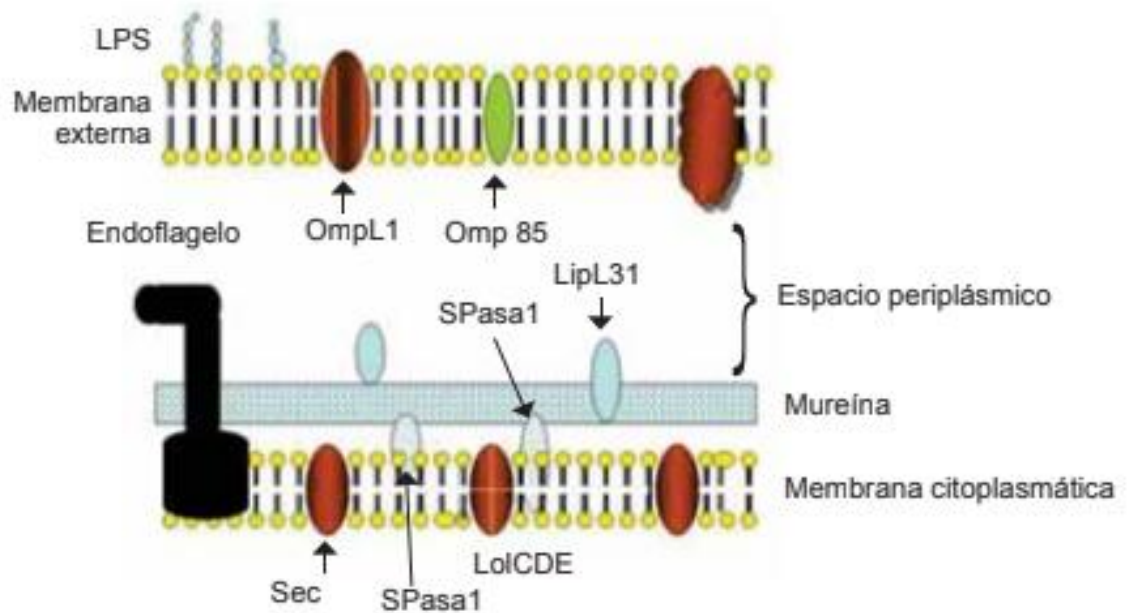


Figura 1: Estructura de la pared celular de *Leptospira* spp

García González Rafael, Reyes Torres Angélica. Leptospirosis: Un problema de Salud Pública.

[Internet] [Citado el 27 de enero de 2018] disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/publicaciones.cgi?IDREVISTA=29&NOMBRE=Revista%20Mexicana%20de%20Patolog%20EDa%20CI%20EDnica>

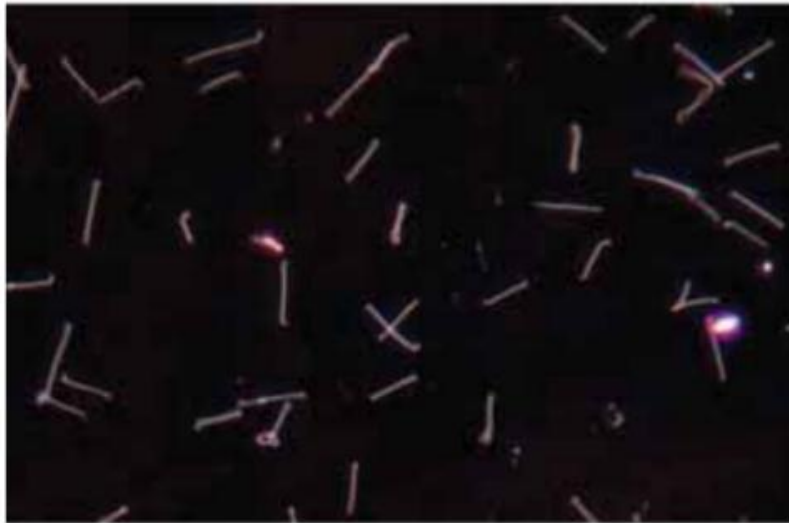


Figura 2: Observación de *Leptospira sp* por microscopía de campo oscuro.

García González Rafael, Reyes Torres Angélica. Leptospirosis: Un problema de Salud Pública. [Internet] [Citado el 27 de enero de 2018] disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/publicaciones.cgi?IDREVISTA=29&NOMBRE=Revista%20Mexicana%20de%20Patolog%EDa%20CI%EDnica>



Figura 3: Impregnación argéntica de *Leptospira spp* mediante la técnica de

Warthin-Starry. García González Rafael, Reyes Torres Angélica. Leptospirosis: Un problema de Salud Pública. [Internet] [Citado el 27 de enero de 2018] disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/publicaciones.cgi?IDREVISTA=29&NOMBRE=Revista%20Mexicana%20de%20Patolog%EDa%20CI%EDnic>

En suelo húmedo sobreviven por largo tiempo, mientras que en suelo seco la supervivencia es corta. En la leche no sobreviven, salvo si está diluida en agua a razón de 1:20 o más. Mueren a los 10 segundos cuando son calentadas a 100°C y a los 10 minutos a una temperatura de 56 °C. En el frío puede sobrevivir hasta 100 días a –20 °C.

La orina ácida es letal para las leptospiras, por eso, es necesario alcalinizarla si se pretende aislarla de la orina de un enfermo.¹⁷ Conservan su viabilidad varios días en vísceras y carnes refrigeradas y son sensibles a los antisépticos^{4,26,27}.

Son microorganismos aerobios estrictos y fácilmente cultivables en medios artificiales, enriquecidos y adicionados con ácidos grasos de cadena larga. Los medios de Fletcher, Kortoff, Schüffne y EMJH son los más empleados. La base de esos medios está constituida por suero de conejo diluido o seroalbúmina, agar, peptona, caldos simples y sales. Utilizan ácidos grasos o alcoholes como fuente de carbono y energía y no utilizan aminoácidos o carbohidratos como fuente de energía. El recurso principal para la obtención de nitrógeno son las sales de amonio. La membrana corioalantoidea de huevos embrionados de gallina puede también ser utilizada para el cultivo de *Leptospira*²⁸.

En los cultivos crecen mejor en aerobiosis a 30 °C , pH 6.8 a 7.8 en 10 a 14 días y en medios sólidos se desarrollan colonias redondas de 1-3 mm de diámetro en 6-10 días. Las leptospiras crecen en varias líneas celulares cultivadas in vitro, principalmente fibroblastos, en donde se puede apreciar efecto citopático^{4,28}.

Las cepas patógenas tienen un tiempo de generación de cerca de 20 horas, mientras que en las saprofitas es de alrededor de cinco horas. Las leptospiras poseen oxidasa, catalasa y peroxidasa; entre especies no pueden distinguirse por sus características bioquímicas.⁴ Sin embargo, *L. interrogans* no crece en presen-

cia de 225 µg/mL de azoguanina, propiedad que permite diferenciarla de *L. biflexa*. Son susceptibles a la acción de la mayoría de antibióticos, incluyendo penicilina, así como a la de los antisépticos y desinfectantes de uso común²⁹.

2.1.2 Taxonomía

Los miembros del género *Leptospira* son serológicamente heterólogos. El taxón básico es el serovar (serotipo), que se define «sobre la base de similitudes y diferencias antigénicas como las reveladas en la llamada prueba de absorción de aglutinación cruzada» (cross agglutination absorption test). Cada serovar tiene una conformación antigénica característica proporcionada por antígenos superficiales localizados en la membrana externa que facilitan su clasificación. Los anticuerpos generados frente a los lipopolisacáridos de la pared celular son determinantes del serovar y tiene carácter protector, mientras que los formados frente a los antígenos profundos no son protectores ni específicos (antígenos de campo comunes a todo el género *Leptospira*)^{30,31}.

L. interrogans se subdivide, según su composición antigénica, en más de 200 serovares que, por las reacciones antigénicas cruzadas entre ellos, se reúnen en 23 serogrupos y *L. biflexa* se subdivide en 60 serovares².

Las leptospiras saprófitas o acuáticas que se encuentran principalmente en agua dulce superficial y menos frecuente en agua salada, se asocian raramente con infecciones de mamíferos.²⁴.

Alrededor de 22 serovares de *L. interrogans* causan enfermedad humana y los más comunes son Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona y Autumnalis. Desde el punto de vista histórico, algunos serovares han sido asociados con cuadros clínicos específicos (Icterohaemorrhagiae, enfermedad de Weil; Pomona, enfermedad de Swineher; Autumnalis, fiebre de Fort Bragg y erupciones

pretibiales), pero ahora se acepta que las diversas enfermedades no son específicas de serovar.

En la actualidad, tomando como base los estudios de ADN, la clasificación fenotípica está siendo reemplazada por la clasificación genética sin que exista ninguna relación o correspondencia entre ambas clasificaciones. Debido a lo anterior, existen especies genómicas o genomoespecies que incluyen serovares patógenos y no patógenos, y algunos serovares pueden pertenecer a más de una especie genómica. La clasificación constituida por genomoespecies, de acuerdo con la Reunión del Subcomité de Taxonomía de *Leptospira* en el 2007, comprende 13 especies patógenas: *L. interrogans*, *L. alexanderi*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. krischneri*, *L. wolffi*, *L. borgpetersenii*, *L. weilii*, *L. noguchii*, *L. licerasiae*, *L. santarosai*, *L. alstonii*, *L. terpstrae* y seis especies saprófitas: *L. biflexa*, *L. ketyi*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. wolbachi* y *L. vanthielii*³².

2.1.3 RESERVORIOS

Los reservorios naturales primarios para la mayoría de las serovariedades de *Leptospira* son los mamíferos silvestres, en especial los roedores. Los reservorios naturales entre los animales domésticos incluyen el ganado bovino, los cerdos, las ovejas y los perros. Los reservorios naturales específicos varían con la serovariedad y la región geográfica. Es más probable que la enfermedad en los reservorios naturales sea asintomática, leve o crónica. Los reservorios naturales incluyen³²:

- **Ratas:** serogrupos icterohaemorrhagiae y ballum
- **Ratones:** serogrupo ballum
- **Ganado bovino:** serovariedades hardjo, grippotyphosa y pomona
- **Ovejas:** serovariedades hardjo y Pomona
- **Cerdos:** serovariedades pomona, tarassovi y bratislava

• **Perros:** serovariedades canicola y bataviae

SEROGRUPO	SEROVAR
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae, copenhagen, lai, zimbabwe.</i>
<i>Hebdomadis</i>	<i>hebdomadis, jules, kremastos</i>
<i>Pyrogenes</i>	<i>Pyrogenes</i>
<i>Batavia</i>	<i>Batavia</i>
<i>Grippotyphosa</i>	<i>grippotyphosa, canalzonae, ratnapura</i>
<i>Canicola</i>	<i>Canicola</i>
<i>Australis</i>	<i>Australis</i>
<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>
<i>Javanica</i>	<i>Javanica</i>
<i>Serjoe</i>	<i>serjroe, saxkoebing, hardjo</i>
<i>Panama</i>	<i>panama, mangus</i>
<i>Cynopteri</i>	<i>Cynoptery</i>
<i>Djasiman</i>	<i>Djasiman</i>
<i>Sarmin</i>	<i>Sarmin</i>
<i>Mini</i>	<i>mini, Georgia</i>
<i>Tarassovi</i>	<i>Tarassovi</i>
<i>Ballum</i>	<i>Ballum, arobor</i>
<i>Louisiana</i>	<i>Louisiana, lank</i>
<i>Ranarum</i>	<i>Ranarum</i>

<i>Manhao</i>	<i>Manhao</i>
<i>Shermani</i>	<i>Shermani</i>
<i>Hurstbridge</i>	<i>Hurstbridge</i>

TABLA 1. Serogrupos y serovares de *Leptospira interrogans*. García González Rafael, Reyes Torres Angélica. Leptospirosis: Un problema de Salud Pública. [Internet] [Citado el 27 de enero de 2018] disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/publicaciones.cgi?IDREVISTA=29&NOMBRE=Revista%20Mexicana%20de%20Patolog%EDa%20CI%EDnica>

2.1.4 Epidemiología

La leptospirosis es considerada una enfermedad tanto endémica como epidémica y reemergente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado una tasa de incidencia de 4-100 casos por 100,000 habitantes en los países tropicales y subtropicales, con tasa de letalidad que va de 5 a 30%.³⁰ Constituye un problema de salud pública en aumento como lo demuestra el incremento de brotes a nivel mundial. La incidencia anual de casos graves es de aproximadamente medio millón de humanos, cifra que la pone por encima del dengue hemorrágico y la hantaviriosis severa^{33, 34}

A pesar de su importancia, existe una gran subnotificación debido a que pocas veces se piensa en ella, en especial cuando se presenta la forma anictérica de la enfermedad. Su incidencia es dependiente de riesgo laboral, recreación, condiciones ambientales: clima templado, tropical y subtropical, el tipo de suelo y pH neutro o alcalino, así como de la presencia de agua contaminada por desechos procedentes de animales tanto domésticos como silvestres que presentan leptospirosis prolongada (verdaderos reservorios de la infección), que permita mantener viable a las bacterias. Es considerada una enfermedad rural y urbana, con predominio de la primera. La leptospirosis tiene gran impacto en la

economía, ya que además de ser una enfermedad ocupacional que afecta a individuos en edad productiva, generando pérdidas por incapacidad y por costos de tratamiento, también es una patología que ataca a los animales domésticos y de granja, lo que genera grandes pérdidas en el comercio de animales por ser causa de múltiples abortos y por afectar la calidad de sus productos (carne, semen y leche)³³.

Los reservorios o huéspedes de mantenimiento de las leptospiras son aquellas especies animales infectadas crónicamente en los túbulos renales proximales, a las cuales les causan poco o ningún daño. Las ratas han sido identificadas como huéspedes de mantenimiento de las serovariedades *Icterohaemorrhagiae* y *Copenhageni*; ratones de *Arborea*, *Ballum* y *Bin*; ganado vacuno de *Pomona*, *Hardjo* y *Grippotyphosa*; cerdos de *Pomona*, *Tarassovi* y *Bratislava*; perros de *Canicola* y marsupiales de *Grippothyphosa*.^{35,36}

La identificación de huéspedes de mantenimiento y su asociación con las especies animales cobra importancia al estudiar la epidemiología de la transmisión de la *Leptospira spp.* en una localidad, con el fin de direccionar las medidas de control. Animales que actúan como huéspedes de mantenimiento de unas serovariedades pueden ser huéspedes accidentales de otras y sufrir la enfermedad. El humano es un huésped accidental y no se han reportado casos de infección de persona a persona; sin embargo, una excreción de la *Leptospira spp.* hasta seis semanas después de haberse recuperado de la infección fue reportada recientemente³⁷.

En Colombia, la leptospirosis ha sido estudiada principalmente desde la salud animal, siendo una enfermedad prevalente en ganado vacuno y porcino. Pero también se han realizado estudios de prevalencia en humanos expuestos a factores de riesgo en sus respectivas ocupaciones, encontrándose anticuerpos anti-leptospira entre el 13.1% y el 22.4% de las personas evaluadas. Se detectó que la transmisión de leptospirosis no solo ocurre a nivel rural sino también en el entorno urbano, lo cual ha sido reportado en países como: Brasil, Perú, Cuba, Nicaragua, México y Estados Unidos. Algunos brotes epidémicos en Colombia se han reportado en Barranquilla, Buenaventura y Léri

2.1.5 Factores de Virulencia

La parte fundamental en el ciclo de vida de *Leptospira* es su capacidad para mantenerse en los túbulos renales de los animales que participan como reservorios³⁹. Para ello, se requiere de factores que intervienen en la motilidad y quimiotaxis bacteriana con el fin de que el patógeno alcance el blanco durante la infección. En *L. interrogans*, *Copenhagen* y *Lai* se han determinado la existencia de 79 genes asociados a la motilidad. De éstos, existen 42 genes que son comunes a *Treponema pallidum* y *Borrelia burgdorferi*.

Leptospira es capaz de realizar la invasión del hospedero haciendo uso de un proceso de translocación en el que participan enzimas degradadoras de las membranas celulares: esfingomielinasa tipo C (serovares; *Ballum*, *Hardjo*, *Pomona* y *Tarassovi*), fosfolipasa D y hemolisina (tlyABC), las cuales son transportadas a la superficie bacteriana a través de sistemas de secreción I y II. Aunado a lo anterior, la bacteria genera un grupo de proteasas que degradan la matriz extracelular de los tejidos: colagenasa, metaloproteasa y varias termolisinas. Además de los sistemas de secreción mencionados, *Leptospira* presenta numerosos transportadores ABC y proteínas de fusión^{40,41}.

En la colonización, la bacteria produce dos familias de adhesinas no fimbriales. La primera tiene tres genes: ligA, ligB y ligC, que codifican para proteínas BIG (bacterial immunoglobulin-like), involucradas en la interacción hospedero-patógeno. La segunda familia consiste en tres integrinas (alfa proteínas), cada una con siete secuencias repetidas las que al parecer participan en las interacciones con el ligando^{40, 41}.

El primer factor genético de virulencia reportado fue el gen de la lipoproteína de superficie Loa22, altamente conservado en las leptospiros patógenas y expresado

en la fase aguda de la enfermedad. La pérdida de la expresión de este gen en una cepa mutante de *L. interrogans* resultó en la atenuación de su virulencia en cobayos y hamsters⁴². Además, genes que codifican proteínas de membrana parecidas a la endostatina humana (proteínas de la familia Len) se unen a la laminina, fibrinógeno y fibronectina ⁴³ y el gen lipL32, que codifica la lipoproteína, que fue considerada de superficie pero que se ha demostrado está ubicada en la subsuperficie⁴⁴ LipL32<; esta lipoproteína está altamente conservada en leptospiras patógenas, se une al colágeno I, IV, V, laminina y a la fibronectina dependiente de calcio⁴⁵.

En *Leptospira* se han encontrado genes involucrados en la biosíntesis de polisacárido capsular; sin embargo, no existen evidencias experimentales en la producción de cápsula, pero se supone que una sustancia parecida a un biofilm le permite colonizar densamente a los túbulos renales. Las cepas aisladas del riñón de ratas con infección crónica contienen abundante lipopolisacáridos (LPS), a diferencia de las aisladas de hígado de hámster, lo que hace pensar en la participación del antígeno O del LPS en la inducción del estado de portador. Se ha referido que la actividad de la endotoxina (lípidos A) en estos microorganismos tiene menor potencia comparada con la que se exhibe en las bacterias Gram negativas.⁴⁶

2.1.6 Patogénesis

Las leptospiras penetran en los hospederos a través de abrasiones de la piel, por mucosas de nasofaringe y esófago o por los ojos e inmediatamente generan una infección sistémica, debido a su paso a través de los tejidos (posiblemente entre las uniones intracelulares) y por vía hemática. Experimentalmente, se ha observado la penetración intracelular de *Leptospira* por translocación de monocapas celulares polarizadas, sin alterar la carga eléctrica transepitelial⁴⁷.

Este microorganismo no es una bacteria intracelular facultativa; al parecer, esta observación in vitro dentro de las células (compartimentos citoplasmático y

fagosomal), sólo es transitoria en células que no son fagocitos profesionales. Se piensa que este hecho lo usa la bacteria como forma de diseminación hacia el órgano blanco y para evadir la respuesta inmune⁴⁷. La lipoproteína Lip46 se encuentra relacionada con la diseminación de *Leptospira*. La infección causa una leptospiremia prolongada que alcanza diferentes órganos: hígado, riñón, corazón, músculo esquelético e inclusive sistema nervioso central y humor acuoso, que finaliza cuando el hospedero monta una respuesta inmune efectiva que generalmente ocurre entre una a dos semanas después de la exposición^{1, 7, 48}. Sin embargo, la enfermedad puede recurrir después de tres a cuatro días, produciendo una enfermedad bifásica. La mayoría de los procesos infecciosos por *Leptospira* cursan en forma asintomática o con manifestaciones clínicas inespecíficas y autolimitadas en un plazo de cuatro a siete días. La enfermedad de Weil representa la forma severa de la leptospirosis, caracterizada por la presencia de fiebre elevada, ictericia, sangrado, disfunción renal y pulmonar, alteraciones neurológicas y colapso cardiovascular, con curso clínico variable.

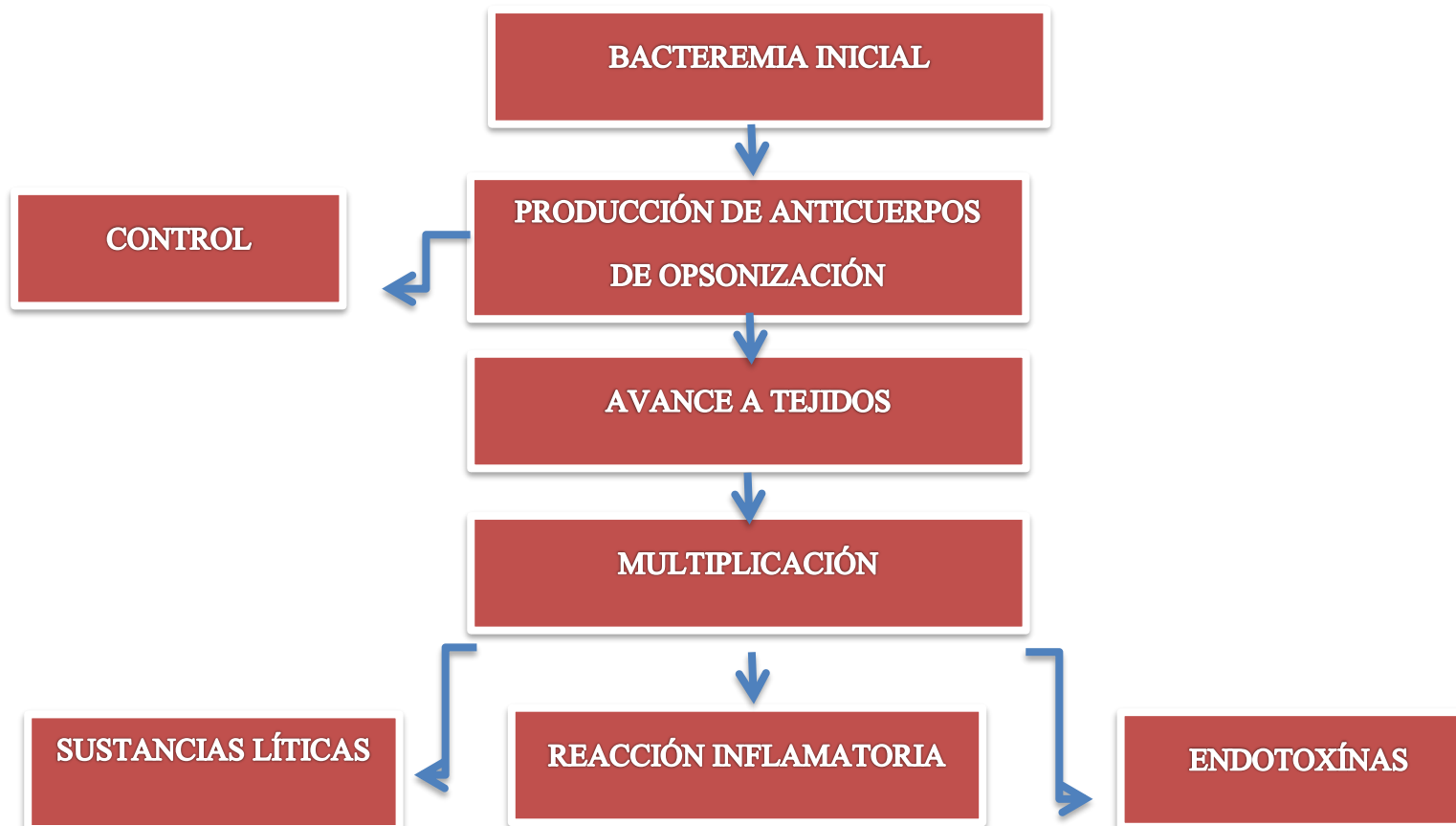


FIGURA 4: Mecanismos de acciones tisulares de *Leptospira spp.* Autoria: Brandon Dayan Rangel, Adaptación de Helbert Acosta M.D

Los hallazgos histopatológicos en los animales de laboratorio y en los seres humanos son lesiones muy similares a las del choque endotóxico²¹⁻²³. Sin embargo, en el hombre no se ha demostrado claramente la posible participación de endotoxinas en esta enfermedad. Areal et al.²³ postularon como causas del cuadro el daño producido por la lisis del microorganismo más que su misma presencia, pero la naturaleza de estos agentes y sus efectos tóxicos todavía no se comprenden bien.

La lesión histopatológica básica en la leptospirosis es una vasculitis con compromiso multisistémico, donde el riñón y el hígado son los órganos que sufren con más frecuencia. En los casos severos (síndrome de Weil) se encuentra hemorragia generalizada que compromete principalmente músculos esqueléticos, riñón, glándulas suprarrenales, pulmones, piel, tubo digestivo y bazo²⁵⁻²⁸. Entre los factores que explican la tendencia hemorrágica están la misma vasculitis, la trombocitopenia y la hipotrombinemia.

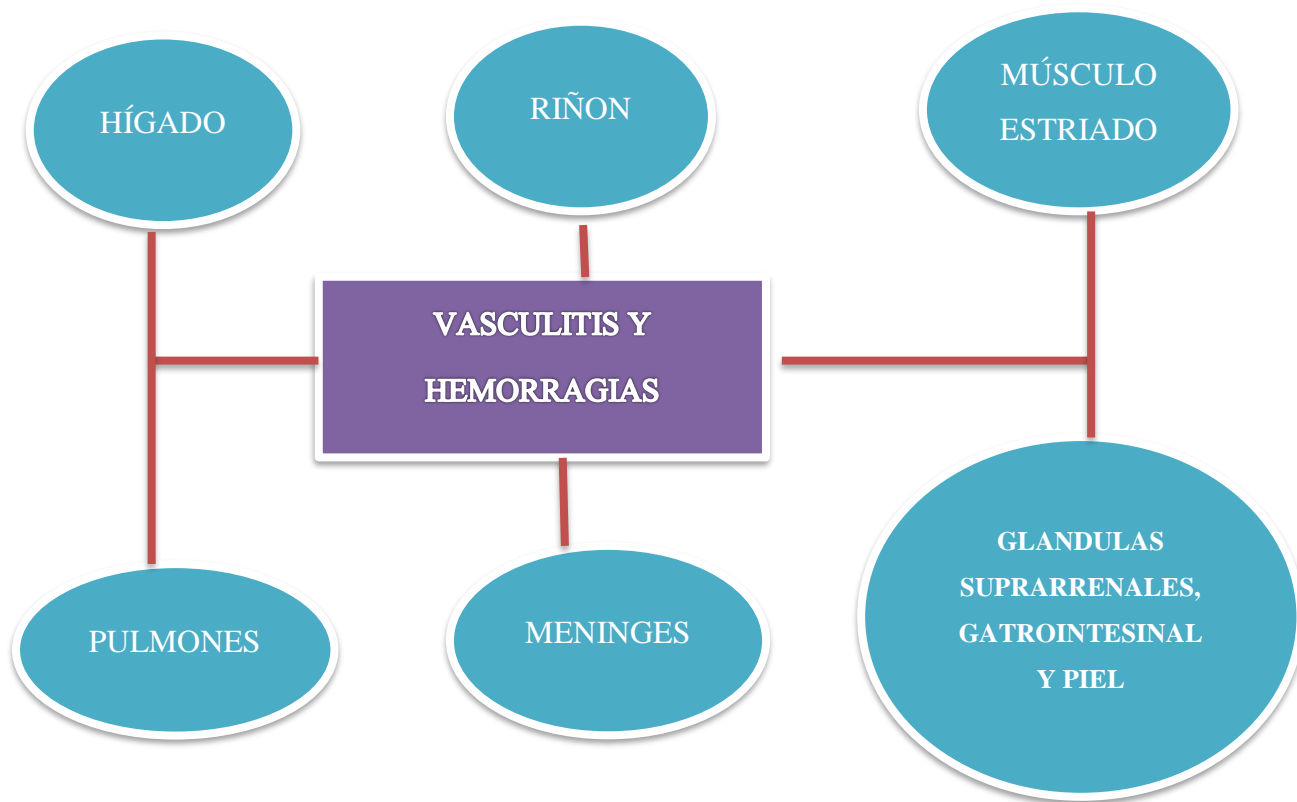


FIGURA 5: Patogenia. Factor en la tendencia hemorrágica en la leptospirosis. Autoría: Brandon Dayan Rangel. Adaptación de Helbert Acosta.

A. HIGADO

Se debe sobre todo a una disfunción hepatocelular usualmente sin necrosis o con ataque estructural leve. Los cambios microscópicos no son diagnósticos y se correlacionan poco con el grado de compromiso funcional. Estos cambios incluyen: edema de hepatocitos, disrupción de cordones hepáticos, agrandamiento de las células de Kupffer y estasis biliar canalicular lo que explica en buena parte la ictericia en algunos pacientes. Las espiroquetas se pueden encontrar en el hígado en 25% a 30% de los casos⁴⁹.

B. RIÑÓN

La falla renal es principalmente consecuencias de lesiones tubulares. Este daño parece que se origina en isquemia renal por hipovolemia e hipotensión por pérdida del volumen intravascular, debido a compromiso endotelial o por algún efecto tóxico directo de la leptospira³²⁻³⁴. La leptospira se visualiza con frecuencia en el lumen de los túbulos²⁴. En los casos graves hay edema intersticial e infiltrado celular de linfocitos, neutrófilos, histiocitos y células plasmáticas. Las lesiones glomerulares son raras o consisten en hiperplasia mesangial que se asocia con complejos inmunes circulantes y depósitos de componentes del complemento en el glomérulo⁵⁰.

C. MÚSCULO

Los músculos voluntarios, y en especial los de los miembros inferiores, presentan lesiones características que consisten en necrosis de fibras, vacuolización, hialinización e infiltrado inflamatorio⁵¹.

D. MENINGES

La infección por *Leptospira* se ha culpado en la etiología de la meningitis aséptica. Durante los primeros días se puede encontrar la leptospira en el LCR pero los

signos meníngeos están ausentes, y se presentan en la segunda fase de la enfermedad cuando se han producido anticuerpos lo que significa irritación meníngea inmunológica^{21,22}. El LCR muestra una pleocitosis moderada de 50-200 células/ml y por rareza cifras más altas. Al principio puede haber predominio de segmentados, pero rápidamente pasa a células mononucleares. Las proteínas por lo general son menores de 120 mg/dl. La glucosa es normal pero puede estar disminuida

2.1.7 La respuesta inmune en el control de la infección

La participación de la respuesta inmune frente a la presencia de *Leptospira* es de tipo humoral y se encuentra dirigida al serovar infectante; de ahí que la participación de anticuerpos específicos facilita la fagocitosis de la bacteria. Fenómeno que se pone en evidencia durante la segunda fase de la leptospirosis o también llamada inmune, durante la cual se produce la desaparición de *Leptospira* de circulación⁴⁸. Sin embargo, la formación de complejos inmunes agrava el padecimiento, ya que éstos llevan a un proceso inflamatorio, como se ha referido que ocurre en el sistema nervioso central. Existen datos que apoyan evidencias de reacción cruzada de anticuerpos contra el tejido ocular, antiplaquetarios, anticardiolipina. Se ha descrito la participación del LPS de esta bacteria en la apoptosis de linfocitos vía inducción del factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α), este último se registra elevado en pacientes con leptospirosis¹⁹.

La respuesta inmune celular en el paciente se encuentra suprimida, con reducción de linfocitos CD4⁺.⁵²

2.1.8 Manifestaciones clínicas

La leptospirosis tiene un periodo de incubación de siete a 14 días, con un rango que va de dos a 30 días. Se caracteriza por presentar un amplio espectro de

manifestaciones clínicas. Durante la fase aguda, la enfermedad puede ser asintomática o subclínica y sintomática anictérica o ictérica⁵³

a. Forma anictérica:

Las manifestaciones clínicas varían desde leves hasta graves e incluso mortales, como es el caso de la leptospirosis hemorrágica pulmonar. Se calcula que 90% de los casos sintomáticos sufren de esta variante con o sin meningitis asociada. Puede presentarse como un proceso gripal con febrícula o fiebre, cefalea intensa, escalofríos, mialgias (especialmente en las pantorrillas y abdomen), náusea y vómito. También se presenta como una enfermedad discreta, de corta duración, caracterizada por ser bifásica, ya que cuenta con una fase febril o leptospirémica y una fase inmune o leptospiúrica.

La primera fase se caracteriza por la presencia de fiebre elevada (> 38 °C) de carácter remitente, con duración de hasta tres semanas, escalofríos, mialgias (regiones paravertebrales, caderas, pantorrillas y abdomen), cefalea que puede ser frontal o dolor retroauricular, conjuntivitis, hemorragia conjuntival. Anorexia, náuseas y vómito que generalmente se presentan en la mitad de los pacientes, constipación o diarrea. La gravedad de las manifestaciones clínicas se evidencia por la presencia de melena o enterorragia. La hepatomegalia y esplenomegalia pueden ocurrir, aunque es raro. En esta fase se encuentra a *Leptospira* en líquido cefalorraquídeo (LCR) y sangre. El paciente puede curar después de uno a tres días de estar afebril con aparente recuperación; evoluciona a la segunda fase (inmune), reapareciendo la fiebre y síntomas localizados en diferentes órganos. En las formas anictéricas, la principal manifestación es la meningitis, caracterizada por cefalea intensa y persistente, vómitos y signos de irritación meníngea. Existen manifestaciones hemorrágicas en diferentes localizaciones. En las formas graves, el distrés respiratorio y la hemoptisis pueden causar la muerte. En esta fase las manifestaciones clínicas desaparecen de una a tres semanas. En general, tanto los individuos asintomáticos como los sintomáticos leves no son diagnosticados y sólo son

detectados durante los estudios epidemiológicos, en los brotes o estudios de caso²².

b. Forma ictérica

Se presenta en 5 a 10% de los casos. La forma hepatonefrótica o síndrome de Weil es la forma más grave con disfunción hepática y renal, alteraciones hemorrágicas, hemodinámicas, cardíacas y pulmonares, con letalidad de 5 a 20%. El curso clínico rara vez es bifásico, más bien es continuo, con signos y síntomas semejantes a la forma anictérica, pero más intensos. La ictericia se presenta entre el tercero y séptimo día de la enfermedad, siendo progresiva, con dolor a la palpación en hipocondrio derecho y hepatomegalia leve o moderada en 70% de los casos, con incremento de las transaminasas hasta cinco veces por arriba del valor normal; la muerte rara vez ocurre por insuficiencia hepática. En pacientes graves se puede presentar tos, disnea y hemoptisis. El compromiso renal es variable, pudiendo presentar sólo albuminuria y hematuria, así como insuficiencia renal grave con oliguria progresiva, deshidratación hasta llegar a anuria. Ante el fracaso renal, la azoemia alcanza su máximo entre el quinto y séptimo día, acompañándose de náuseas, vómito y obnubilación progresiva y finalmente coma. Entre otras causas de muerte se encuentran arritmia, falla cardíaca, hemorragia adrenal, sangrado masivo del aparato digestivo y tracto respiratorio. En casos no severos, la recuperación tiene lugar en la segunda semana, aunque algunas manifestaciones clínicas se prolongan más tiempo.

c. Leptospirosis crónica

Se considera que la recuperación de la fase aguda puede durar meses o años y quedar con secuelas a largo plazo, las cuales incluyen fatiga crónica y otros síntomas neuropsiquiátricos como cefalea, paresias, parálisis, cambios de

carácter, síndrome obsesivo-compulsivo, depresión, encefalitis parainfecciosa, afectación hepatobiliar, urinaria, cardiovascular y complicaciones oculares como la uveítis e iridociclitis que son la presentación tardía de la enfermedad atribuida a la persistencia de las Leptospiras en los ojos, en donde están protegidas de la respuesta inmune del huésped. Sin embargo, algunos autores han seguido la evolución de estos pacientes y han logrado el aislamiento de la bacteria meses o años después de la presentación de la fase aguda, lo que comprueba la existencia de la fase persistente o crónica⁵⁴⁻⁵⁷.

La leptospirosis crónica se define como un síndrome multiorgánico, clínicamente polimórfico, manifestado comúnmente por fatiga crónica, cefalea, hipersomnias, dolor en globos oculares, mialgias, artralgias, depresión y las molestias del órgano o sistema más afectado: hígado, riñón, pulmón, sistema nervioso central, etcétera. La leptospirosis persistente o crónica puede carecer de antecedentes clínicos de la enfermedad aguda por haber cursado en forma subclínica o sintomática leve, por lo que el Centro de Información de Leptospirosis cita: «si la fase aguda ha sido pasada por alto, el diagnóstico de la fase persistente raya en lo milagroso». Sin embargo, al igual que sucede en los animales, la leptospirosis crónica se caracteriza por presentar títulos de anticuerpos $\leq 1:100$, títulos que están por debajo del título significativo tomado para el diagnóstico de la fase aguda^{56,58}.

2.1.9 Complicaciones

Frecuentemente la *Leptospira* produce enfermedad hemorrágica de pulmones y otras vísceras, así como anemias, púrpuras y hemorragias mucocutáneas, e inclusive parece evolucionar con cuadros mieloproliferativos y la sospecha de causar enfermedad autoinmune, además de poder afectar cualquier órgano. A pesar de esto, prácticamente nunca se le busca en médula ósea, donde por diversos mecanismos, podría, en teoría, causar graves problemas hemorrágicos, e inclusive neoplasias a sus huéspedes (*Leptospira* asociada a cáncer de colon).

Las complicaciones más encontradas son insuficiencia renal aguda, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, falla hemodinámica, hemorragias y coma⁵⁹. En el caso de la leptospirosis crónica, ésta puede agudizarse paulatina o súbitamente evolucionando a síndrome de Weil, encefalitis, neumonía hemorrágica, miocarditis, diátesis hemorrágica, etc., la que agravada por el deterioro inmunológico del paciente, sólo se diferencia de la fase aguda por el título bajo de anticuerpos que el enfermo logra producir, lo que dificulta grandemente el diagnóstico cuando no se piensa en ella. El diagnóstico diferencial se realiza con los siguientes padecimientos: dengue clásico y hemorrágico, paludismo, brucelosis, pielonefritis, hepatitis viral y meningitis.⁶⁰ Sin embargo, al igual que la sífilis y la borreliosis, puede ser «la gran simuladora», ya que puede confundirse con diversas enfermedades infecciosas.

2.1.10 Diagnóstico

El diagnóstico clínico debe ser confirmado por medio de pruebas de laboratorio, ya que los signos y síntomas en esta infección son frecuentemente atípicos. En la Guía para el Diagnóstico, Vigilancia y Control de Leptospirosis Humana, publicado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS) y la *international Leptospirosis Society (ILS)* en el 2013, se dan una serie de recomendaciones referentes al manejo a nivel de laboratorio del paciente infectado por *Leptospira*, que sin ser un manual, como lo refiere la Guía, proporciona información suficiente, además de bibliografía para los detalles.

Entre las pruebas se incluyen técnicas serológicas para la detección de anticuerpos (serodiagnóstico); cultivo y observación de la bacteria a partir de sangre, orina, LCR y tejidos; detección de antígenos en tejidos y biología molecular³⁰.

A. Técnicas serológicas:

La prueba de aglutinación microscópica (MAT) y el inmunoensayo enzimático (ELISA), son los métodos de laboratorio comúnmente empleados en el diagnóstico serológico⁶⁰.

La prueba de aglutinación microscópica (MAT) es considerada la prueba de referencia. Para su realización se emplea suero problema a diferentes diluciones, cultivo de diversas cepas de referencia de *Leptospira*, así como microscopio de campo oscuro para evaluar el grado de la aglutinación. Esta prueba permite determinar el o los serogrupos responsables del proceso infeccioso y el título del suero para cada antígeno probado. Generalmente es positiva entre los 10 a 12 días después de la presentación de los primeros síntomas y signos clínicos. Sin embargo, puede ocurrir seroconversión entre el quinto y séptimo día después de la aparición de la enfermedad. Tiene excelente especificidad, pero menor sensibilidad. Títulos a partir de 1:80 son considerados sospechosos de leptospirosis. Para su confirmación se requiere de una segunda muestra (no antes de dos semanas posteriores) en la cual el título debe aumentar cuatro veces más que el inicia³⁰.

La prueba de ELISA es extremadamente sensible, puede detectar IgM durante la primera semana de la enfermedad antes que la MAT, aunque puede llegar a ser negativa más tempranamente.

B. Cultivo

Se debe considerar la fase en que se encuentra la infección. Por lo general, durante la fase aguda, la bacteria se localiza en circulación durante los primeros siete a 10 días de la enfermedad, momento adecuado para realizar el muestreo y cultivo de sangre heparinizada. El LCR puede ser cultivado durante los primeros 10 días de la enfermedad, en tanto que la orina lo es a partir de la segunda a la cuarta semana de la enfermedad^{30,60}.

Los medios de cultivo empleados son los siguientes: medio líquido de Ellinghause y McCullough modificado por Johnson y Harris (EMJH), suplementado con Tween80/albúmina y 5-fluorouracilo, medio de Korthof-Babudieri, medio de Fletcher, etcétera³⁰.

C. Observación de *Leptospira* mediante microscopio de campo oscuro.

Se realiza a partir de muestra clínica: sangre, orina; biopsia hepática, de riñón y pulmón; muestra de LCR durante la fase aguda de la enfermedad.

D. Estudios con biología molecular:

Entre las técnicas empleadas se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual es altamente sensible, los blancos a amplificar son segmentos del ARNr 16S, 23S, genes *secY* y *flaB*, así como secuencias de inserción (IS1533). Con el empleo de iniciadores específicos y la detección del producto amplificado, se ha realizado por electroforesis en geles de agarosa, teñidos con bromuro de etidio, el uso de sondas específicas, marcadas para hibridar el segmento amplificado, incrementando la sensibilidad de la PCR. El producto también ha sido sometido al tratamiento con enzimas de restricción, que en algunos casos ha permitido la diferenciación de cepas patógenas de no patógenas.

2.1.11 Control y prevención

La leptospirosis es una enfermedad difícil de controlar debido a la capacidad del microorganismo para ser eliminada por la orina de muchos animales que se mantienen en estado de portador³⁰. En el control se incluye: notificación del caso,

aislamiento de pacientes, desinfección de artículos contaminados con orina, investigación de los contactos y existencia de probables fuentes de infección.³⁰ Entre las medidas de protección se encuentran las siguientes: evitar contacto con aguas probablemente contaminadas, evitar bañarse en agua de ríos o estancada, utilizar métodos de barrera que protejan piel y mucosas como el empleo de ropa de trabajo adecuada, botas y guantes, control de roedores y de animales de importación, realizar la separación, tratamiento y sacrificio de animales enfermos. Realizar construcciones a prueba de roedores, consumir agua hervida si no se dispone de agua potable. Algunas de estas medidas dan resultados relativos, en tanto que con otras el resultado es más positivo³⁰.

2.1.12 Tratamiento

Este se encuentra dirigido principalmente a realizar una terapia de soporte, corrección del desequilibrio hidroelectrolítico y ácido-básico, sobre todo en las formas graves del padecimiento. El tratamiento antimicrobiano se debe iniciar lo más temprano posible, ya que se encuentra orientado a controlar la infección antes de que se presente daño irreparable en el organismo, sobre todo en riñón e hígado y el desenlace sea fatal. En leptospirosis no complicada y con tolerancia oral, el tratamiento de elección en niños mayores de ocho años es la doxiciclina a dosis de 100 mg cada 12 horas por siete días. En menores de ocho años la amoxicilina a dosis de 30 a 50 mg/kg al día divididos en cuatro dosis por siete días. También puede ser empleada la eritromicina 25-50 mg/kg por día divididos en cuatro dosis por siete días. En casos de moderados a graves, se instituye la administración de penicilina G sódica alrededor de 20 millones de UI/día por vía intravenosa (IV), por siete a 10 días. Como alternativa se puede usar ampilina 0.5 g cada seis horas por la misma vía. La penicilina benzatínica en adultos se recomienda 1'200,000 a 2'400,000 UI, vía intramuscular (IM) cada 24 horas, en

niños 25,000 a 50,000 UI/kg, IM cada 24 horas durante siete a 10 días. La ceftriaxona también puede ser empleada de 1 a 2 g cada 12 horas vía IV o IM. Igualmente se recomienda el empleo de trimetoprim con sulfametoxazol 80/400 mg. En adultos dos tabletas cada 12 horas y en niños 8/40 mg/kg/día, en dos administraciones durante 10 días. Quimioprofilaxis: Ante el peligro de una exposición a *Leptospira*, se recomienda la administración de doxiciclina 200 mg por semana. Después de la exposición al riesgo, doxiciclina 100 mg cada 12 horas por cinco a siete días²².

2.2 Estado actual de la Leptospirosis

2.2.1 Contexto mundial

A nivel mundial se describen seroprevalencias de 18.9% en áreas rurales en el Estado de Yucatán, México⁶¹, 16% en Baltimore, EE.UU⁶²; 28% en Iquitos, Perú y 48% en Brasil. En un estudio epidemiológico en el área urbana y rural de Venezuela encontró una prevalencia del 80.6% y en Brasil, encontraron en el sector rural una prevalencia del 77.2%. Estas prevalencias se debe posiblemente al resultado de la convergencia de varios factores culturales, ecológicos y socioeconómicos, la extrema e inadecuada convivencia con animales domésticos y peri domésticos que son considerados como reservorios de la leptospirosis, el limitado uso de elementos de protección en actividades laborales, la falta de higiene con que se almacenan el agua y los alimentos, que quedan expuestos a la contaminación por animales reservorio de la enfermedad; todas estas causas se derivan del limitado nivel económico y educativo⁶².

2.2.2 Contexto en Latinoamérica

En América las serovariedades encontradas pudieron ser importadas mediante la colonización y la introducción de animales de cría y compañía. Según Seijo la 10 Prevalencia de Leptospirosis en Colombia; Revisión Sistemática de Literatura existencia de aislamientos en sigmodontinos, roedores exclusivamente americanos ha permitido plantear dos hipótesis: 1) adaptación de las serovariedades en ratas, caninos o ganado ingresados de Eurasia y 2) la existencia de *Leptospiras* patógenas en el continente antes de la colonización; pero esta última presenta dudas debido a que los serogrupos encontrados corresponden a los hallados en Asia y Europa. La prevalencia de las infecciones por los diferentes serovares de *Leptospira* en las explotaciones pecuarias de los países tropicales y subtropicales aún no se conoce. Algunos estudios de leptospirosis en la industria pecuaria de Estados Unidos reportan prevalencias entre un 35-50 %, donde la mayoría de las infecciones probablemente es producida por el serovar hardjo. En zonas urbanas las condiciones inadecuadas de saneamiento han establecido ambientes propicios para que se presente la transmisión de la enfermedad asociada a los roedores. Estudios previos realizados en el continente americano han señalado la importancia de estos reservorios, predominantemente *Rattus norvegicus*, en la transmisión de la leptospirosis urbana con registros de seroprevalencia de 77,4 % para la ciudad de Detroit, 27 % para Barbados, 36,1 % para Rio de Janeiro y 45,8 % para la ciudad de Buenos Aires⁶².

2.2.3 Contexto en Colombia

Es importante tener en cuenta que en Colombia los estudios de seroprevalencia a nivel local han permitido conocer la frecuencia de la enfermedad en ciertas áreas del país; pero a nivel Nacional es necesario realizar estudios que permitan

conocer la situación real de la enfermedad, debido a que actualmente no se identifican la mayoría de casos de leptospirosis puesto que en muchos pacientes los cuadros clínicos son inespecíficos y atribuidos a otras enfermedades endémicas.

En Colombia, se conoce poco sobre la situación real de la leptospirosis, sobre todo en lo que respecta a los factores de riesgo de infección en las zonas urbanas. La epidemia que se documenta en el país en la región del Atlántico en 1995, con un total de 47 casos confirmados (17% de letalidad en este grupo), 284 casos sospechosos, y el aislamiento de los serotipos *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona* y *Canícola* de *Leptospira interrogans*. Otros estudios han encontrado en Colombia la prevalencia de anticuerpos en los seres humanos en general del 18%, 23% y 13%, correspondientes a los serotipos *Icterohaemorrhagiae* y *Grippotyphosa*, ambos asociados con la transmisión de los roedores. El brote ocurrido en 1995 se asoció con las inundaciones que afectaron gran parte de la Costa Atlántica. Igualmente, se ha reportado en población general de diferentes regiones de Colombia con porcentajes de positividad del 12,5%, 18,5% y 23,3%⁶².

Para Colombia existen informes aislados de leptospirosis que datan de 1933 los cuales estaban orientados a identificar los reservorios animales, el primer caso humano informado fue en 1968. En el país se han reportado prevalencias generales para diferentes poblaciones humanas, en 1957 se encontró 4,28% de sueros humanos positivos para *L. interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae*. Posteriormente en 1989 se reportó una seropositividad general de 18,4% para cinco localidades colombianas principalmente por las serovariedades *Icterohaemorrhagiae* y *Grippotyphosa*².

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Caracterizar serológicamente serovares de *Leptospira spp* y determinarlos como causantes de enfermedad zoonótica en estudiantes de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A

3.2 Objetivos específicos

- Identificar la presencia de trece serovares de *Leptospira spp* mediante la técnica Microaglutinación.
- Determinar la prevalencia de *Leptospira spp* en estudiantes de medicina veterinaria de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A.
- Establecer los principales factores de riesgo para la presentación de *Leptospira spp*.

4 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de investigación

Estudio de tipo descriptivo trasversal.

4.2 Universo, población y muestra

4.2.1 Universo

Estudiantes de medicina veterinaria entre 16 y 29 años, de la Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.C.D.A

4.2.2 Población

260 estudiantes con edades comprendidas entre los 16 y los 29 años, activos y matriculados en el programa Medicina Veterinaria de la Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A ubicado en la calle 222 No. 55 – 37. Localidad Usaquen de la ciudad de Bogotá.

4.2.3 Muestra

La muestra no probabilística por conveniencia fue de 135 estudiantes. La muestra se obtuvo llevando a cabo los siguientes pasos: Sensibilización a los estudiantes entre las edades ya mencionadas que se encontraban en semestres comprendidos desde primero hasta décimo, se les dio a conocer

la idea del proyecto, adicional se les entrego un consentimiento informado a quienes estaban dispuestos a hacer parte del proyecto de investigación, junto con una encuesta epidemiológica para establecer factores de riesgo.

4.3 Criterios de selección

4.3.1 Criterios de inclusión

- Estudiantes matriculados en la facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.
- Jóvenes con edades comprendidas entre los 16 y 29 años matriculados en cualquiera de los semestres del programa Medicina Veterinaria.
- A quienes diligenciaron consentimiento informado, así como a quienes respondieron correctamente la encuesta epidemiológica.

4.3.2 Criterios de exclusión

- Jóvenes que no comprendían la edad establecida.
- Personas que no eran estudiantes del programa.
- Estudiantes que no diligenciaron correctamente la encuesta epidemiológica.

4.4 Variables

Para el análisis de los resultados se consideraron las siguientes variables:

Variable	Definición	Escala	Valor
Sexo	Característica física que define si es hombre o mujer.	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none">• Hombre• Mujer
Edad	Tiempo en años cumplidos por los universitarios en el momento de la toma de muestra de sangre.	Cualitativa de razón	<ul style="list-style-type: none">• 16 a 29 años
Semestre	Semestre en el cual se encuentra matriculado el estudiante en el momento del estudio.	Cualitativa ordinal	<ul style="list-style-type: none">• De Primero a décimo semestre.
Estrato socioeconómico	Acorde al sitio de ubicación de la vivienda de los escolares.	Cualitativa ordinal	1,2,3,4,5,6.

TABLA 2: Variables utilizadas para el estudio.

4.5 Instrumentos

El estudio conto con la aplicación de una matriz de datos con información básica (edad, curso, sexo, estrato socioeconómico, y teléfonos) para análisis de algunas variables. Además, se utilizó una documentación compuesta de asentimiento y consentimiento informado y la encuesta epidemiológica.

4.6 Técnicas y procedimientos

Para la selección de la muestra de la población a estudiar, se realizó una convocatoria abierta en la facultad de medicina veterinaria de la universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A, está se realizó mediante ayudas visuales como carteleras localizadas en diferentes lugares de la universidad junto con charlas informativas invitando a los estudiantes para ser partícipes del proyecto. Aquellos estudiantes interesados en participar debieron leer y diligenciar un documento llamado consentimiento informado, como documento legal de su autorización en el estudio, (Anexo No. 1), En caso de los menores de edad, se realizó un formato de asentimiento firmado por los padres. Además, los universitarios debían diligenciar el formato encuesta, para determinar los factores de riesgo (Anexo No. 2). Esta documentación fue obligatoria como requisito para la participación en el estudio ya que hace parte de los requisitos éticos fundamentales para la realización de investigaciones humanas. Una vez cumplidos estos requisitos, los estudiantes fueron citados para realizar el proceso de toma de muestra; a través de una circular se les señalo las condiciones necesarias para la toma de muestra, fijando fecha y hora para realizar el proceso de venopunción. Se tomaron valores antropométricos y con condición previa de ayuno de 12 horas se recolecto a cada estudiante una muestra de 5 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante con gel separador. Las muestras de sangre basal tomadas cumplieron los requisitos de muestras óptimas para ser procesadas.

Las muestras sanguíneas recién recolectadas se dejaron coagular y fueron posteriormente centrifugadas a 2.500 r.p.m. por 15 minutos, obteniendo suero, el cual fue conservado a una temperatura de -20°C y almacenada hasta su debido procesamiento.

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

4.6.1 Identificación de anticuerpos por MAT:

Los títulos de anticuerpos Anti- *Leptospira spp* se determinaron mediante MAT Utilizando antígenos representativos de 13 serovares siguiendo la recomendación del Instituto Nacional de Salud. La técnica de microaglutinación MAT, como se referencio anteriormente, es la técnica estandarizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Instituto Nacional de Salud (INS) para el diagnóstico de Leptospirosis tanto en humanos como en animales.


Las muestras se analizaron en el laboratorio de diagnóstico veterinario Zoolab SAS, se transportaron en alícuotas los sueros previamente conservados e identificados de cada estudiante, se dejó a temperatura ambiente y se procedió a realizar las diluciones iniciales, en la cual los títulos de punto final se determinaron comenzando en una dilución inicial con PBS de 1:100 y haciendo diluciones dobles en caso que se presentara una reacción por encima del 50% de aglutinación, esto se interpretó así: si la proporción de leptospiras libres está entre el 50% y el 100% la reacción es negativa, si la proporción de leptospiras libres es menor del 50% la reacción es positiva. Posteriormente se puso el material de trabajo 20 minutos bajo radiación UV, y se agregó el antígeno de cada serovar a las placas de muestra. Partiendo de una concentración de antígeno ½. Se incubo a 37 °C a una hora, según el protocolo establecido por el INS (Instituto nacional de


salud). Pasado el tiempo, se hizo observación en microscopio de campo oscuro, y se registró la última dilución que daba mayor o igual de 50% de aglutinación. El punto de corte para una reacción de aglutinación positiva se definió como un título ≥ 100 en una sola muestra.


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

TABLA 3 Serovares utilizados en la Técnica Mat, para la caracterización serológica. Autoría de Brandon Dayan Rangel.

Nota: Después del procesamiento de las muestras, los estudiantes fueron citados para realizar la entrega respectiva de los resultados junto con algunas recomendaciones como asistencia médica a sus centros de salud.

Paso	Descripción	Imagen
<p>1. Localización de muestra poblacional</p>	<p>Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A ubicado en la calle 222 No. 55 – 37. Localidad Usaquen de la ciudad de Bogotá.</p>	
<p>2. Selección de muestra poblacional</p>	<p>Para la selección de la muestra de la población a estudiar, se realizó una convocatoria abierta en el programa de Medicina Veterinaria de la Universidad U.D.C.A.</p>	<p>Sin Fotografía</p>
<p>3. Sensibilización a la Comunidad</p>	<p>Se dio a conocer la totalidad del proyecto a la comunidad universitaria, donde</p>	<p>Sin Fotografía</p>

	se les explicó el impacto esperado por nuestra investigación	
4. Documentación requerida	Los estudiantes interesados en participar en el proyecto debieron diligenciar un documento llamado <i>consentimiento informado</i> , además de la encuesta epidemiológica, y en caso de ser menor de edad, el formato <i>asentimiento informado</i> , firmado por los padres.	
5. Toma de muestras sanguíneas	Los estudiantes fueron citados para realizar el proceso de toma de muestra. A través de una circular se les señaló las condiciones necesarias para la toma de muestra, fijando fecha y hora para realizar el	

	<p>proceso de venopunción. Con condición previa de ayuno de 12 horas se le recolecto a cada estudiante una muestra de 5 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante con gel separador.</p>	
<p>6. Procesamiento de las muestras</p>	<p>Las muestras sanguíneas recién recolectadas se dejaron treinta minutos posterior a la toma, con el fin de dejar coagular y fueron centrifugadas a 2.500 r.p.m. durante 10 minutos, obteniendo suero, se guardaron en alícuotas identificadas para cada estudiante y se conservó a una temperatura de -20°C hasta su debido procesamiento. Las</p>	

	<p>muestras se analizaron en el laboratorio de diagnóstico veterinario Zoolab SAS, donde los títulos de anticuerpos <i>Anti- Leptospira spp</i> se determinaron mediante MAT</p> <p>Utilizando antígenos representativos de 13 serovares siguiendo la recomendación del Instituto Nacional de Salud. La técnica de microaglutinación MAT, es la técnica estandarizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Instituto Nacional de Salud (INS) para el diagnóstico de Leptospirosis tanto en humanos como en animales.</p>	
--	--	--

TABLA 4: Resumen metodología empleada en el estudio.

5 RESULTADOS Y ANÁLISIS

El siguiente estudio realizado en la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A contó con la participación de 135 estudiantes distribuyéndose en 61% (82) mujeres y 39% (53) hombres (Gráfica 1)



Gráfica 1: Distribución de los participantes acorde a su sexo.

5.1 Descripción de la población

A. EDAD

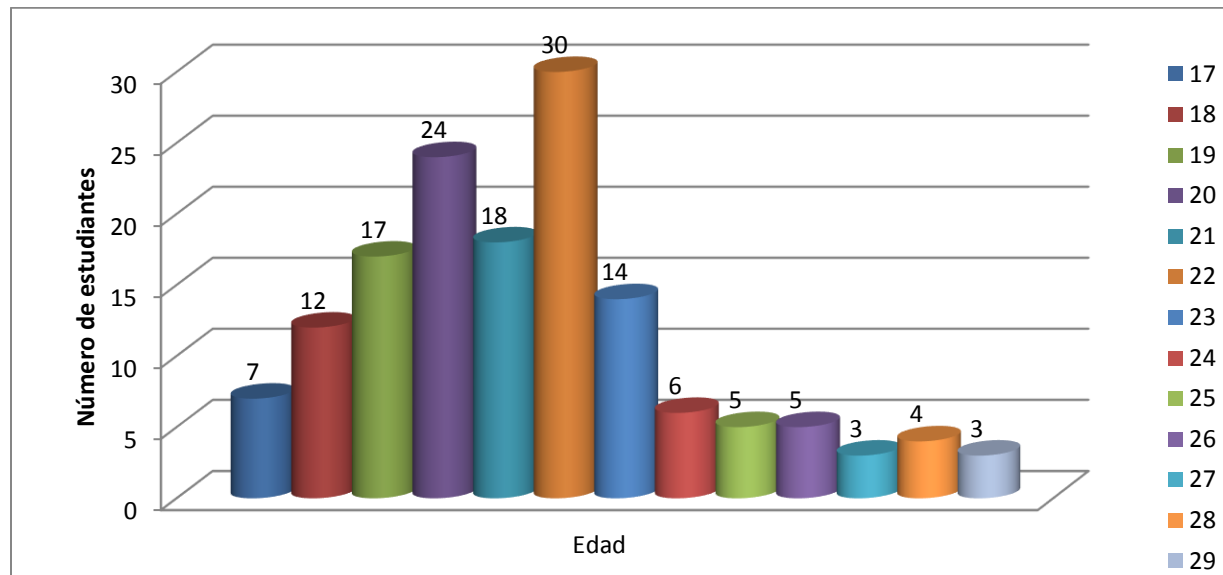
Hubo mayor participación en las edades comprendida entre los 21 a los 23 años. Respecto a los hombres, la mayor participación fue en las edades de 19 años con un 16.9% (9) mientras que en las mujeres hubo mayor interés

en los 22 años con un 18.2% (15), sin embargo, no hubo ningún estudiante de 16 años, los estudiantes presentes en el estudio iniciaron con la edad de 17 años. (Tabla 5)

Género Sexo	Masculino Hombre – niño		Femenino Mujer – niña	
	No	%	No	%
Edad				
16	0	0%	0	0%
17	2	3.7%	5	6.0%
18	4	7.5%	4	4.8%
19	9	16.9%	9	10.9%
20	7	13.2%	11	13.4%
21	4	7.5%	10	12.1%
22	9	16.9%	15	18.2%
23	6	11.3%	12	14.6%
24	4	7.5%	5	6.0%
25	2	3.7%	3	3.6%
26	2	3.7%	4	4.8%
27	2	3.7%	2	2.4%
28	1	1.8%	4	4.8%
29	0	0%	2	2.4%

Total	53	100%	82	100%
--------------	-----------	-------------	-----------	-------------

TABLA 5: Descripción por edad de los estudiantes.



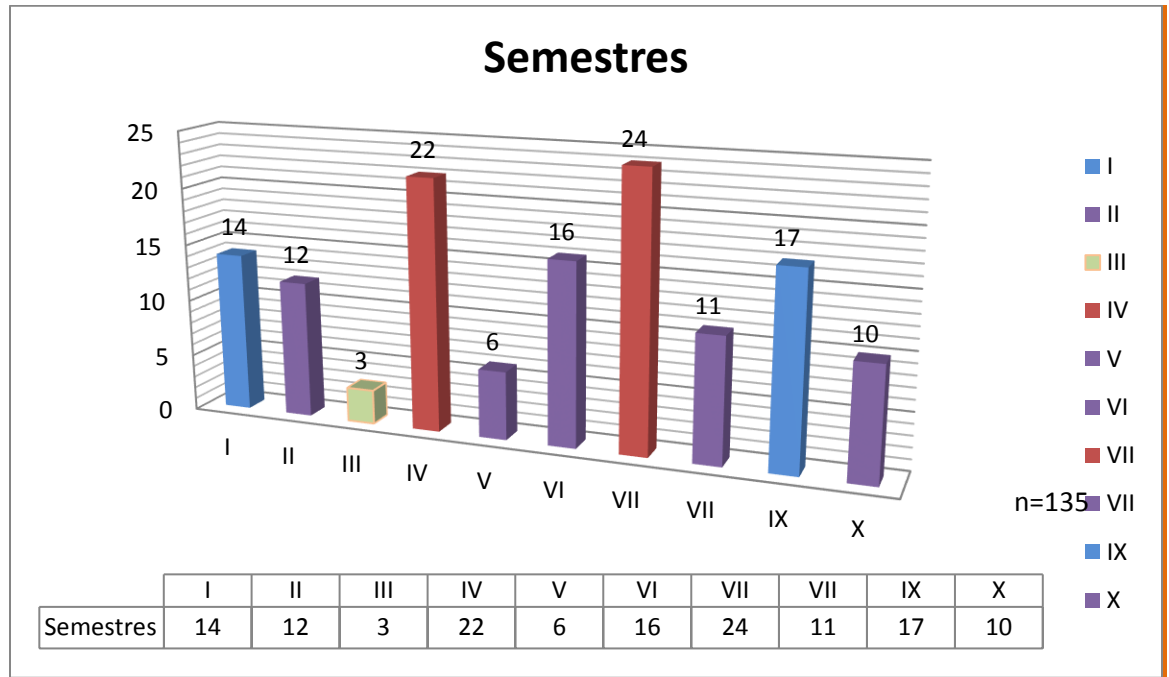
Gráfica 2. Rango de edades de los estudiantes de Medicina Veterinaria.

B. Distribución de los semestres

Los estudiantes cursaban semestres de primero a décimo, sin embargo, se evidenció mayor participación en séptimo semestre, con un 17.7% (24) mientras que en semestres como IV y IX contó con una participación de 16.2 % (22) y 12.1% (17) respectivamente. La menor participación se vio reflejada en III semestre con un 2.2 % (3).

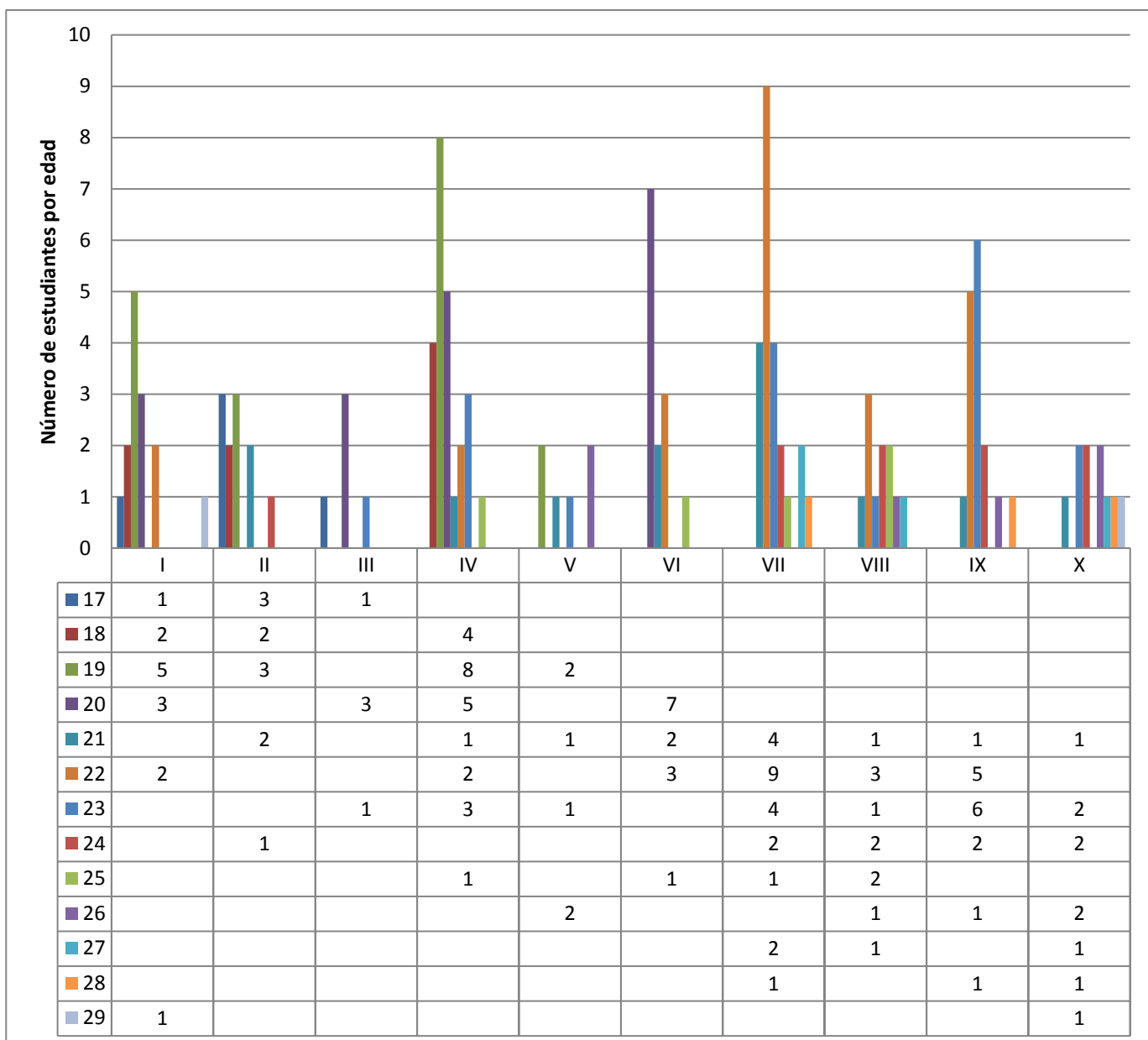
La mayor participación de semestres superiores nos muestra el interés que adquieren los estudiantes por las enfermedades zoonóticas a lo largo de su

carrera, además la baja participación por parte de semestres inferiores podría darnos una claridad a nuestra hipótesis, pero también puede intervenir otros factores como la falta de tiempo, de información incluso de interés por estos estudiantes.



GRÁFICA 3: Distribución de los estudiantes en los semestres.

A. Edades por semestre



Gráfica 4: Distribución de las edades de los estudiantes de acuerdo al semestre.

La edad más activa obtenida se centró entre los 22, 23 y 24 años y encontradas entre los semestres IV, VI y VII, demostrando un mayor interés por estudiantes de

carreras superiores. Siendo está una población más interesada en las enfermedades zoonóticas.

B. De acuerdo a la encuesta epidemiológica

ENCUESTA	HOMBRE (53)	MUJER (82)
Consumo de agua.	Acueducto hervida: 85.6% Acueducto cruda: 62% Rio: 7.8% Charco: 2%	Acueducto hervida: 98.2% Acueducto cruda: 32.5% Rio: 2% Charco: 0%
Elementos de protección personal	Bata: 100% Gorro: 87.2 % Guantes: 96.2% Tapabocas: 86.7% Máscara con filtro: 0% Ninguna: 0%	Bata: 100% Gorro: 99.2 % Guantes: 100% Tapabocas: 97.5% Máscara con filtro: 0% Ninguna: 0%
Frecuencia del uso de elementos de protección personal.	Casa: 0% Universidad: 98.1% Finca: 75.4% Trabajo: 76.5%	Casa: 3.6% Universidad: 100% Finca: 89.7% Trabajo: 89.7%

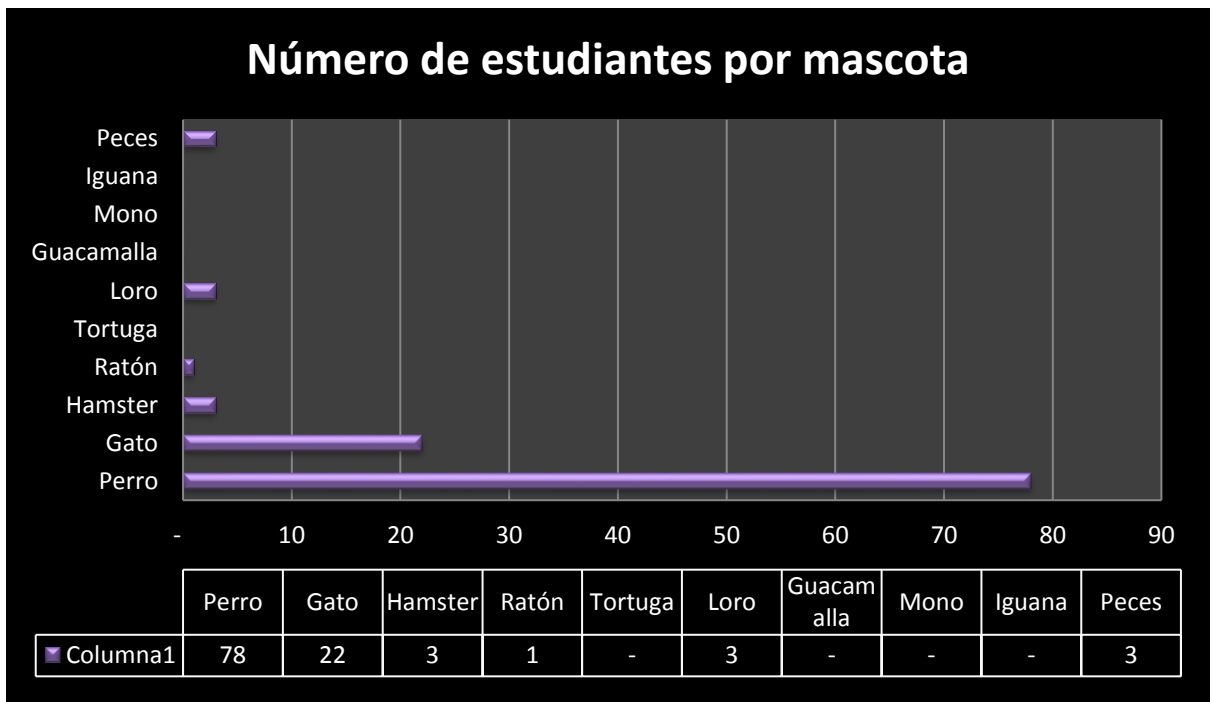
Tabla 6. Relación de la encuesta epidemiológica de acuerdo a su sexo, consumo de agua y el uso y frecuencia de elementos de protección personal.

La encuesta permitió tener claridad de los hábitos en cuanto a consumo de aguas y manejo de elementos de protección personal. Por tanto podemos decir que las mujeres poseen mejores hábitos que los hombres, mayor concienciación de la importancia de estos y mayor responsabilidad al momento de asumir la bioseguridad en su papel como estudiante.

	<i>CANINOS</i>	<i>FELINOS</i>	<i>EQUINOS</i>	<i>PORCINOS</i>	<i>BUFALINOS</i>	<i>CAPRINOS</i>	<i>OVINOS</i>
CASA	80.2%	52.7 %	0%	0%	0%	0%	0%
FINCA	56.8 %	25.9%	20.6%	32.7%	48.5%	23.4%	20.6%
UNIVERSIDAD	35.6%	17.9%	15.5%	7.2%	7.2%	3.4%	2.6%
CALLE	35.6%	10.2%	0%	0%	0%	0%	0%
TRABAJO	12.6%	10.2%	4.6%	2.6%	2.6%	0%	0%
PARQUES TEMÁTICOS	2.6%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
PARQUES ZOOLOGICOS	0%	2.6%	3.4%	0%	4.6%	0%	0%
ZOOCRIADEROS	2.6 %	0%	0%	0%	0%	0%	0%

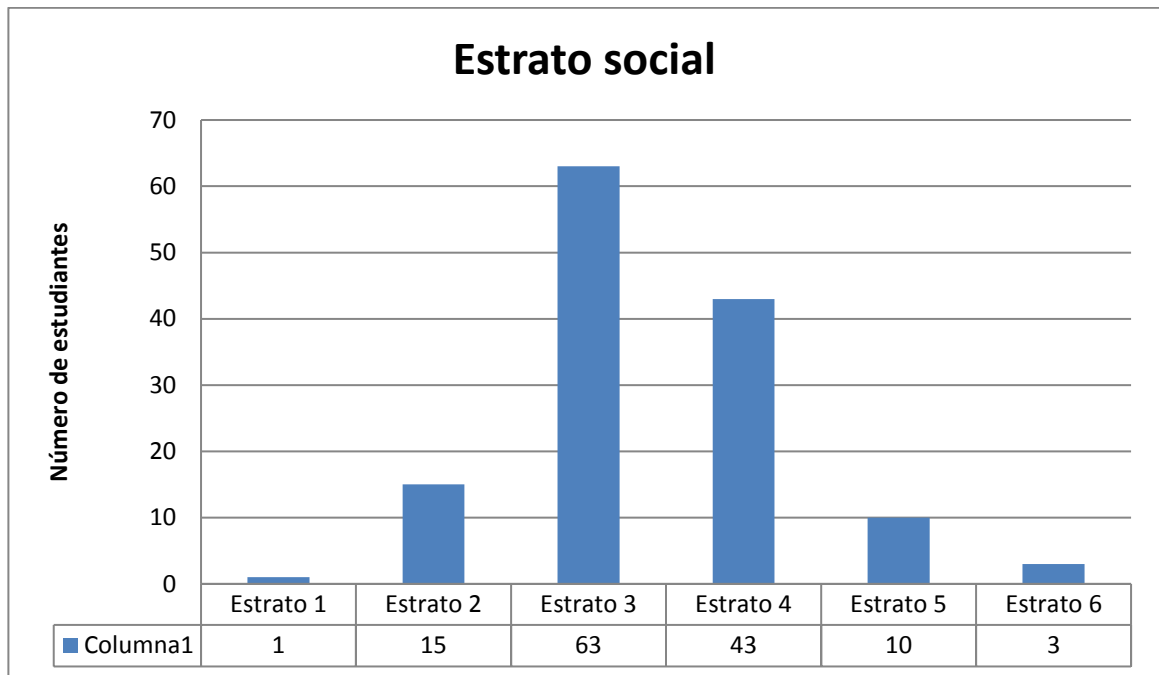
Tabla 7: Porcentaje de contacto con las especies y el lugar.

Se pudo evidenciar la importancia que tienen los caninos y felinos en las casas de los estudiantes, pues un alto porcentaje de estos posee en su casa este tipo de animales. Se pudo determinar también que la finca es un lugar en el cuál la mayoría tiene contacto con especies reservorios de la enfermedad. A su vez, la universidad juega un papel importante en tener contacto con varias especies de estas. En cuanto a frecuentar zoo criaderos, pudimos verificar en la encuesta epidemiológica, que fue el lugar con el que menos se tuvo contacto con animales, pues solo a una especie y con un porcentaje del 2.6% es decir, la que menor porcentaje presentó.



Gráfica 5. Número de estudiantes que poseen mascotas en su casa.

Se pudo observar que la mayoría de estudiantes poseen mascota en su casa. Las mascotas más predominantes fueron el perro y el gato mientras que ningún estudiante afirmó tener iguana, mono, guacamaya o tortuga.



Gráfica 6. Número de estudiantes por categoría de estrato socioeconómico.

La anterior gráfica nos permite evidenciar el estrato socioeconómico de los 135 estudiantes, apreciando que el estrato de mayor participación es el estrato 3 junto con el estrato 4, intermedio encontramos los estratos 2 y 5. En este caso, la menor participación se encuentra en el estrato 1, sugiriéndonos que por ser universidad privada están en menor número al no contar con recursos para acceder a la educación privada.

5.2 Resultados obtenidos en la prueba MAT

Los resultados obtenidos para la prueba de microaglutinación MAT fueron los así:

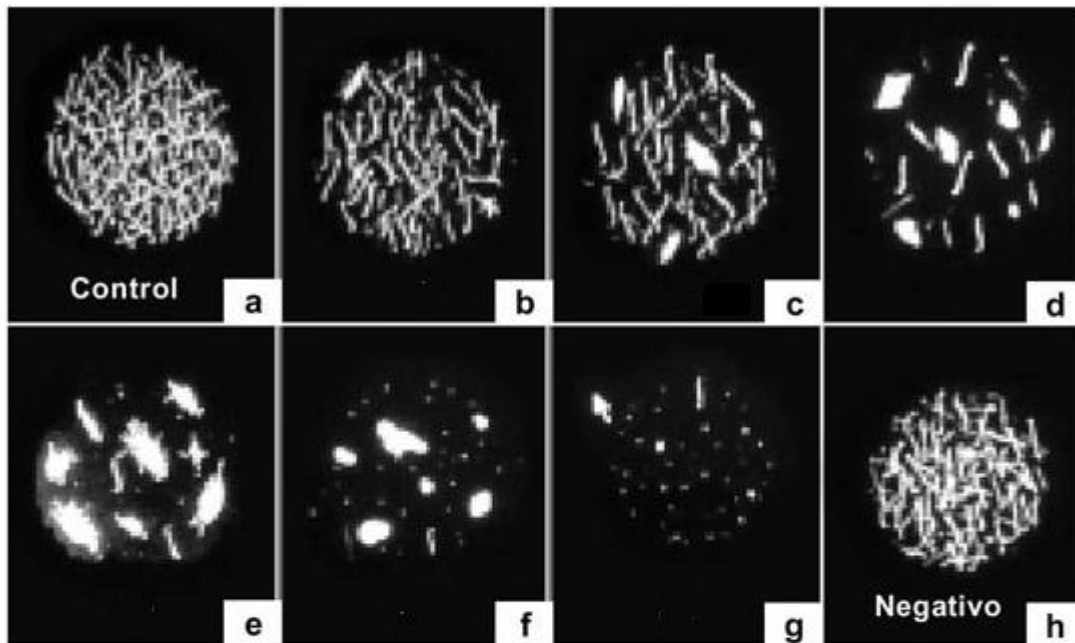


Figura 4. Reacciones de la prueba de aglutinación microscópica (MAT) **a:** lámina control; **b:** lámina con 25% de aglutinación (zonas como copos de algodón); **c:** lámina con 50% de aglutinación; **d:** lámina con 75% de aglutinación; **e:** lámina con 100% de aglutinación; **f:** lámina con 100% de aglutinación y lisis; **g:** lámina con 100% de lisis; **h:** lámina negativa.

Figura 6 Escala de porcentaje de aglutinación de acuerdo al rango establecido por el INS. Céspedes Z Manuel. Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente. Rev. perú. med. exp. salud publica [Internet]. 2005 Oct [citado 2018 Mayo 20]; 22(4): 290-307. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342005000400008&lng=es.

5.2.1 Resultado positivo

Se tomó resultados positivos según las recomendaciones del INS y la OMS y de acuerdo con la figura anterior, como un porcentaje menor o igual al 50% de Leptospiras libres así. (Fig. 7)

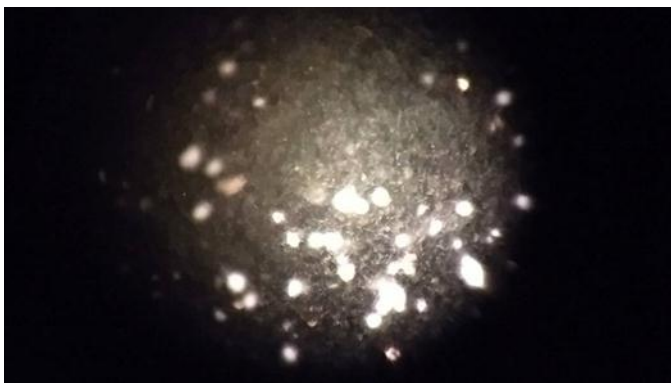


FIGURA 7: Aglutinación mayor o igual al 50%, fue tomado como un resultado positivo. Fotografía tomada por Brandon Dayan Rangel.

5.2.2 RESULTADO NEGATIVO

Se tomó como muestras negativas, aquellas que presentaron proporción mayor al 50% de leptospiras libres (Fig. 7)

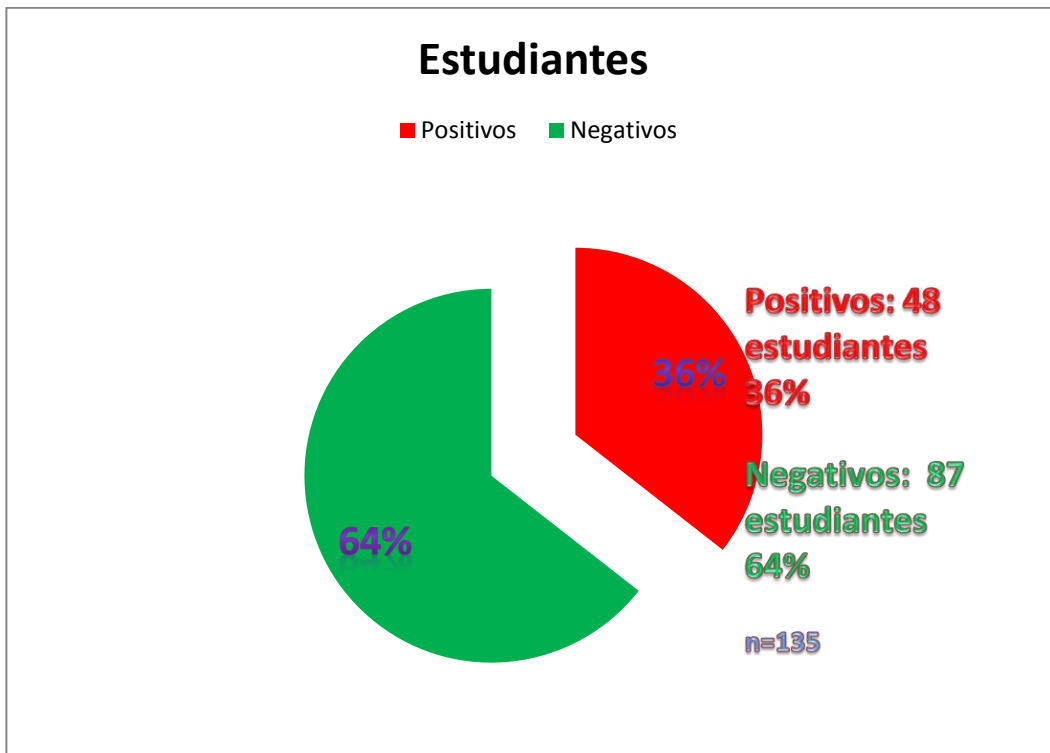


FIGURA 8: Aglutinación negativa o menor del 50%, fotografía tomada por Brandon Dayan Rangel.

5.3 Caracterización serológica de *Leptospira spp*

A. A nivel de muestra poblacional

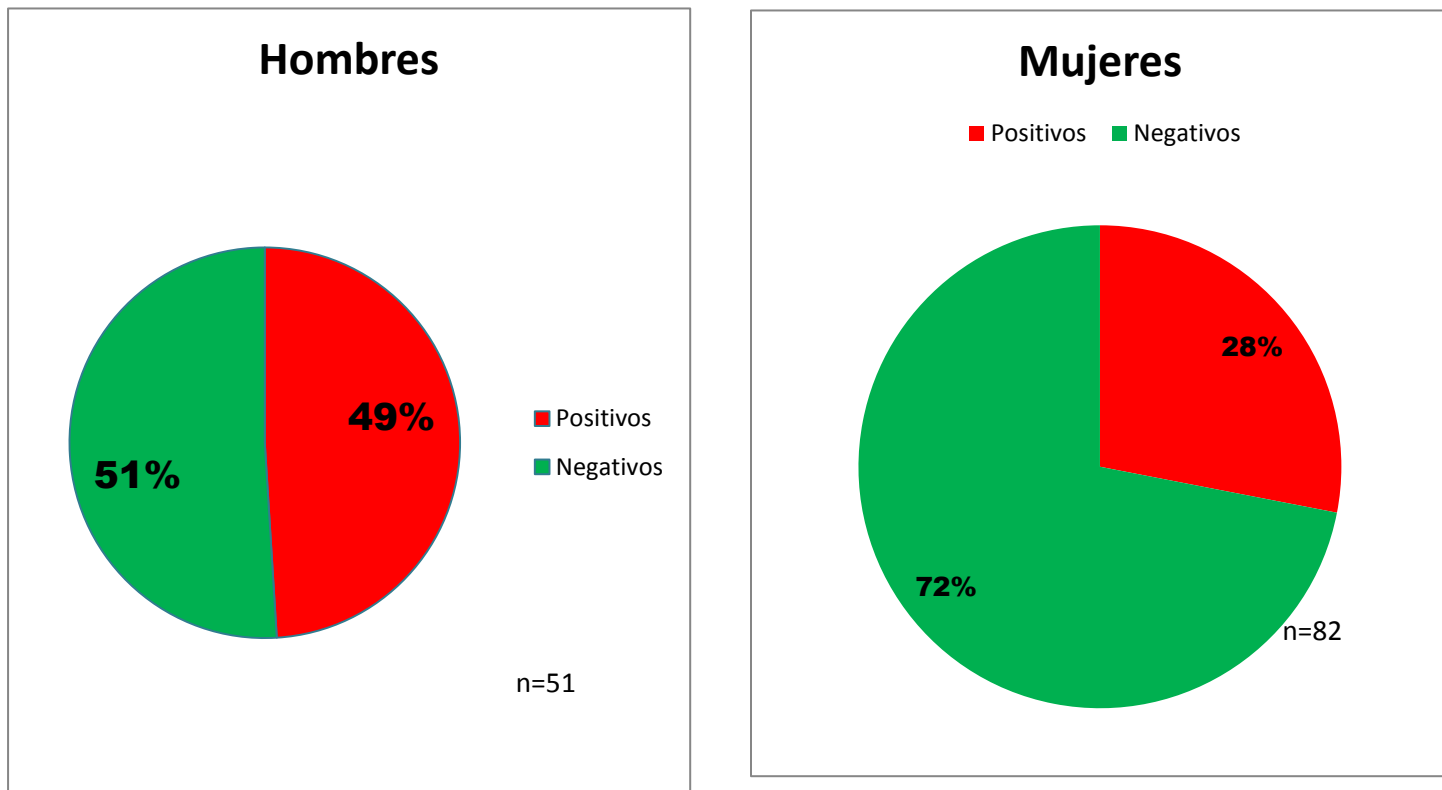
Se caracterizó que un 36.3% (48 estudiantes) presentaba positividad mayor o igual a 1:100 a uno o varios serovares de *Leptospira spp*. (Gráfica 3)



GRÁFICA 7: Distribución porcentual de aglutinación positiva y negativa.

B. Por sexo

Se comparó los resultados según el sexo, encontrándose un porcentaje 28% en mujeres y un 49% en hombres, identificando así, mayor positividad en los hombres.



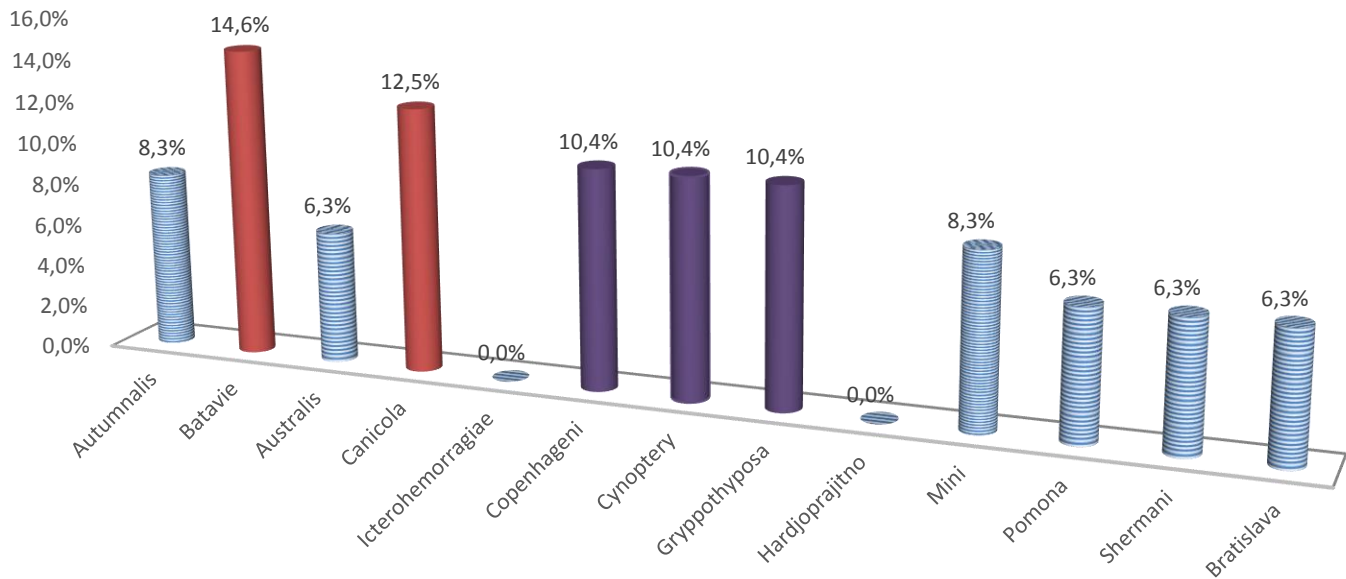
GRÁFICA 8. Distribución porcentual de aglutinación en hombres y mujeres.

C. Aglutinación a serovares

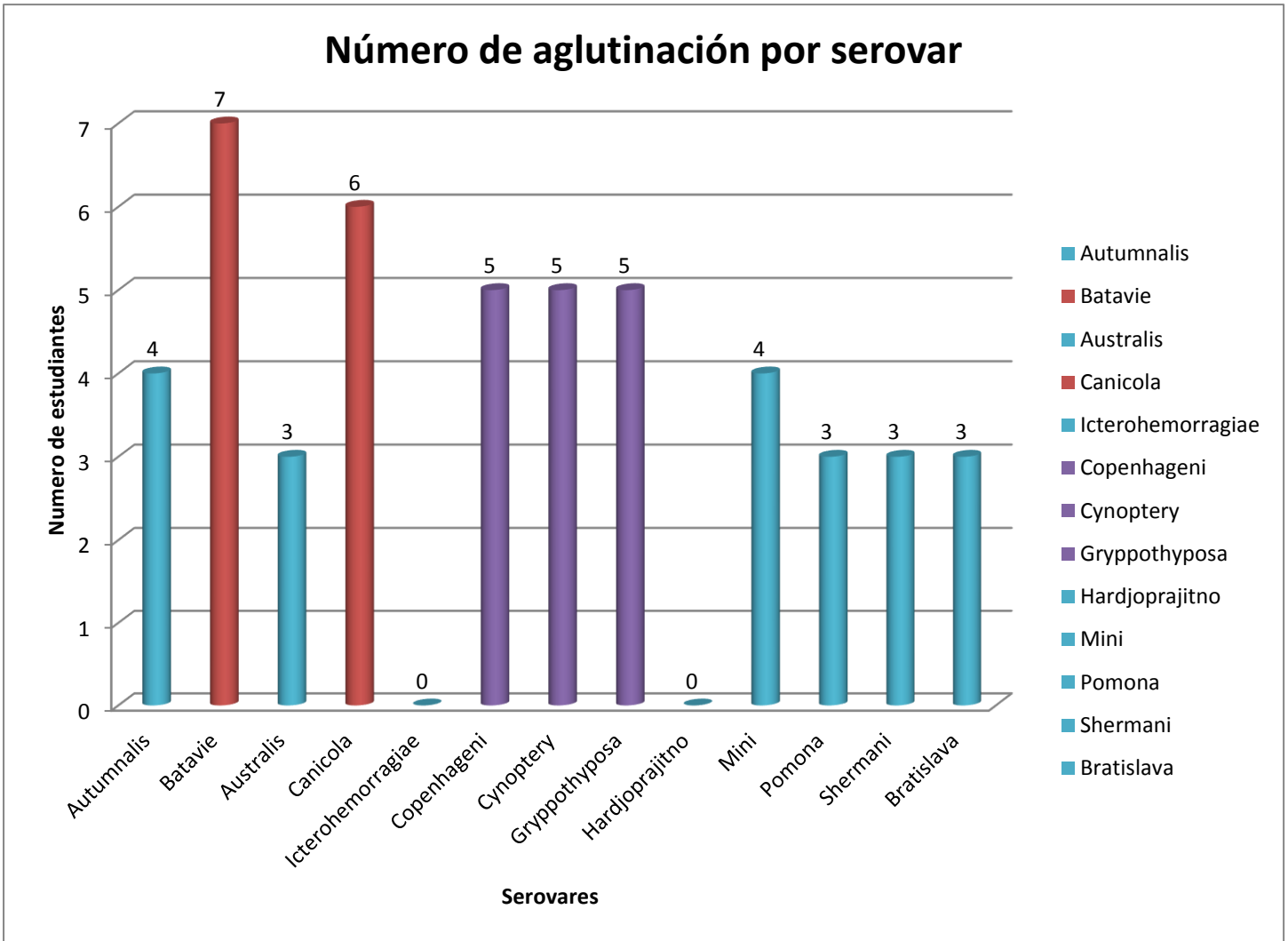
Las aglutinaciones a serovares determinaron cual serovar de *Leptospira spp* fue más prevalente, encontrándose entre ellos *Batavie* y *Canicola*, con una aglutinación del 14.6% y 12.5% respectivamente, mientras *Icterohemorrhagiae* y *Hardjoprajitno*, no presentaron ninguna aglutinación.(Gráfica 5 y 6)

Porcentaje de aglutinacion a serovares

■ Autumnalis ■ Batavie ■ Australis ■ Canicola ■ Icterohemorragiae
■ Copenhageni ■ Cynoptery ■ Gryppothyposa ■ Hardjoprajitno ■ Mini
■ Pomona ■ Shermani ■ Bratislava



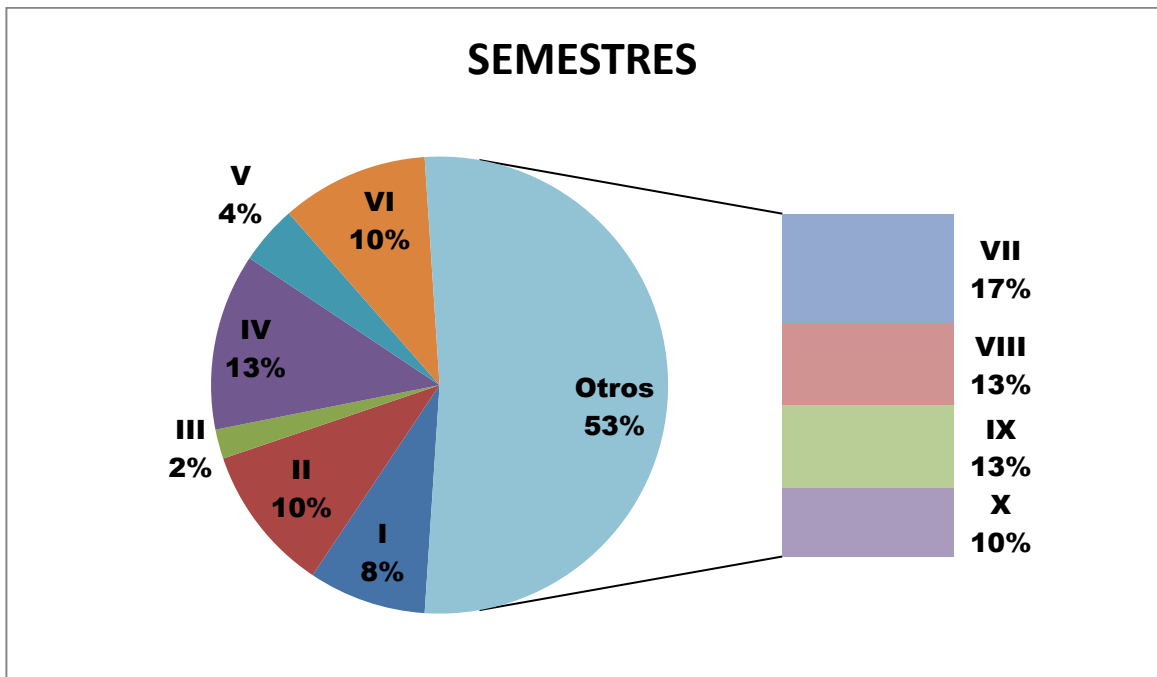
GRÁFICA 9: Porcentaje de aglutinación a cada serovar



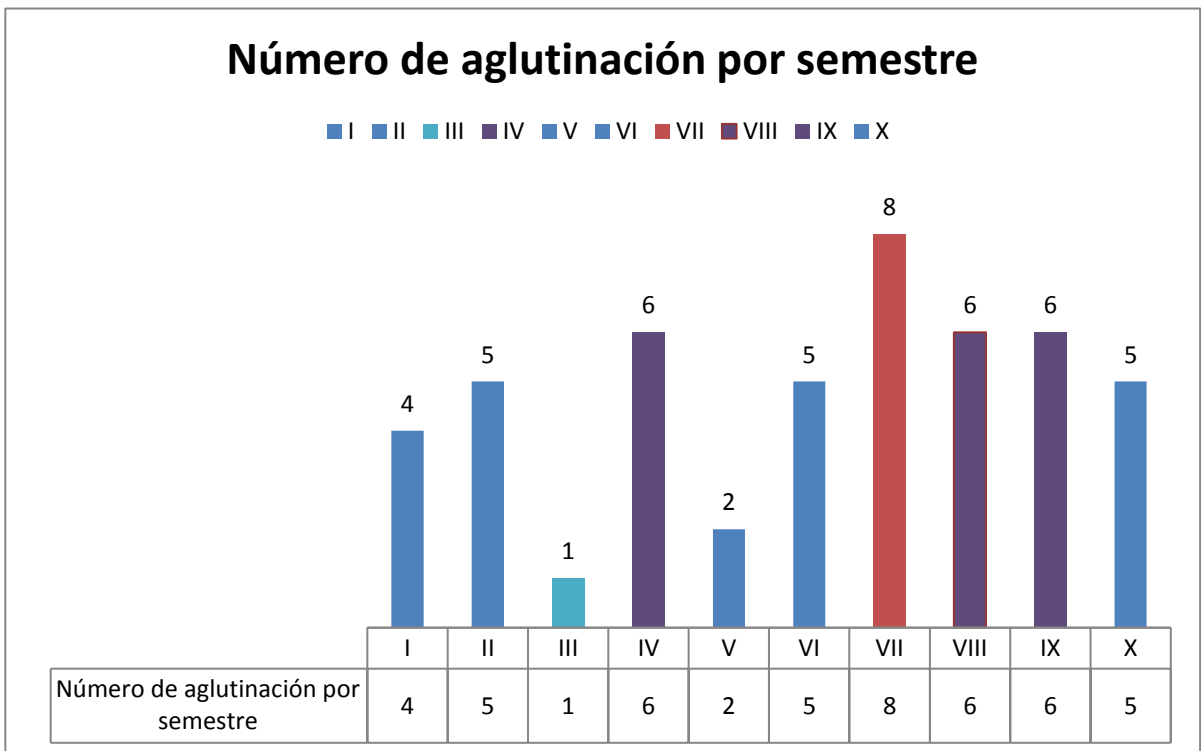
GRÁFICA 10: Número de aglutinaciones por serovar.

D. A nivel de semestre

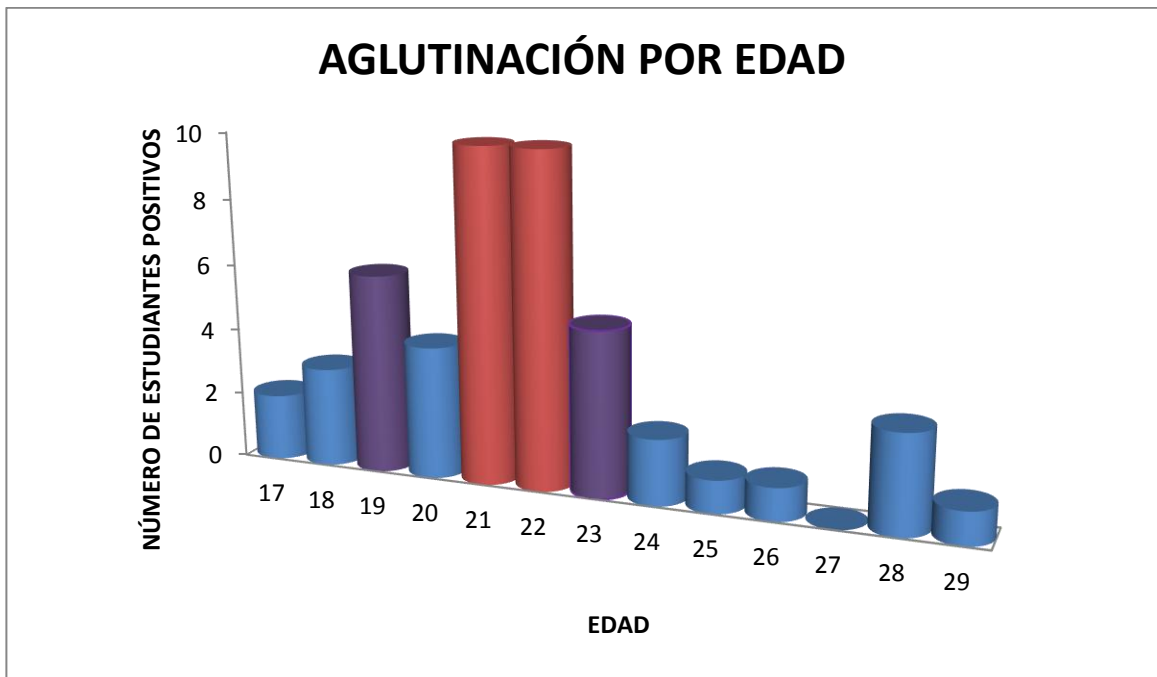
Se compararon los resultados con aglutinaciones positivas de acuerdo al semestre. Encontrándose que VIII fue el mayor porcentaje de aglutinación 16.6% frente a III semestre que presentó el menor porcentaje de aglutinación de 2% (Gráfica 7 y 8), sin embargo, en todos los semestres se evidenció positividad.



GRÁFICA 11: Porcentaje de aglutinación por semestre.

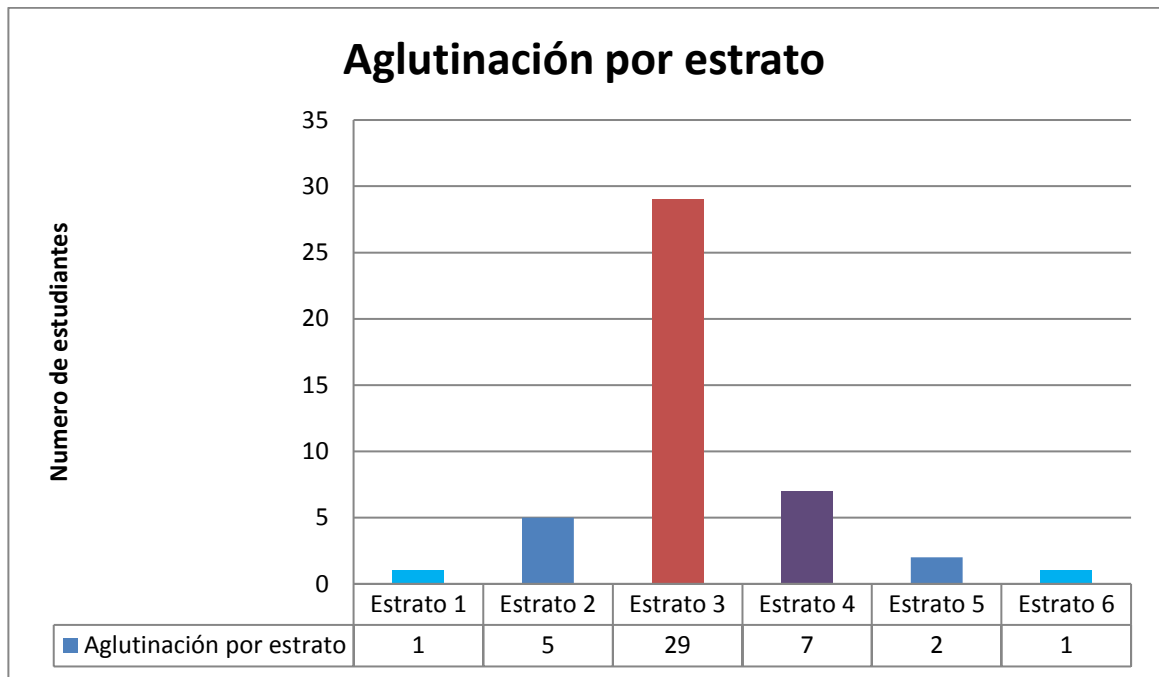


GRÁFICA 12: Número de aglutinaciones por semestre.



Gráfica 13. Aglutinación por edad de los estudiantes

La mayor aglutinación la observamos en las edades comprendidas entre los 21 y 22 años de edad. Mientras que en la edad de los 27 años no presentó ninguna aglutinación. Sin embargo, la variable edades era dispersa, y al haber mayor participación en ciertas edades, podemos observar mayor aglutinación en ellas.



Gráfica 14. Aglutinación presentada por los estudiantes acorde a su estrato económico.

Se evidenció que el estrato con más aglutinaciones presentadas fue el estrato 3 con un 64.4%, seguido del estrato 4 con un 15.5%, mientras tanto, los estudiantes de estrato 1 y 6 presentaron la menor aglutinación con respectivamente con un 2.2% respectivamente.

6 DISCUSIÓN

La caracterización serológica permitió la identificación de los diferentes serovares mediante la técnica MAT, La prueba de aglutinación microscópica por su alta sensibilidad y especificidad es la prueba de referencia⁶³ la cual detecta anticuerpos contra serovares específicos, sin embargo, presenta reacción cruzada con otros serovares y requiere el uso de sueros pareados que confirmen el aumento en los títulos, además del mantenimiento de cepas vivas susceptibles de

contaminación, siendo necesaria su realización por laboratorios especializados^{64,65}.

La seroprevalencia en estudiantes de medicina veterinaria fue del 36.3%, mayor a la reportada a la reportada por Farrar ⁶⁶ en veterinarios y operarios de matadero 15%, pero se asocia a otro estudio por Luis Alberto Carreño, en el año 2014 donde se reportaron incidencias hasta del 35%⁶⁷.

En esta universidad, pese a que en su mayoría son hombres, hubo una notoria participación del género femenino por encima del masculino, encontrándose 57% mujeres y 43% hombres. También hubo diferencias significativas para el desarrollo de la seroprevalencia, al momento de tomar en cuenta el sexo, pues el 49% de los hombres desarrollaron positividad para la técnica de microaglutinación MAT frente a un 28% en mujeres, lo que en primera instancia nos confirma la teoría de Vado⁶⁸ donde hace referencia que el hombre es más propenso a contraer la enfermedad, no por el hecho de ser hombre o que ello implique en algo, sino por sus actividades que aumentan los factores de riesgo, además al analizar la encuesta epidemiológica, podemos entender que las mujeres poseen mayores hábitos en cuanto a sus normas de bioseguridad y estilos de vida.

Las edades en las que se observó mayor aglutinación están entre 20, 21, 22 y 23 años, pero a tener en cuenta, estas mismas edades son las que mayor participación tuvieron en nuestra investigación, sin embargo, la edad juega un papel importante en la morbilidad y mortalidad de esta enfermedad pues según Lopess AA, a comparación con las personas de 19-29 años, el mayor riesgo de muerte aumenta de 3.7 veces para las personas de 40 a 49 años a 7.3 veces entre las personas de 60 años o más⁶⁹

Pese a la alta seroprevalencia de los estudiantes, ninguno presentaba síntoma alguno, los estudiantes presentaban datos antropométricos normales y gozaban de buena salud. Esto nos afirma la teoría de Anne, en la que dice que la mayoría de los pacientes en contacto a la leptospirosis aguda se recuperan completamente, y aunque las propiedades biológicas de *Leptospira* indican la propensión de estas espiroquetas a causar infección crónica, no solo en el riñón, sino también en otros órganos, incluido el cerebro; se sugiere la posibilidad de secuelas crónicas, tal vez sutiles. El sitio más obvio de infección crónica es el riñón, que debido a la orina, es un órgano de fácil acceso para el estudio. La lesión renal aguda ocurre en 40% a 70% de los episodios de leptospirosis aguda identificados, generalmente se recupera sin complicaciones crónicas⁷⁰

La alta prevalencia encontrada en este estudio sugiere una falla en las medidas de protección dentro del ejercicio profesional. Es claro que en todas las universidades, en los estudiantes de veterinaria deben existir los procedimientos y acciones respecto al control de las posibles formas de exposición a las más importantes zoonosis. Sin embargo en la práctica esto no ocurre.

Además, siguiendo los parámetros de la encuesta epidemiológica, gran parte de ellos (57.7%) tenían por mascota a caninos, el 16.2% a felinos, debido a que estos son un gran reservorio de *L. canicola* y *L. Bataviae*, se atribuye a esto el gran impacto que tuvo la aglutinación a estos dos serovores y poniendo como un factor de riesgo la estrecha relación y el impacto que ha generado las mascotas en los últimos años, ya que los caninos son hospederos definitivos del serovar *Canicola* y su patogenicidad está bien reconocida, pero también son hospederos accidentales de los serovares: *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Bratislava*, *Bataviae*, *Ballum*, *Autumnalis*, *Hardjo* y *Australis*, podrían generar un contacto indirecto con los estudiantes⁷¹ además, Los perros son una fuente importante para la infección humana en muchos países tropicales y puede ser una fuente importante para el inicio de brotes³¹

Generalmente, leptospirosis se ha asociado a estratos bajos o índices de marginalidad y pobreza, sin embargo, en la actualidad, es un problema latente y esto debido a cambios en el clima y la actividad humana especialmente en los países en vías de desarrollo³¹ y el estrato socioeconómico ya no es de interés en particular, además con nuestro estudio conocimos que con un 64.3% de aglutinación en el estrato 3 y 15.5% estrato 4, no se debe a un problema de estratos altos o bajos, sino un conjunto de factores de riesgo.

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

Tal parece que en Colombia se le da poca importancia al riesgo biológico de origen animal subestimando la magnitud, y lo que es más grave una actitud pasiva de los profesionales del sector agropecuario por esta problemática⁷² la cual se encuentra estrechamente relacionada con enfermedades de gran interés para la salud pública de la mayoría de los países, por tal motivo, el seguimiento y la evaluación del comportamiento de los factores potenciales de riesgo para la adquisición de leptospirosis es imperativo.

A diferencia de lo que ocurre en otros países en donde la enfermedad se presenta en forma de brotes o de manera esporádica, esto no ocurre regularmente en Colombia en donde la enfermedad puede estar siendo subnotificada por el cuerpo médico dada su similitud en los signos clínicos con muchas otras enfermedades tropicales, y como se mencionó anteriormente en este estudio, la falta de conocimiento de la enfermedad hace que se confunda con otras patologías similares, Esta situación ha sido asociada a factores relacionados con la resistencia del huésped, las condiciones del medio ambiente y las características del agente ^{73,74}

Este estudio demostró que la presencia de *Leptospira* patógena se distribuye ampliamente en estudiantes de medicina Veterinaria, en consecuencia, es probable que la orina de bovinos, cerdos y perros que se mantienen en contacto sea una fuente de infección por *Leptospira* para humanos, ya sea directamente o por contaminación ambiental. De acuerdo con los resultados en la presente investigación, se debe tener acciones de conciencia y extremar las medidas de protección cuando se trabaja con los diferentes reservorios de la enfermedad.⁷⁵

Se detectó principalmente *L. Bataviae*, lo que está de acuerdo con informes previos sobre la prevalencia⁷⁶ sin embargo, los estudiantes no presentaron síntomas. Según la OMS⁷⁷ La leptospirosis humana puede variar desde una leve enfermedad parecida a la gripe hasta una enfermedad grave y algunas veces mortal, presenta una amplia variedad de manifestaciones clínicas, sin embargo, para dar un diagnóstico definitivo no es suficiente la prueba MAT, además, un estudiantes que cursaba primer semestre, relacionó positividad a la aglutinación lo que sugiere que su contacto fue en un lugar distinto a la universidad.

Por otro lado, nuestro estudio se compara en similitud negativa, al estudio hecho por la secretaría distrital de salud en el año 2014, dónde así como en nuestro actual estudio, no se presentó reactividad en la aglutinación para el serovar *Hardjoprajitno*⁷⁸ que es un donde el ganado bovino es su mayor reservorio. No podemos dar con exactitud el reporte de este, pero su no reactividad nos indica una adecuada asepsia en cuanto al manejo de estos animales, además nos pone en evidencia que posiblemente tienen un adecuado manejo de la carne de estos y sus derivados, sin embargo, *Hardjoprajitno* es un serovar que hace parte del esquema de vacunas de los bovinos, sugiriéndonos que el bajo contagio de este serovar se debe también a la buena crianza que se tiene en cuanto a su producción.

Nos llama mucho la atención, la gran participación que tuvieron los estudiantes de séptimo semestre, una de sus causas podría ser que ya tienen conocimiento de esta enfermedad, sus factores de riesgo asociados entre otras cosas, lo cual fue motivo para participar de nuestro estudio, no podemos comparar con los demás semestres, pero esta podría ser una causa no muy alejada de la realidad.

Aunque *Icterohemorrhagiae* es el serovar más agresivo, pues es el que produce la leptospirosis severa⁷⁹, Ningun estudiante presentaba anticuerpos para este serovar, demostrando así el aislamiento de su principal roedor, las ratas y los ratones, quienes no viven en contacto con nosotros, como si lo tienen los demás animales reservorios como bovinos, caninos entre otros.

La prueba diagnóstica más empleada para realizar estudios de seroprevalencia de leptospirosis, es la Microaglutinación (MAT), prueba de oro recomendada por la OMS, seguida de la prueba diagnóstica de Enzimo Inmuno Análisis de Absorción (ELISA)⁶⁶. Aunque MAT posee una desventaja, pues al iniciarse con sueros en diluciones 1:100, los niveles de anticuerpos muy bajos no podrán detectarse por medio de esta técnica, pero MAT siempre nos sugiere la infección en el paciente, Si bien, ELISA nos detecta si hubo o no contacto con el antígeno, es solo por medio de MAT que podemos saber el estado de las personas a analizar leptospirosis.

Actualmente, en Colombia es una enfermedad de reporte obligatorio y las estadísticas son publicadas en el boletín epidemiológico semanal, pero como se mencionó anteriormente, la falta de un diagnóstico apropiado, genera un alto porcentaje de casos no reportados, lo que sugiere que existe una incidencia aún mayor en el país⁷

Hasta donde sabemos, este es el primer informe de una infección por *Leptospira spp* en estudiantes de medicina veterinaria. La caracterización adecuada de

leptospiras siguen siendo cuellos de botella cruciales para acceder al papel de cepas particulares de *Leptospira* en la epidemiología de la leptospirosis. Los hallazgos informados aquí también complementan una mejor comprensión de la cadena de transmisión de *Leptospira spp* y pueden promover mejores estrategias de control y prevención. A pesar de estos resultados, el papel de la infección por *Leptospira spp.* en profesionales de la salud animal sigue siendo poco conocido y requiere más investigación.

7 CONCLUSIONES

- Este estudio permitió conocer la seroprevalencia de los estudiantes de Medicina veterinaria de la universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A la cual presentó un 36% de aglutinación positiva a los serovares de *Leptospira spp* sugiriendo el contacto con la bacteria ya sea directa o indirectamente.
- La caracterización serológica permitió establecer los serovares más prevalente los cuales fueron *Batavie* en primer lugar con un 14.6 %, *Canicola* con 12.5 %. Nos permite afirmar la investigación de Haake, en la cual deduce que las mascotas como caninos y felinos pueden transmitir la bacteria causante de Leptospirosis.
- Los hombres poseen un mayor factor de Riesgo que las mujeres para adquisición de la enfermedad, por sus hábitos de higiene, bioseguridad, además por tener mayor contacto con los animales reservorios.
- Aunque hubo mayor aglutinación positiva en estudiantes de 21, 22 y 23 años, se pudo evidenciar que los serovares *Batavie* y *Canicola* no producen leptospirosis severa, sin embargo, no podemos afirmar con certeza esto y se necesitan estudios adicionales.
- El estrato ya no es un papel fundamental en la leptospirosis, pues puede presentarse en los diferentes estratos socioeconómicos.

8 RECOMENDACIONES

- Este estudio es útil ya que permite tomar medidas preventivas y de promoción de la salud que contribuyen a disminuir los índices de contagio de Leptospirosis, de ahí que se pueden generar investigaciones de orden nacional en apoyo a la Salud Pública.
- Hacer un estudio más poblacional que involucre a más estudiantes de diferentes universidades de la misma facultad lo cual implique mayor repercusión e impacto social.
- Se debe tener en cuenta otros métodos de análisis más específicos, como los estudios de Biología molecular, que permitan un diagnóstico más exacto, para correlacionar con los diferentes estadios de la infección.
- Es importante generar un seguimiento a los participantes del estudio, evaluando como mínimo sueros seriados, recolectados en diferentes semanas, para analizar su posible infección y estado de leptospirosis.
- Realizar recolección de otro tipo de muestras como orina y además, que puedan permitir un diagnóstico por otros métodos distintos a MAT, para tener una certeza del estado actual que cursa la leptospirosis.
- Incorporar charlas de educación en las universidades para incentivar hábitos de bioseguridad y medidas de prevención.

9 REFERENCIAS

1. Ozuru, R Saito, M.Kanemaru, T Miyahara, S Villanueva, Adipose tissue is the first colonization site of *Leptospira interrogans* in subcutaneously infected hamsters [Internet] [Consultado 16 de abril de 2017] Disponible en: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0172973>.
2. Instituto Nacional de Salud –. Factores de riesgo asociados a la leptospirosis [Internet] [Consultado el 16 de abril de 2017] Disponible en: www.ins.gob.pe/insvirtual/images/.../módulo%20técnico%20%20leptospirosis.pdf
3. Góngora, A.; Parra, J.; Aponte, L.; Gómez, L. (2008). Seroprevalencia de *Leptospira* spp. en Grupos de Población de Villavicencio, Colombia. 2008. *Rev. Salud Pública*, 10, 269-278.
4. Erosa-Barbachano G. Leptospirosis. *Rev Biomed* 2001; 12: 282-287.
5. Terpstra WJ. Historical perspectives in leptospirosis. *Indian J Med Microbiol* 2006; 24: 316-320
6. Ferro, B; Rodríguez, A; Pérez, M; Travi, B; (2006). Seroprevalence of *Leptospira* infection in habitants of peripheral neighborhoods in Cali, Colombia. *Biomedica*. Vol: 26(2):250-57
7. Bravo C, Restrepo M. Leptospirosis humana en Colombia: Presentación de un caso de fiebre Canpicola. *Antioq Méd* 1969 9:747-51.
8. Epstein PR, Calix Pena O, Blanco-Racedo J. Climate and disease in Colombia. *Lancet* 1995;346:1243-4.
9. Pérez-García J. Hallazgos histopatológicos en necropsias con leptospirosis. *Colombia Med* 1997;28:4-9.
10. Agudelo-Flórez P, Restrepo-Jaramillo BN, Arboleda-Naranjo M. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. *Cad Saúde Pública* 2007;23: 2094-102.

11. Ferro BE, Rodríguez AL, Pérez M, Travi BL. Seroprevalence of *Leptospira* infection in habitants of peripheral neighborhoods in Cali, Colombia. *Biomedica* 2006;26:250-7
12. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila). Vigilancia rutinaria, semana 52 del 2010 [fecha de acceso: 13 de octubre del 2017]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/SubdireccionVigilancia/sivigila/Estadsticas%20SIVIGILA/SEMANA%2052%20DE%202010.pdf>.
13. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila). Vigilancia rutinaria, semana 52 del 2011 [fecha de acceso: 13 de octubre del 2017]. Disponible en <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/SubdireccionVigilancia/sivigila/Estadsticas%20SIVIGILA/2011%20LEPTOSPIROSIS.pdf>.
14. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila). Vigilancia rutinaria, semana 38 del 2012 [fecha de acceso: 13 de octubre del 2017]. <http://www.ins.gov.co/lineasde-accion/Subdireccion-vigilancia/sivigila/Estadsticas%20SIVIGILA/2012%20LEPTOSPIROSIS.pdf>
Año 2012.
15. Macías-Herrera JC, Vergara C, Romero Vivas C, Falconar A. Comportamiento de la leptospirosis en el departamento del Atlántico (Colombia), enero de 1999 a marzo de 2004. *Salud Uninorte (Barranquilla, Col)* 2005;20:18-29.
16. Romero Vivas CM, Cuello Pérez M, Agudelo-Florez P, Thiry D, Levett P, Falconar Andrew K. Cross-sectional study of *Leptospira* seroprevalence in humans, rats, mice and dogs in a main tropical sea-port city. *Am J Trop Med Hyg* 2012.
17. Agudelo P, Restrepo B, Arboleda M, Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. [Internet][Citado el 17 de abril de 2017] Disponible en:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2007000900017

18. Vinetz JM, Glass GE, Flexner CE, Muller P, Kaslow DC. Sporadic urban Leptospirosis. *Ann Intern Med* 1996; 125: 794-798.
19. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 296–326
20. Levett PN, Branch SL, Edwards CN. Detection of dengue infection in patients investigated for leptospirosis in Barbados. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62: 112–114.
21. Tappero JW, Ashford DA, Perkins BA. Principles and practice of infectious diseases *Leptospira species (leptospirosis)* 5th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone: G. L. Mandell, J. E. Bennett, and R. Dolin(ed.); 2000.
22. García González Rafael, Reyes Torres Angélica. Leptospirosis: Un problema de Salud Pública. [Internet] [Citado el 27 de enero de 2018] disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/publicaciones.cgi?IDREVISTA=29&NOMBRE=Revista%20Mexicana%20de%20Patolog%EDa%20CI%EDnica>
23. Dong H, Hu Y, Xue F, Sun D, Oicius DM, Mao Y et al. Characterization of the ompL1 gene of pathogenic *Leptospira* species in China and cross-immunogenicity of the OmpL1 protein. *BMC Microbiol* 2008; 8: 223-234.
24. Ko AI, Goarant C, Picardeau. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 736-747.
25. Trueba G, Zapata S, Madrid K, Cukken O, Haake D. Cell aggregation a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in freshwater. *Int Microbiol* 2004; 7: 35-40.
26. Navarrete-Espinosa J, Acevedo-Vales J, Huerta-Hernández E, Torres-Barranca J, Gavaldón-Rosas DG. Prevalencia de anticuerpos contra dengue y *Leptospira* en la población de Jáltipan, Veracruz. *Sal Pub Mex* 2006; 48: 220-228.

27. Abuauada MC, Osorio SG, Rojas PML, Lorena-Pino V. Leptospirosis: Presentación de una infección fulminante y revisión de la literatura. *Rev Chil Infect* 2005; 22: 93-97.
28. Noguchi H, Kligler J. Experimental studies on yellow fever occurring in Merida. Yucatán. *J Exp Med* 1920; 32: 601-625.
29. Abuauada MC, Osorio SG, Rojas PML, Lorena-Pino V. Leptospirosis: Presentación de una infección fulminante y revisión de la literatura. *Rev Chil Infect* 2005; 22: 93-97.
30. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud e International Leptospirosis Society. Leptospirosis humana: Guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Serie de Manuales Técnicos, 12. VP/OPS/OMS, 2008 [internet] [citado 26 de enero de 2018]. Disponible en: www2paho.org/hq/dndocuments/WHO-Guia-Lepto-2003-spa.pdf
31. Céspedes Z Manuel. Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente. *Rev. perú. med. exp. salud publica* [Internet]. 2005 Oct [citado 2018 Mayo 22] ; 22(4): 290-307. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342005000400008&lng=es
- B. Brihuega B. Leptospirosis: Diagnóstico y tipificación de Leptospiras. En: Cacchione R, Durlach R, Martino P (eds). Tema de Zoonosis IV. Buenos Aires, Arg: Asociación Argentina de Zoonosis, 2008: 224-22.
32. Hartskeer IRA. International Leptospirosis Society. Objectives and achievements. *Rev Cub Med Trop* 2005; 57: 7-10.
33. Hartskeer IRA, Collares-Pereira M, Ellis WA. Emergence, control and re-emerging leptospirosis; dynamics of infection in the changing world. *Clin Microbiol Infect* 2001; 494-501.
34. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol* 2001;14:296-326.
35. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA et al. Peru-United States Leptospirosis Consortium, Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis* 2003;3:757-71.

36. Choy HA, Kelley MM, Chen TL, Møller AK, Matsunaga J, Haake DA. Physiological osmotic induction of *Leptospira interrogans* adhesion: LigA and LigB bind extracellular matrix proteins and fibrinogen. *Infect. Immun* 2007;75:2441e2450.
37. Góngora, A.; Parra, J.; Aponte, L.; Gómez, L. (2008). Seroprevalencia de *Leptospira* spp. en Grupos de Población de Villavicencio, Colombia. 2008. *Rev. Salud Pública*, 10, 269-278
38. Ko AI, Goarant C, Picardeau. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 736-747.
39. Nascimento LTO, Ko AI, Martins AEL, Monteiro-Vitorello CB, Ho PL, Haake DA et al. Comparative genomics of two *Leptospira interrogans* serovars reveal novel insights into physiology and pathogenesis. *J Bacteriol* 2004; 186: 2164-2172.
40. Barocchi MA, Ko AI, Reis MG, McDonald KI, Tiley LW. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintra-cellular pathogen. *Infect Immun* 2002; 70: 6926-6932.
41. Ristow P, Bourhy P, da Cruz McBride FW, Figueira CP, Huerre M, Ave P et al. The OmpA-like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence. *PLoS Pathog* 2007;3:e97.
42. Stevenson B, Choy HA, Pinne M, Rotondi ML, Miller MC, Demoll E et al. *Leptospira interrogans* endostatin-like outer membrane proteins bind host fibronectin, laminin and regulators of complement. *PLoS One* 2007;2:e1188.
43. Pinne M, Haake DA. LipL32 Is a Subsurface Lipoprotein of *Leptospira interrogans*: presentation of new data and reevaluation of previous studies. *PLoS One* 2013;8(1):e51025. doi: 10.1371/journal.pone.0051025.
44. Haake DA. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology* 2000;146:1491- 50.

45. Barocchi MA, Ko AI, Reis MG, McDonald KI, Tiley LW. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintra-cellular pathogen. *Infect Immun* 2002; 70: 6926-6932.
46. Matsunaga J, Barocchi MA, Croda J, Young TY, Sánchez Y, Siqueira I et al. Pathogenic *Leptospira* species express surface-exposed proteins belonging to the bacterial immunoglobulin superfamily. *Mol Microbiol* 2003; 49: 929-945.
47. Nascimento LTO, Ko AI, Martins AEL, Monteiro-Vitorello CB, Ho PL, Haake DA et al. Comparative genomics of two *Leptospira interrogans* serovars reveal novel insights into physiology and pathogenesis. *J Bacteriol* 2004; 186: 2164-2172.
48. Bhamarapravati N, Boonyapaknavig V, Viranuvatti V, et al. Liver changes in leptospirosis. A study of needle biopsies in twenty-two cases. *Am J Pathol* 1966; 17: 480-84.
49. Lal KN, Aarons I, Woodroffe AJ, et al. Renal lesions in leptospirosis. *Aust NZ J Med* 1982; 12: 276-79.
50. Sheldon WH. Lesions of muscle in spirochetal jaundice (Weil's disease: spirochetosis icterohemorrhagica). *Arch Intern Med* 1945; 75: 119-24.
51. Terpstra WJ. Historical perspectives in leptospirosis. *Indian J Med Microbiol* 2006; 24: 316-320.
52. Cinco M. New insights into the pathogenicity of leptospires: evasion of their host defences. *New Microbiol*. 2010; 33: 283-292
53. Faine S. *Leptospira and leptospirosis*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994: 353.
54. Velasco-Castrejón O. Seguimiento de pacientes con leptospirosis crónica. Mem Symp Importancia de la Leptospirosis como una zoonosis reemergente en México. México ISB: Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, SSa, 1998: 9-12.
55. Avdeeva MG. Outcome and tendency of late convalescence in icterohaemorrhagic leptospirosis. *Klin Med (Mosk)* 2003; 81: 42-47.

56. Elizalde 2004 Elizalde CAA, Tenorio GG, Velasco-Castrejón O. Identificación de *Leptospira* en la patogénesis de la uveítis crónica en la Ciudad de México. *Rev Mex Oftalmol* 2004; 78: 165-170.
57. OIE. Leptospirosis (Chapter 2.2.4). In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. 5th ed., 2004. Available in: www.oie.int/en/international-standar-setting/terrestrial-manual/access-online/
58. Dolhnikoff M, Mauad T, Bethlem EP, Ribeiro CR. Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis. *Bras J Infect Dis* 2007; 11: 142-148.
59. Noguchi H, Kligler J. Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated from a case of yellow fever in Merida, Yucatán. *J Exp Med* 1920; 32: 627-637
60. Zavala José Osiel Jasso Obregón Edgar Martínez-Bautista, Seroprevalence and Risk Factors associated with Leptospirosis (*L. interrogans*) in Bovine Cattle in Northeastern Mexico 2012.
61. Carreño Luis, Prevalencia de Leptospirosis en Colombia; Revisión Sistemática de Literatura. 2014 [Internet][Citado 2 febrero 2018] Disponible en : <http://www.bdigital.unal.edu.co/43120/1/7164566.2014.pdf>
62. Cole JR, Sulzer CR, Pursell AR. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl Environ Microbiol* 2013; 25: 976–980.
63. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2011; 14: 296–326.
64. Bajan MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, Plikaytis BD, Perkins BA, Phelan M, Levett PN, Weyant RS. Evaluation of Four Commercially Available Rapid Serologic Tests for Diagnosis of Leptospirosis. *J Med Microbiol* 2003; 41(2): 803–809.
65. Farrar W. Especies de *Leptospira* (Leptospirosis) IN: Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica. Mandell G, Gordon, R, Bennett J. Cuarta Edición; 1995.

66. Carreño Luis, Prevalencia de Leptospirosis en Colombia; Revisión Sistemática de Literatura Universidad Nacional de Colombia. [internet] [Consultado el 17 de Abril de 2017] Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/43120/1/7164566.2014.pdf>
67. VADO-SOLÍS Ignacio, CÁRDENAS-MARRUFO María F., JIMÉNEZ-DELGADILLO Bertha, ALZINA-LÓPEZ Alejandro, LAVIADA-MOLINA Hugo, SUAREZ-SOLÍS Víctor et al . Clinical-epidemiological study of leptospirosis in humans and reservoirs in Yucatán, México. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo [Internet]. 2002 Dec [cited 2018 May 22] ; 44(6): 335-340. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652002000600008&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652002000600008>
68. Lopes AA, Costa E, Costa YA, Sacramento E, De Oliveira AR, Junior, Lopes MB, Lopes GB. Comparative study of the in-hospital case-fatality rate of leptospirosis between pediatric and adult patients of different age groups. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2004;46:19–24
69. Spichler A, Athanzio D, Seguro AC, Vinetz JM. Outpatient follow-up of patients hospitalized for acute leptospirosis. Int J Infect Dis. 2011;15:e486–e490
70. Collares, P.M.; Mathias, M.L.; Santos, R.M.; Ramalhinho, M.G.; Duarte, R.P. Rodents and Leptospira transmission risk in Terceira Island (Azores). Eur J Epidemiol, v. 16,n.12, p.1151-1157, 2000.
71. Tan JS. Human zoonotic infections transmitted by dogs and cats. Arch Intern Med 2012; 157:
72. Cediél B, Natalia M, Villamil LC. Riesgo biológico ocupacional en la medicina veterinaria, área de intervención prioritaria. Rev Salud Publica 2014; 6(1): 28-43.
73. Atienzar E, Espino R, López C, Sed O, Alonso L. Brote de leptospirosis en la provincia de Camaguey y Las Tunas. Diagnóstico serológico,

características clínicas y aislamiento microbiológico. Rev Cubana Med Trop 2015; 37: 105-112.

74. Pérez-García JA. Hallazgos histopatológicos en necropsias de leptospirosis. Colomb Med 1997; 28(1): 4-9.
75. BG Corney , AT Slack , ML Symonds , MF Dohnt , CS McClintock , MR McGowan , LD Smythe *Leptospira weilii* serovar topaz, un nuevo miembro del serogrupo Tarassovi aislado de una fuente bovina en Queensland, Australia Int. J. Syst. Evol. Microbiol. , 58 (2008) , pp. 2249 – 2252
76. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control World Health Organization, Geneva (2003)
77. Luzlady Chavarría Joy Daniela Lara Gutiérrez William Méndez Hurtado Johanna Moscoso Gama, *Leptospira*: revisión del agente causal de una enfermedad zoonótica, Biociencia, 2015.
78. Da Cunha, C.E., Felix, S.R., Neto, A.C., Campello-Felix, A., Kremer, F.S., Monte, L.G., Amaral, M.G., de Oliveira Nobre, M., da Silva, É.F., Hartleben, C.P., et al., 2016. Infection with *Leptospira kirschneri* serovar mozdok: first report from the southern hemisphere. Am. J. Trop. Med. Hyg. 94, 519–521
79. Instituto Nacional de Salud – reportes SIVIGILA 2010. Garretty, G.M.; Chóez, G. A. (20011). Factores de riesgo asociados a la leptospirosis en la Parroquia Calderón del Cantón Portoviejo Provincia de Manabí, durante Enero a Diciembre del 2010. 2011; FCSTG; MEDC-0040.
80. Bruno Alonso, Aline Gil Alves Guilloux Molecular and serological characterization of the first *Leptospira santarosai* strain isolated from a dog, 2016, Acta Trópica, 162, 1-4.

ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

IDENTIFICACIÓN DE BRÚCELA SPP, Y LEPTOSPIRA SPP COMO CAUSANTES DE ENFERMEDAD ZOOTICA EN ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y APLICADAS U.D.C.A.

CONSENTIMIENTO Y AUTORIZACIÓN

Fecha: _____

Nombres y apellidos: _____

Estimado paciente:

Estamos realizando un estudio sobre la prevalencia de enfermedades zoonotica o

marcadores de las mismas en personal considerado de alto riesgo para estas entidades y su participación es de vital importancia para llevar a cabo nuestros propósitos, su aporte sería de gran ayuda para futuros pacientes ya que con base en estos datos se podría determinar la prevalencia de patógenos zoonóticos y un posible perfil epidemiológicos de las entidades y microorganismos causales. Dicha participación consiste en:

1. Su aprobación para la toma de una muestra de sangre en los días y horas en que el profesional o investigador lo cite. Él tomara todas las normas de bioseguridad de tal forma que usted no corra ningún riesgo.
2. Su aceptación para que a dicha muestra de sangre se le realicen las determinaciones de lípidos, glicemia, insulina, homocisteína y otras pruebas posteriores derivadas del estudio.
3. El consentimiento para realizarle una historia clínica y una encuesta anónima
4. En caso de que acepte, la información que se nos proporcione se utilizará de forma confidencial y para propósitos exclusivos de la investigación científica.
5. Por su seguridad, las muestras serán codificadas de tal forma que nadie podrá saber a quién le pertenecen, únicamente los investigadores tendrán acceso a dicha información
6. Su participación es voluntaria y el tratamiento o atención que usted recibe en esta institución no se verá afectado si usted decide no participar en este estudio.
7. Además, está en libertad de retirarse cuando: lo considere conveniente, si no está de acuerdo con el estudio o si tiene algún impedimento social, cultural o religioso
8. La investigación tendrá una duración total de 24 meses, pero su tiempo de participación será únicamente de 1 o 2 días máximo. Tiempo en el cual se le tomará una muestra de sangre y se le citara para realizarle inmediatamente la historia clínica y posteriormente la encuesta.
9. El entrar Ud. a participar en esta investigación no le genera un beneficio económico.
10. Los resultados del estudio se darán a conocer una vez finalizado el proceso de la investigación, mediante exposición oral del trabajo a la población estudiada.
11. Puede solicitar el acceso a sus datos, así no sean de utilidad para su condición, excepto si el comité acepta explícitamente mantenerlos en secreto.
12. Puede realizar las preguntas que considere pertinentes en cualquier momento del estudio.

Este consentimiento informado ha pasado por revisión y aprobación del comité de bioética de la UCMC.

Habiendo sido enterado (a) del contenido de la presente y resueltas todas mis inquietudes acerca de la investigación, yo

Acepto participar voluntariamente en este estudio

Firma: _____

c.c nro. _____

GENERO	M	F	FECHA DE NACIMIENTO										D	M	A	
DIRECCIÓN DE RESIDENCIA																
CORREO ELECTRÓNICO																
TELEFONOS																
FACULTAD																
CARRERA																
1. Año de vinculación a la Universidad																
2. ¿De la siguiente lista marque con una X la(s) especie(s) con la(s) que ha tenido contacto y el lugar?																
Si su respuesta es NINGUNA por favor pase a la pregunta No 4																
			Caninos	Felinos	Porcinos	Equinos	Bovinos	Bubalinos	Caprinos	Ovinos						
Casa																
Fincas																
Universidad																
Calle																
Trabajo																
Parques temáticos																
Parques zoológicos																
Zocriaderos																
Otros ¿Cuál?																
			Roedores	Mamíferos silvestres	¿Cuál?											NINGUNA
Casa																
Fincas																
Universidad																
Calle																
Trabajo																
Parques temáticos																
Parques zoológicos																
Zocriaderos																
Otros ¿Cuál?																
3. Con que frecuencia tiene contacto con las siguientes especies animales																
			DIARIO	SEMANAL	MENSUAL	OCASIONAL	NUNCA									
Canino																
Felino																
Porcino																
Equinos																
Ovinos																
Caprinos																
Bovinos																
Bubalinos																
Roedores																
Especies silvestres																
4. ¿Ha consumido agua proveniente de?																

		SI	NO	CRUDA	HERVIDA	COLORADA	FILTRADA	OZONISADA
	Pozo profundo							
	Acueducto							
	Cisterna							
	Pipa							
	Rio							
	Represa							
	Charco							
	Lluvia							
5.	¿Emplea las medidas de protección durante sus labores con animales?							
		Casa	Finca	Universidad	Trabajo			
	Bata							
	Botas							
	Guantes							
	Tapabocas							
	Gafas							
	Petoprotector							
	Máscaras con filtro							
	Ninguna							
6.	¿Con que frecuencia emplea los elementos de protección?							
		Casa	Finca	Universidad	Trabajo			
	Diario							
	Semanal							
	Mensual							
	Esporádicamente							
	Nunca							
7.	¿Le han aplicado alguna de las siguientes vacunas							
		SI	NO					
	Rabia							
	Tetano							
	Fiebre amarilla							
				DOSIS		REFUERZOS		
		AÑO	1	2	3	Semestral	Anual	Decenal
	Rabia							
	Tetano							
	Fiebre amarilla							
8.	¿Ha tenido pérdida de peso el último año?		SI	NO	Causa			

9.	¿Le han diagnosticado alguna de las siguientes enfermedades?														
								SI		NO		FECHA			
	Rabia														
	Tuberculosis														
	Tétano														
	Fiebre amarilla														
	Brucella														
	OTRAS ¿Cuál(es)?														
10.	¿Cuál(es) de estos animales posee usted como mascota en su casa?														
	Si su respuesta es NINGUNA por favor pase a la pregunta No 16														
												AÑO			
								1		2		3	Más ¿Cuántos?	DESDE	HASTA
	Perro														
	Gato														
	Hamster														
	Ratón														
	Tortuga														
	Loro														
	Guacamalla														
	Mono														
	Iguana														
	Peces														
	Otra ¿Cuál(es)?														
	NINGUNA														
11.	En qué lugar mantiene a su(s) mascota(s)														
	Dentro de la casa			Especifique el espacio											
	En el patio														
	En la calle														
	En la finca														
12.	Comparte con su mascota el uso de los siguientes elementos														
													SI		NO
	Camas														
	Sofas														
	Platos														
	Cubiertos														
	Vasos o pocillos														
	Toallas														
	Otros ¿Cuál(es)?														
13.	Vacuna y vermifuga la(s) mascota(s) que ha tenido a su cargo														
															ESPECIE(ES)
	Siempre														

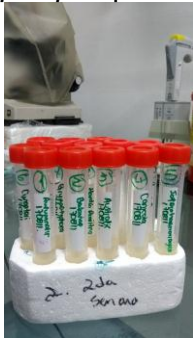


ANEXO 3 : Fotografías

Fotografía 1. Sueros en alícuotas, identificados y listos para procesar.



Fotografía 2. Diluciones para la prueba MAT



<p>Fotografía 3. 13 Serovares certificados de <i>Leptospira</i> para la prueba MAT</p> 	<p>Fotografía 4. Cámara para realización de la prueba MAT</p> 
<p>Fotografía 5. Realización de la prueba MAT</p> 	<p>Fotografía 6. Reacciones positivas y negativas prueba MAT</p> 