

COMUNICACIÓN BREVE

Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali

Ana Lucía Rodríguez ¹, Beatriz Eugenia Ferro ¹, María Ximena Varona ¹,
Mauricio Santafé ²

¹Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, CIDEIM, Cali, Colombia.

²Centro de Zoonosis, Secretaría de Salud Municipal, Cali, Colombia.

En Cali, y en Colombia en general, se desconoce la epidemiología de la leptospirosis en ambientes urbanos. Además, el papel del perro en el ciclo de transmisión en dichos ambientes no es claro. Para explorar esta situación, realizamos un estudio serológico en Cali a 197 sueros de perros callejeros durante el 2001 y el 2003, utilizando la prueba de microaglutinación (MAT). En la prueba se incluyeron 7 serovares: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Gryppotyphosa, Hardjo cepa Hardjobovis, Pomona, Hardjo cepa Hardjoprajitno y Bratislava aportados por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) de Tuluá. La prueba se interpretó como positiva por la presencia de una aglutinación $\geq 50\%$ de las leptospiras, con uno o más serovares, en una dilución del suero $\geq 1:100$. Encontramos evidencia de infección en el 41,1% de los perros con, al menos, uno de los serovares. La mayor reactividad fue a Icterohaemorrhagiae con 55,6% del total de los seropositivos. Se presentaron 48,1% de coaglutinaciones. No se registraron reacciones contra los serovares Pomona, Hardjo cepa Hardjoprajitno y Bratislava. Estos hallazgos sugieren que el perro callejero es un posible reservorio de leptospira en Cali y resaltan la necesidad de estudiar la epidemiología de la enfermedad en esta ciudad.

Palabras clave: leptospirosis, perros, ambiente urbano, serovares, MAT, Cali.

Exposure to *Leptospira* in stray dogs in the city of Cali

In Colombia, little information is available concerning the epidemiology of leptospirosis in urban environments. Furthermore, the role of dogs in the transmission cycle of leptospirosis in the urban setting is unclear. To explore the potential role of canines in the transmission of leptospirosis in Cali, a serological study was conducted with 197 serum samples collected from stray dogs during 2001 and 2003. Serum specimens were screened with the Microscopic Agglutination Test (MAT) and 7 serovars - Icterohaemorrhagiae, Canicola, Gryppotyphosa, Hardjo strain Hardjobovis, Pomona, Hardjo strain Hardjoprajitno and Bratislava. All serovars were provided by the Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Tuluá, Colombia. The MAT was considered positive when 50% or more leptospiras were agglutinated with one or more serovars in a serum dilution of 1:100. At least one serovar showed evidence of infection in 41.1% of the dogs. The most prevalent serovar was Icterohaemorrhagiae, found in 55.6% of the seropositive dogs. 48.1% were co-agglutinations. No reactions against the serovars Pomona, Hardjo strain Hardjoprajitno and Bratislava were observed. These findings suggested that stray dogs are potential reservoirs of *Leptospira* in Cali and underscored the need to study the epidemiology of this disease in Colombia.

Key words: leptospirosis, dogs, urban environment, serovars, MAT, Cali.

Correspondencia:

Ana Lucía Rodríguez, CIDEIM, Avenida 1 Norte No. 3-03,
Cali, Colombia.

Teléfono: 668 2164; fax: 667 2989
cideim@cideim.org.co

Recibido: 04/02/04; aceptado: 08/07/04

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial que recientemente ha sido catalogada como una enfermedad reemergente (1,2). Es producida por espiroquetas del género *Leptospira*, el cual comprende más de 260 serovares. Los serovares antigénicamente relacionados se han agrupado en serogrupos y son ampliamente

utilizados para el entendimiento epidemiológico de la enfermedad (3).

Los reservorios implicados en la transmisión de la enfermedad comprenden una variedad de animales domésticos como vacas, cerdos, caballos, cabras, ovejas, perros y gatos, y roedores como ratones y ratas. Estas últimas han sido consideradas los principales reservorios de leptospiras en todo el mundo (4). En general, los reservorios sufren una colonización de los túbulos renales por las leptospiras que, luego, son excretadas en la orina durante años (5). El hombre y otros animales se pueden infectar en forma directa por contacto de las mucosas o la piel lesionada con las leptospiras presentes en la orina y, en forma indirecta, al ingerir agua y alimentos contaminados (6).

Aunque la leptospirosis ha sido tradicionalmente catalogada como una enfermedad ocupacional y de ambientes rurales, recientemente la aparición de epidemias urbanas emerge como un problema de salud pública en países en desarrollo (7). Ciertas condiciones de tipo social, económico, demográfico y de urbanización podrían favorecer la presencia de leptospirosis en estas áreas (7). Algunos factores específicos han sido identificados en la transmisión de leptospiras en estos ambientes, como la deficiencia en los servicios sanitarios básicos, el inadecuado manejo de basuras, la presencia de aguas estancadas aledañas a la vivienda y el contacto con roedores (4,8). Adicionalmente, los perros pueden infectarse, sufrir la enfermedad o ambas, o ser fuente de infección para el humano, y constituirse en un factor importante para el riesgo de infección por leptospiras en áreas urbanas (6). Sin embargo, la importancia de los perros en esta cadena de transmisión puede ser diferente en distintas áreas geográficas (9).

La información sobre leptospirosis en Cali es limitada. No obstante, en el 2002 se notificaron 697 casos clínicos de leptospirosis, distribuidos especialmente en las comunas 2, 5, 6, 7, 8, 10, 13, 17 y 19 (datos sin publicar, Informe de la Oficina de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali). Estas comunas dividen a la ciudad en áreas político-administrativas que abarcan varios barrios. Entre junio de 2002 y abril

de 2003 se confirmaron serológicamente 7 casos de leptospirosis por medio de la prueba de microaglutinación (MAT), ELISA o ambas. Algunos de estos sueros reaccionaron con 2 de los 7 serovares disponibles para la prueba de MAT, *Icterohaemorrhagiae* y Hardjo cepa Hardjobovis (Memorias, XI Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Biomédica 2003; 23(Supl.1):26).

Para el 2003 se notificaron 380 casos en toda la ciudad provenientes principalmente de las comunas 1, 6, 7, 13 y 14 (datos sin publicar, Informe de la Oficina de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali, enero de 2004). En cuanto a la información disponible en reservorios como perros y roedores, es aún más limitada y escasa.

El objetivo de este estudio fue determinar la exposición a leptospiras en una población de perros callejeros del área urbana de Cali y determinar la reactividad frente a siete serovares de *Leptospira* por medio de la prueba de MAT.

Materiales y métodos

Área de estudio y población

Se llevó a cabo un estudio descriptivo en 197 perros callejeros que provenían de 12 de las 21 comunas de Cali. Estos perros se encontraron deambulando en la ciudad y fueron recogidos al azar durante el 2001 y el 2003 por el Centro de Zoonosis, entidad encargada del programa de control de rabia.

Sueros de perros

La captura de los perros y la recolección de las muestras fue aprobada por el comité para el manejo de animales experimentales de CIDEIM y amparada bajo el Decreto 2257 de 1986 en su artículo 49.

Se obtuvieron 5 ml de sangre en tubo sin anticoagulante (Vacutainer®) por venopunción de la metatarsiana recurrente o de la yugular, previa sedación de los perros con acepromazina (0,02 mg/kg por vía intramuscular). Las muestras de sangre fueron enviadas a temperatura ambiente a CIDEIM. El suero se separó por centrifugación a 1.500 rpm durante 10 minutos y se conservó a

-20°C hasta su posterior procesamiento. Como control positivo se utilizó un suero de caballo con títulos iguales a 1:50 para los serovares *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Gryppotyphosa*, *Hardjo* cepa *Hardjobovis* y *Pomona* donado por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) de Tuluá. El control negativo fue un suero canino sin reactividad probada por MAT a ninguno de los 7 serovares del estudio. Como control de antígenos se utilizó solución salina amortiguada con fosfatos (SAF).

Prueba de MAT

La prueba de MAT se realizó usando la metodología convencional (10) con un panel de 7 serovares de *Leptospira* como antígenos vivos. Los serovares incluidos fueron: *Icterohaemorrhagiae* cepa RGA, *Canicola* cepa *Hond Utrecht IV*, *Gryppotyphosa* cepa *Moskva V*, *Hardjo* cepa *Hardjobovis*, *Pomona* cepa *Pomona*, *Hardjo* cepa *Hardjoprajitno* y *Bratislava* cepa *Jez Bratislava* proporcionados por el ICA de Tuluá. Estos serovares fueron enviados al ICA por el Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ, Buenos Aires, Argentina) y cultivados en medio líquido *Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris* (Difco). La prueba se hizo en microplacas de 96 pozos agregando 50 µl de cada antígeno a 50 µl del suero previamente diluido 1:50 con SAF. Las placas se cubrieron y se incubaron por 1 hora a 37°C. La prueba se interpretó como positiva cuando se observó por microscopía de campo oscuro con objetivo de 10X una aglutinación igual o mayor al 50% de las leptospiras con cualquiera de los serovares, en una dilución del suero de 1:100. Los sueros positivos se titularon con diluciones seriadas dobles.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de la población y se determinó la prevalencia de leptospirosis en perros callejeros con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Los datos se analizaron con el programa SPSS para Windows.

Resultados

Evidencia de exposición previa

Se obtuvo 41,1% [IC95%: 34,2-48,0] de aglutinaciones contra uno o más serovares de

Leptospira en los sueros procesados. El serovar más frecuentemente aglutinado por los sueros evaluados fue *Icterohaemorrhagiae* (55,6%), seguido por *Hardjo* cepa *Hardjobovis* (54,3%), *Gryppotyphosa* (45,7%) y *Canicola* (38,3%). Los títulos para *Icterohaemorrhagiae* estuvieron entre 1:100 y 1:3.200 y para los demás serovares, entre 1:100 y 1:12.800. Ninguno de los sueros evaluados aglutinó con los serovares *Pomona*, *Hardjo* cepa *Hardjoprajitno* o *Bratislava*.

Distribución de perros serorreactivos por comunas

En todas las comunas estudiadas se encontró evidencia de infección previa con, al menos, uno de los serovares.

Patrones de coaglutinación

Se presentaron coaglutinaciones (presencia de anticuerpos contra dos o más serovares) en el 48,1% [IC95%: 37,3-59] de los 81 perros seropositivos. El 21% [IC95%: 13-31,7] (n=17) de los perros positivos presentó anticuerpos contra tres serovares, el 14,8% [IC95%: 8,2-24,8] (n=12) con dos serovares y el 12,3% [IC95%: 6,4-22] (n=10) con cuatro serovares. Los patrones de coaglutinación más frecuentes fueron *Gryppotyphosa*-*Hardjo* (*Hardjobovis*)-*Canicola* y *Hardjo* (*Hardjobovis*)-*Icterohaemorrhagiae*-*Canicola*-*Gryppotyphosa*.

Discusión

Este estudio mostró una alta seropositividad a algunos serovares de *Leptospira* en la población canina estudiada, lo cual proporciona evidencia de exposición previa a este agente transmisible en Cali. Un estudio realizado en caninos en Montería (Colombia) reveló la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* al encontrar una seropositividad de 27,3% al hacer diluciones seriadas del suero desde 1:25 hasta 1:100 (11). Otros estudios hechos en ambientes suburbanos y en perros con hábitos callejeros han encontrado seropositividades del 57% (Buenos Aires, Argentina) (4) y 62% (Barbados) (12), utilizando diluciones del suero a partir de 1:100.

En este estudio, la reacción más frecuente fue al serovar *Icterohaemorrhagiae*, el cual tiene a los

roedores como reservorio principal (12), seguida por la reacción al serovar Hardjo cepa Hardjobovis, frecuentemente asociado con bovinos. Los hallazgos de esta encuesta serológica contrastan con lo encontrado por Navarrete y colaboradores en su estudio realizado en Montería, en el cual el serovar con la mayor seropositividad fue *Canicola* con 5,33% (11). Además, difieren de lo observado en Estados Unidos, Canadá, Italia y Escocia donde se ha encontrado evidencia de infección por otros serovares, principalmente Bratislava, Grippotyphosa y Pomona (14,15); estos dos últimos se consideran serovares emergentes en la leptospirosis canina (16). Los autores plantean que la seroprevalencia podría deberse al contacto de los perros en áreas suburbanas con zorrillos y mapaches, los cuales sirven como reservorios para los serovares Pomona y Grippotyphosa (16).

Las vacunas comerciales que están disponibles para caninos, contienen leptospiras patógenas inactivadas de los serovares Icterohaemorrhagiae y *Canicola*, las cuales inducen protección específica que puede persistir, al menos, 6 meses después de la vacunación (13). En nuestro estudio los perros recogidos se encontraron deambulando en la vía pública por lo que se asume una baja o nula cobertura de vacunación contra *Leptospira* y, por tanto, las reacciones positivas obtenidas contra estos serovares no corresponderían a anticuerpos generados por una vacunación reciente.

Obtuvimos 48,1% de coaglutinaciones. Estos hallazgos coinciden en parte con Rubel y colaboradores (1997) (4) quienes encontraron 82% de coaglutinaciones con dos o más serovares y el patrón de coaglutinación más frecuente fue *Canicola*-*Pyrogenes*. En un estudio realizado en Italia por Scanziani y colaboradores (15) se encontró que el patrón de coaglutinación más frecuente fue Bratislava-Grippotyphosa. Estas reacciones cruzadas entre serovares han sido ampliamente reconocidas y se explican por la presencia de antígenos compartidos entre serovares y serogrupos (15). La discriminación entre exposición a múltiples serovares y reacciones cruzadas requiere el aislamiento de las leptospiras en cultivo y su identificación para

establecer los serovares circulantes en una determinada región.

La determinación de anticuerpos ha resultado ser una herramienta confiable para el diagnóstico de leptospirosis en perros (16) y la prueba MAT es considerada la prueba de oro para el diagnóstico serológico de leptospirosis (8,10). Infortunadamente, esta prueba está disponible sólo en los laboratorios que cuentan con el personal capacitado y que pueden mantener múltiples serovares en cultivo permanente. En nuestro estudio, la evaluación de los anticuerpos se realizó con 7 serovares que representan 6 de los 23 serogrupos de la clasificación serológica de leptospiras (8), por lo que aún se requieren estudios más amplios que disminuyan la posibilidad de registrar falsos negativos.

En todas las comunas estudiadas se encontraron muestras positivas para *Leptospira*, aún en aquellas que se encontraban distantes al río Cauca y sus afluentes, que no serían potencialmente las zonas más inundables y de mayor riesgo de Cali. Esto sugiere una causa multifactorial para la transmisión de leptospirosis que involucra la presencia permanente de roedores, basureros crónicos y canales de aguas lentas, entre otros.

Los resultados de este estudio insinúan que el perro callejero podría ser un reservorio de *Leptospira* en el área urbana de Cali y marcan la necesidad de realizar estudios epidemiológicos que determinen si es necesario adoptar políticas de prevención y control de esta patología infecciosa.

Agradecimientos

Los autores del presente artículo le agradecen a Nancy Saravia por la revisión crítica del manuscrito. A Bruno Travi por su animación para realizar este estudio y por sus sugerencias y aportes al documento y a Martha Faride Rueda por el apoyo logístico. Al ICA de Tuluá por la donación de los serovares, los controles y el entrenamiento en los procedimientos diagnósticos para leptospirosis y a la Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali por la información suministrada.

Referencias

1. **Ochoa J, Sánchez A, Ruiz I.** Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Rev Panam Salud Pública* 2000;7:325-31.
2. **Katz A, Ansdell V, Efler P, Middleton C, Sasaki D.** Leptospirosis in Hawaii, 1974-1988: epidemiologic analysis of 353 laboratory-confirmed cases. *Am J Trop Med Hyg* 2002;66:61-70.
3. **Levett P.** Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:296-326.
4. **Rubel D, Seijo A, Cernigoi B, Viale A, Wisnivesky-Colli C.** *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. *Rev Panam Salud Pública* 1997;2:102-5.
5. **Aiello S, Mays A.** The Merck veterinary manual. Eighth edition. Philadelphia: Merck & Co. Inc; 1998. p.474-7.
6. **Barcellos C, Chagastelles P.** Socio-environmental determinants of the leptospirosis outbreak of 1996 in the western Rio de Janeiro: a geographical approach. *Int J Environ Health Res* 2000;10:301-13.
7. **Flannery B, Pereira M, Velloso L, Carvalho C, Góes L, Saboia G, et al.** Referral pattern of leptospirosis cases during a large urban epidemic of dengue. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:657-63.
8. **Faine S.** Guidelines for the control of leptospirosis. WHO Offset publication No. 67. Geneva: World Health Organization; 1982.
9. **Murhekar M, Sugunan A, Vijayachari P, Sharma S, Sehgal S.** Risk factors in the transmission of leptospiral infection. *Indian J Med Res* 1998;107:218-22.
10. **Myers DM.** Leptospirosis. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio. Nota técnica No. 30. Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS; 1985.
11. **Navarrete M, Sejin R, Vélez P.** Estudio preliminar de leptospirosis en caninos en la ciudad de Montería. *Revista ICA* 1981;16:165-72.
12. **Weekes C, Everard C, Levett P.** Seroepidemiology of canine leptospirosis on the island of Barbados. *Vet Microbiol* 1997;57:215-22.
13. **Office International des Epizooties.** Leptospirosis. En: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Fourth edition. Paris: Office International des Epizooties; 2000. p.265-72
14. **Brown C, Roberts W, Miller M, Davis D, Brown S, Bolin C, et al.** *Leptospira interrogans* serovar Grippothyposa infection in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1996;209:1265-7.
15. **Scanziani E, Origgi F, Giusti A, Iacchia G, Vasino A, Pirovano G, et al.** Serological survey of leptospiral infection in kennelled dogs in Italy. *J Small Anim Pract* 2002;43:154-7.
16. **Ribotta M, Higgins R, Gottschalk M, Lallier R.** Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs. *Can J Vet Res* 2000;64:32-7.