



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**TRABAJO DE TITULACIÓN**

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**MODALIDAD**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**TEMA:**

“DETECCIÓN DE LEPTOSPIRA EN RATAS DOMÉSTICAS DEL CANTÓN  
PORTOVIEJO DURANTE EL AÑO 2019”

**AUTORES:**

CEDEÑO MERA JEANINE ESTHER

INTRIAGO MORÁN LUIS FERNANDO

**TUTOR**

Dr. VICTOR MONTES ZAMBRANO

SANTA ANA-MANABÍ-ECUADOR

2020

## **DEDICATORIA**

En primer lugar agradezco a Dios ya que me dio la fuerza a seguir adelante y no caer, a mi familia sobre todo ya que quiero ser un orgullo para ellos, a mi tutor el Doctor Víctor Montes Zambrano por tenerme paciencia y estar ahí para ayudarnos en cualquier momento, a mi compañero de tesis Luis Fernando Intriago ya que no me abandonó cuando yo estaba por retirarme, seguir siendo un apoyo fundamental sobre mí y extenderme la mano cuando más lo necesitaba, y a todas las personas que estuvieron conmigo para ayudarme y darme fuerza a seguir y llegar hasta aquí, si no fuera por todos ellos no sabría donde estuviera ahora, a todas estas personas le dedico esta fase más que pasare en mi vida. Papá y mamá todo esto es por ustedes y para mí, porque no hay mayor satisfacción que culminar mi carrera universitaria y ser profesional.

***JEANINE ESTHER CEDEÑO MERA***

## **DEDICATORIA**

A Dios quien ha sido mi guía, fortaleza y su mano de fidelidad y amor que me protege ante cualquier circunstancia, quien ha permitido aclarar mis pensamientos orientándome a ser positivo.

A mi reina, mi madre Katuska porque con su amor, paciencia, esfuerzo y su apoyo incondicional me ha permitido seguir encaminado hacia cumplir mis metas, siendo mi consejera para salir adelante, quien siempre ha estado conmigo en todo momento.

A mi padre Luis quien con sus consejos han sido importante en no dejarme vencer ante las adversidades.

Gracias a ellos por inculcar en mí valores, a ser perseverante y a darme un buen ejemplo de vida.

A mi hermana Ana Luisa por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por apoyarme siempre y darme ánimos a no decaer.

A mis abuelos y mis tíos por sus consejos y brindarme siempre su apoyo.

***LUIS FERNANDO INTRIAGO MORÁN***

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios por darnos la sabiduría para seguir adelante y no decaer ante las adversidades.

A nuestras familias por darnos el apoyo incondicional en nuestras vidas y en nuestra carrera universitaria.

A nuestro tutor y mentor el Doctor Víctor Montes Zambrano quien nos guio y nos ayudó con su conocimiento y su dedicación para que nos formemos de manera correcta y responsable.

Agradecemos a la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD), por haber colaborado con la donación de un cepario al área de leptospira de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la UTM, permitiendo montar la técnica diagnostica necesaria para esta investigación, de igual forma a la Dra. Mercy Falconí responsable del área de leptospira en AGROCALIDAD Tumbaco.

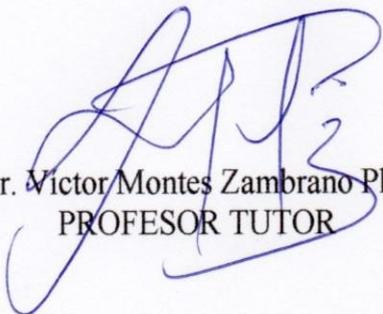
A todas las personas que contribuyeron con que nuestro trabajo fuese posible y a los habitantes del cantón Portoviejo que nos ayudaron con las capturas de los roedores para que nuestra investigación fuese posible.

***JEANINE CEDEÑO & FERNANDO INTRIAGO***

## CERTIFICACIÓN

Dr. Víctor Montes Zambrano, Certifica que el trabajo de titulación en la Modalidad Investigativa titulada: “DETECCIÓN DE LEPTOSPIRA EN RATAS DOMÉSTICAS DEL CANTÓN PORTOVIEJO DURANTE EL AÑO 2019”, es trabajo original de los Señores Cedeño Mera Jeanine Esther e Intriago Morán Luis Fernando, el que ha sido realizado bajo mi supervisión.

Santa Ana, 04 Junio de 2020



Dr. Víctor Montes Zambrano PhD  
PROFESOR TUTOR

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**TEMA:**

**“DETECCIÓN DE LEPTOSPIRA EN RATAS DOMÉSTICAS DEL  
CANTÓN PORTOVIEJO DURANTE EL AÑO 2019”**

Sometida a consideración del tribunal de defensa por el H. Consejo Directivo como  
requisito previo a la obtención del título de:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**APROBADO POR EL TRIBUNAL DE DEFENSA**

**Dr. Edis Macías Rodríguez PhD**  
**DECANO-PRESIDENTE**

**Dr. Víctor Montes Zambrano PhD**  
**TUTOR DE TITULACIÓN**

**Dr. Carlos Bulnes Goicochea PhD**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Dra. Laura de la Cruz Veliz**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Dr. Daniel Burgos Macías**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Los resultados obtenidos en el siguiente trabajo, así como las ideas, conclusiones y recomendaciones, son de propiedad única, total y exclusiva de los autores, queda prohibida la reproducción total o parcial del mismo.

Los autores.

## INDICE

RESUMEN .....	III
SUMMARY .....	IV
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>II. ANTECEDENTES .....</b>	<b>6</b>
<b>III. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>IV. OBJETIVOS .....</b>	<b>9</b>
<b>4.1. Objetivo General .....</b>	<b>9</b>
<b>4.2. Objetivos Específicos.....</b>	<b>9</b>
<b>V. MARCO REFERENCIAL .....</b>	<b>10</b>
<b>5.1. Leptospirosis .....</b>	<b>10</b>
<b>5.2. Leptospira .....</b>	<b>11</b>
<b>5.2.1. Bacteria y Forma .....</b>	<b>11</b>
<b>5.3. Transmisión.....</b>	<b>11</b>
<b>5.4. Manipulación de animales portadores.....</b>	<b>12</b>
<b>5.5. Patogenia .....</b>	<b>12</b>
<b>5.5.1. Forma anictérica.....</b>	<b>12</b>
<b>5.5.2. Forma icterica (enfermedad de Weil).....</b>	<b>13</b>
<b>5.6. Epidemiología .....</b>	<b>13</b>
<b>5.7. Importancia de roedores .....</b>	<b>17</b>
<b>5.8. Características del hospedador natural.....</b>	<b>17</b>
<b>5.9. Inmunidad de los roedores hacia la infección .....</b>	<b>19</b>
<b>5.10. Hallazgos histopatológicos en roedores .....</b>	<b>19</b>
<b>5.11. Prueba de Laboratorio.....</b>	<b>20</b>
<b>5.11.1. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT).....</b>	<b>20</b>
<b>5.12. Diagnóstico de la exposición a leptospira en el laboratorio .....</b>	<b>21</b>
<b>5.12.1. Observación al microscopio.....</b>	<b>21</b>
<b>5.13. Desarrollo en medios de cultivos .....</b>	<b>21</b>
<b>VI. DISEÑO METODOLÓGICO .....</b>	<b>22</b>
<b>6.1. Localización.....</b>	<b>22</b>
<b>6.1.1. Características geográficas y climáticas del cantón Portoviejo.....</b>	<b>22</b>
<b>6.2. Captura de Roedores.....</b>	<b>23</b>

<b>6.3. Procesamiento de muestras .....</b>	<b>23</b>
<b>6.4. Prueba de laboratorio .....</b>	<b>24</b>
<b>6.4.1. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT).....</b>	<b>24</b>
<b>6.5. Análisis estadístico.....</b>	<b>25</b>
<b>VII. RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
<b>7.1. Esfuerzo de captura de roedores en las diferentes parroquias del cantón Portoviejo. ....</b>	<b>26</b>
<b>7.2. Roedores capturados de acuerdo al sexo y su división administrativa en el cantón Portoviejo.....</b>	<b>27</b>
<b>7.3. Roedores capturados de acuerdo a su especie en el cantón Portoviejo .....</b>	<b>27</b>
<b>7.4. Características de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo a su procedencia .....</b>	<b>28</b>
<b>7.4.1. Característica de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo a las parroquias en el cantón Portoviejo.....</b>	<b>28</b>
<b>7.5. Características de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo al sexo .....</b>	<b>30</b>
<b>7.6. Característica de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo a la especie y serovares presentes en el cantón Portoviejo.....</b>	<b>30</b>
<b>7.7. Títulos alcanzados en los animales seroreactores al MAT contra leptospira patógena en muestras de roedores del cantón Portoviejo.....</b>	<b>32</b>
<b>VIII. DISCUSIÓN .....</b>	<b>33</b>
<b>IX. CONCLUSIONES .....</b>	<b>36</b>
<b>X. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>37</b>
<b>XI. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>38</b>
<b>12. ANEXOS .....</b>	<b>47</b>

## RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa aguda y febril, causada por una bacteria del género *Leptospira*, que pudiese afectar a los animales salvajes y domésticos sirviendo como una fuente de infección para el hombre. Los roedores domésticos son animales sinantrópicos y están implicados como principales portadores y diseminadores de leptospira, por ser considerados hospederos primarios de la bacteria. Las fuentes de contaminación con el patógeno pueden ser múltiples incluyendo contacto con fómites, tejidos y orina de animales infectados. El presente estudio determinó la presencia de leptospira patógena por medio de la técnica de aglutinación microscópica (MAT) en 3 especies de roedores, *Mus Musculus*, *Rattus Rattus* y *Rattus Norvegicus* provenientes del cantón Portoviejo, durante el periodo de marzo a diciembre del 2019. De un total de 82 roedores, 80 muestras fueron viables para su procesamiento, las mismas que fueron enfrentadas a una batería diagnóstica comprendida por 6 serovares de leptospira, obteniendo un 18,8% (15/80) de seropositividad. El serovar con mayor positividad fue el serovar Tarassovi con el 6,3%. La especie de roedor con mayor seropositividad al MAT fueron *Mus Musculus* y *Rattus Norvegicus* con el 8,8% respectivamente a diferencia de *Rattus Rattus* que fue observada en el 1%. De acuerdo al sexo en los roedores muestreados en el cantón Portoviejo se estableció que los machos son los únicos que seroreaccionaron al MAT contra leptospira en un 100,0% (15/15) a diferencia de las hembras. Estos resultados nos indican una exposición a leptospirosis de los serovares patógenos por parte de las 3 especies de roedores domésticos en el cantón, lo cual nos da un indicio de la vulnerabilidad en que se encuentran las personas y los demás animales, al estar en constante contacto directo con los roedores, dado que los mismos son importantes portadores y dispersores de la bacteria a través de su orina.

## SUMMARY

Leptospirosis is an acute and feverish infectious disease, caused by a bacterium of the genus *Leptospira*, which could affect wild and domestic animals serving as a source of infection for man. Domestic rodents are synanthropic animals and are implicated as the main carriers and disseminators of leptospira, as they are considered primary hosts of the bacteria. The sources of contamination with the pathogen can be multiple, including contact with fomites, tissues and urine of infected animals. The present study determined the presence of pathogenic leptospira using the microscopic agglutination technique (MAT) in 3 species of rodents, *Mus Musculus*, *Rattus Rattus* and *Rattus Norvegicus* from the canton Portoviejo, from March to November 2019. From a total of 82 rodents, 80 samples were viable for processing, the same ones that were faced with a diagnostic battery comprised of 6 serovars of leptospira, obtaining 18.8% (15/80) of seropositivity. The most positive serovar was the Tarassovi serovar with 6,3%. The rodent species with the highest MAT seropositivity were *Mus Musculus* and *Rattus Norvegicus* with 8.8%, respectively, unlike *Rattus Rattus*, which was observed in 1%. According to the sex of the rodents sampled in the Portoviejo canton, it was established that the males were the only ones that seroreacted against the MAT against leptospira in 100.0% (15/15), unlike the females. These results indicate an exposure to leptospire of pathogenic serovars by the 3 species of domestic rodents in the canton, which gives us an indication of the vulnerability in which people and other animals are, being in constant contact direct with rodents, since they are important carriers and dispersers of the bacteria through their urine.

## I. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial, es considerada una enfermedad reemergente en todo el mundo, razón por la que ha despertado el interés por la investigación de ésta enfermedad, la cual es infecto-contagiosa y cosmopolita, cuyo agente causal es una espiroqueta del género *Leptospira* (Ramírez y col., 2005), la cual se encuentra presente en una amplia variedad de animales domésticos y silvestres que actúan como reservorios, tales como: perros, bovinos, porcino, caprino, marsupiales y roedores (Villamizar, 2011).

Los roedores son potenciales transmisores de leptospira, especialmente en regiones cercanas a los ríos, debido a que los niveles de agua subterránea son altos, lo que promueve la presencia de la bacteria, causando una mayor frecuencia de la enfermedad (Ospina y col., 2017).

Comúnmente son implicados como portadores y diseminadores de leptospira, una gran variedad de especies de roedores en casi todas las regiones del mundo, las mismas que son portadoras crónicas de esta enfermedad, pero caracterizándose por ser asintomáticas a la enfermedad y por ser eliminadoras de la bacteria a través de la orina durante periodos prolongados (Sacsquispe, 2003).

Las ratas a diferencia de los ratones, representan el mayor riesgo de transmisión hacia el humano, debido a que ellas tienen un área de dispersión más amplio deambulando por techos y paredes, marcando su territorio mediante la orina, la misma que al estar infectada con la bacteria, incrementaría el riesgo de infección hacia los humanos (Goretta, 2005), en donde por situaciones de stress las ratas eliminan la orina en abundancia y contaminan el suelo, el agua o los alimentos (Goretta, 2005).

## II. ANTECEDENTES

La leptospirosis en humanos se conoce desde 1886, año en que Adolf Weil describe un síndrome Ictero-hemorrágico acompañado de insuficiencia renal (Montesino y Arocha 2001). Es una de las zoonosis de trascendencia mundial, por la implicación que tiene en salud pública (Martínez, 2006) ya que induce graves problemas en salud humana y animal, produciendo en estos últimos cuadros infecciosos, que causan cuantiosas pérdidas en predios agropecuarios (Glenny, 2003), lo que indudablemente afecta la economía nacional a nivel mundial.

A pesar de que la incidencia de leptospirosis ha disminuido en los países desarrollados, continúa siendo un problema de salud pública reemergente en los países en vías de desarrollo, tal es el caso de Brasil, Guatemala, Perú, Ecuador, entre otros (OMS, 2003). Los roedores son una de las principales fuentes infecciosas de la leptospira, ya que son importantes reservorios de la espiroqueta y la transmiten de forma directa o indirectamente al hombre y a diferentes especies de animales domésticos (Glenny, 2003).

En la provincia de Manabí según reporte de prensa esta enfermedad ha ido en aumento desde el año 2006 hasta la fecha, reportándose 401 casos en humanos solo en el año 2010, siendo en su gran mayoría personas provenientes del cantón Portoviejo. Palma (2011) reporta que en Portoviejo se detectaron 22 casos humanos de leptospirosis, pero autoridades de salud de Manabí consideran que ello no debe causar alarma sino concientizar a la población, para que extreme las medidas de limpieza en su entorno, evitando de esta manera la infección.

Zilber y col., (2016) en Francia, realizó un estudio utilizando pruebas en paralelo en roedores silvestres, logrando aislar en dos de tres animales seropositivos al MAT leptospira. Además, reportó el primer aislamiento de *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae de una muestra de pulmón de ratas del género *Rattus Norvegicus* por medio de la técnica de PCR.

En Chile, un estudio llevado a cabo por un tiempo de tres años, se reportan prevalencias en poblaciones de roedores rurales y urbanos de 41,4 y 24,2 % respectivamente, mediante

la ayuda de técnicas serológicas, aislamiento y tinciones inmunohistoquímicas, resultando en las primeras pruebas serovares tales como Pomona, seguido en menor medida Canicola, Hardjo, Javanica, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi (Riedmand y col., 1994).

Cordeiro y Sulzer (1981) en Brasil, llevaron a cabo un estudio en el que evaluaron la infección por leptospira en diferentes especies de animales silvestres, 6 especies de roedores fueron asociados como portadores de la bacteria. Del total de 742 animales analizados 88 fueron seropositivos a uno o varios serovares de la bacteria donde de 173 *Mus Musculus* resultaron positivos 66, de 189 *Rattus Rattus*, 5 fueron positivas a serovar Pomona y de 21 *Rattus Norvegicus*, 2 fueron positivas a un serovar no identificado.

En Ecuador Sosa (2015) identificó algunas cepas de leptospira a partir de riñones de ratas en los meses abril, mayo y junio en los alrededores del cantón Portoviejo a través de PCR.

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Registros oficiales del Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación del Ecuador (INSPI), revelan que la mayoría de casos de leptospirosis se presentan en el cantón Portoviejo (INSPI, 2013). Por tal motivo, esta zona es un lugar ideal para estudiar la transmisión y diseminación de la enfermedad.

La técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) es la prueba diagnóstica recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como prueba de referencia para el diagnóstico de la enfermedad en humanos y por su facilidad de aplicación ha sido seleccionada para este estudio por su bajos costos y facilidad de aplicación, que permite identificar no solo los serovares de *Leptospira* spp. sino también medir los títulos de anticuerpos.

Con estos antecedentes se hace importante investigar y conocer a partir de una batería diagnóstica incorporada por 6 serovares que se encuentran incluidas en los laboratorios de La UTM, con qué frecuencia se presentan en los roedores del cantón Portoviejo, con el objetivo de tener un registro que podrá ser utilizado para la toma de decisiones, como definir estrategias, métodos de control, la intervención y la prevención de la infección hacia otros animales domésticos así como hacia el ser humano, disminuyendo de esta manera el riesgo de infección que beneficiará tanto a los animales como a la población en general.

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo General**

- Determinar la frecuencia de *Leptospira* en ratas domésticas por medio del método de diagnóstico indirecto MAT y establecer las características de los animales afectados en el cantón Portoviejo.

### **4.2. Objetivos Específicos**

- Detectar anticuerpos contra leptospira patógenas en roedores del cantón Portoviejo a través del MAT.
- Identificar características (lugar de procedencia, especie y sexo) de los animales seropositivos al MAT.

## V. MARCO REFERENCIAL

### 5.1. Leptospirosis

La leptospirosis también denominada enfermedad de Weil, es una enfermedad bacteriana zoonótica causada por leptospiras, bacterias englobadas en las espiroquetas. El agente etiológico de la leptospirosis pertenece al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*, que clásicamente comprende 2 especies: *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*, siendo la primera patógena, es decir que tienen el potencial de causar enfermedad en animales y humanos y la segunda saprófita, de vida libre que generalmente no causan enfermedad. *Leptospira interrogans* incluye alrededor de 23 serogrupos y 218 serovares (Pizarro, 2007).

*Leptospira spp.*, es capaz de infectar al ser humano y a más de 160 especies de mamíferos domésticos y silvestres, aunque su circulación también se ha reportado en reptiles, aves y anfibios. Su incidencia es más importante en poblaciones rurales de climas tropicales y subtropicales y en áreas inundables, presentando picos de junio a noviembre en el caso del Perú (Donaires, 2012). Existen estudios que concuerdan en que la leptospirosis representa del 20-40% de las enfermedades febriles de etiología desconocida en seres humanos (Peña, 2010).

Numerosos factores ambientales, sociales y económicos son determinantes en la presentación de casos y brotes epidémicos (Riveros, 2019). Estos últimos son más frecuentes durante desastres naturales, principalmente inundaciones o periodos de lluvias intensas (Moral, 2000). El aumento de nuevos casos puede deberse de igual manera a la proliferación de roedores, tenencia de mascotas no vacunadas, falta de campañas para el control de portadores y deficiente saneamiento ambiental (Navas, 2016). Si a esto le sumamos presencia de animales de producción y domésticos sin control sanitario, tendremos el escenario propicio para un grave problema de Salud Pública (Frison, 2018).

## **5.2. Leptospira**

### **5.2.1. Bacteria y Forma**

*Leptospira* es una espiroqueta delgada y enroscada, flexible de aproximadamente 6 a 20  $\mu\text{m}$  por 0.1 $\mu\text{m}$  de diámetro, pertenece al orden de los *Spirochaetales* y de la familia *Leptospiraceae* (Céspedes, 2005). El período de sobrevivencia de las bacterias en el ambiente, agua y suelo, varía de acuerdo a la temperatura, el pH, la salinidad y el grado de contaminación. Son muy sensibles a temperaturas mayores de 60° C, detergentes, condiciones de sequedad, luz solar directa y acidez, pH menor que 6 (ácido) o mayor que 8 (alcalino) inhibe la bacteria. Una temperatura menor a 13 °C o mayor a 35 °C provoca también su muerte rápidamente. En el agua salada no sobreviven, pero pueden permanecer hasta 22 días en agua dulce en condiciones favorables y en barro 5 a 6 días en climas templados (Adnsur, 2017).

### **5.3. Transmisión**

La leptospira se transmite entre animales por contacto directo o indirecto. La transmisión directa ocurre principalmente con la entrada de leptospiras por vía inhalatoria o conjuntival, procedentes de gotas formadas por dispersión de la orina de animales infectados (Lomar, 2000). Los humanos llegan a contraer la infección cuando entran en contacto con la orina de animales infectados, con agua o suelos contaminados, la cual se encuentra vinculada con las condiciones de vida, actividades recreativas o laborales (Moral, 2000).

Entre los animales se transmite de un animal portador a otro mediante el contacto directo o indirecto con orina u otros fluidos infecciosos que contienen leptospiras viables, aunque también se reconoce la infección por vía congénita o neonatal entre animales de granja y ratas y la transmisión sexual en el apareamiento de ratas, vacas, cerdos y perros. (Moral, 2000). Las otras vías infectivas son por contacto con secreciones, tejidos o sangre de individuos positivos, así como por inhalación de aerosoles e ingesta de alimentos antihigiénicos (Kamath, 2014).

#### **5.4. Manipulación de animales portadores**

Un animal es definitivamente un portador de leptospiras, solamente si éstas pueden cultivarse a partir de él, particularmente de su orina o riñón, y como los animales pueden portar las leptospiras en sus riñones y eliminarlas en su orina, se debe tener cuidado al manipularlos y deben ser considerados como fuentes potenciales de infección hasta que se pruebe lo contrario (OMS, 2008). Las infecciones con leptospiras perduran dentro de una población de huéspedes naturales de mantenimiento por transmisión vertical y horizontal. Tal población de especies animales huéspedes naturales constituye el reservorio de la infección (OMS, 2008).

#### **5.5. Patogenia**

Las leptospiras pueden introducirse en el organismo a través de las heridas cutáneas o incluso a través de la mucosa intacta, ante todo la conjuntiva y la que tapiza la bucofaringe y nasofaringe. Una vez que penetran los microorganismos se produce una leptospiremia y el patógeno se extiende por todos los órganos (Campos, 2014).

Después de la penetración por la piel, la leptospira patógena, invade la corriente sanguínea y se disemina por todo el cuerpo incluyendo el Sistema Nervioso Central y el humor acuoso. Parece ser que existe tropismo por algunos órganos como el hígado, riñones, corazón y músculo esquelético. La patogenicidad de este microorganismo estaría ligada a su presencia física en las lesiones. Esto ha sido observado en procesos patogénicos provocados experimentalmente (Gamarra, 2009).

##### **5.5.1. Forma anictérica**

Constituye de 90% a 95% de los casos y clínicamente presenta 2 fases:

**Fase aguda o septicémica.** – Se presenta un compromiso hepato-nefrítico y localización final en riñón, convirtiendo a su huésped en portador. Los síntomas pueden incluir fiebre alta, escalofríos, cefaleas, mialgia, sufusión conjuntival, diarrea, vómitos, etc. La hepatoesplenomegalia puede ocurrir, pero es más bien rara. Esta fase coincide con la presencia de la leptospira en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en la sangre (Feigin, 1974).

**Fase inmune.** - Reaparecen los síntomas de la primera fase, aunque suelen ser menos graves (INRS, 2009). Las manifestaciones clínicas son más acentuadas que en la fase aguda, hay cefalea intensa, persistente, que no responde a analgésicos comunes, de igual manera se presentan mialgias. A nivel ocular y en forma característica se presenta fotofobia, dolor, hemorragia conjuntival e iridociclitis (Dammert, 2005).

### **5.5.2. Forma ictérica (enfermedad de Weil)**

Más grave, puede llevar asociada, entre otras, ictericia, insuficiencia renal aguda, compromiso cardiaco, problemas digestivos, problemas pulmonares y hemorragias (INRS, 2009).

En algunos pacientes la fase septicémica inicial evoluciona a una enfermedad ictérica grave, con disfunción renal, fenómenos hemorrágicos, alteraciones hemodinámicas cardiacas, pulmonares y neurológicas (Moral, 2000).

En este caso, los síntomas y signos que preceden a la ictericia suelen ser más intensos y de mayor duración que en la forma anictérica. Esta forma clínica se acompaña de dolor a la palpación abdominal y hepatomegalia en aproximadamente 70% de los casos. La ictericia es secundaria a colestasis intrahepática, y puede ser muy intensa (Moral, 2000).

Un elemento importante para comprender los mecanismos de infección y respuesta del sistema inmune ante *Leptospira spp.*, es la evaluación de las lesiones en los tejidos del hospedero. Según los antecedentes sobre la patogenia en leptospirosis, luego de la diseminación rápida por los tejidos, el riñón se convierte en el principal órgano para la bacteria, característica que lo hace favorable para entender el desarrollo de la patogénesis en el hospedador de mantenimiento.

## **5.6. Epidemiología**

Distintos animales mamíferos están involucrados en el ciclo de transmisión de la leptospirosis, sin embargo, los de mayor importancia son los reservorios naturales, pequeños mamíferos silvestres o sinantrópicos pertenecientes al orden de los roedores (Goarant, 2009), los cuales mantienen una relación comensal con las espiroquetas, es decir, transfiriéndolas a sus crías en el útero o en el periodo neonatal (Levett, 2001). Y

aseguran la circulación de serovares patógenos en áreas geográficas determinadas sin necesidad de hospederos accidentales involucrados (Kathleen, 2015).

En la cadena epidemiológica, los roedores son la principal fuente de infección, constituyéndose en los reservorios de la bacteria, mientras los bovinos y los porcinos se constituyen en huéspedes incidentales para algunos serovares, aunque pueden jugar un papel importante en la transmisión de la enfermedad al contaminar con la orina el alimento y las fuentes de agua (Bharti, 2003).

Las diferentes especies de roedores son reservorios específicos de algunos serovares, por ejemplo, la especie *Rattus Norvegicus* (rata gris) se ha encontrado como reservorio del serogrupo Icterohaemorrhagiae (serovares Icterohaemorrhagiae y Copenhageni), sin embargo, puede ocasionalmente ser portador de otros serovares (Michna, 1970). Igual situación con *Mus Musculus* (ratón común) considerado reservorio del serogrupo Ballum (serovar Ballum) y la *Rattus Rattus* (rata negra) de los serovares Icterohaemorrhagiae y Ballum (Hartskeerl, 1996).

Los géneros sinantrópicos *Rattus Rattus* y *Mus Musculus* han sido identificados como los principales diseminadores de *Leptospira* spp. debido a su notable capacidad de eliminar bacterias en su orina (Cosson, 2014). Cuantificaciones hechas en orina de ratas infectadas experimentalmente han revelado concentraciones de 100 millones de bacterias/ml. (Tilahun Z, 2013).

Los estudios entre diferentes especies de *Rattus* informaron una mayor prevalencia de leptospira en *R. Norvegicus*, y el serovar Icterohaemorrhagiae fue el serovar más frecuente reportado en *Rattus* spp. en todo el mundo (Kenneth B, 2019).

Las serovares que circulan en seres humanos o animales dependen en gran medida de la variedad de reservorios presentes, esto se confirma en que las tasas más altas de infección con serovares distintos se reportan en áreas con elevado número de roedores (Bharti, 2003). De igual manera, cuanto más numerosa es la población de reservorios más frecuente es la transmisión inter e intraespecífica (Corrêa, 2014).

Se adquiere inmunidad a una serovariedad específica después de la infección o en ocasiones, de la inmunización, aunque quizá no proteja de la infección por otra serovariedad (Heymann, 2013).

Desde 1963 se han hecho estudios de asociación entre leptospira y los roedores suramericanos, en el cual Blood y col., (1963) demostraron la infección por la leptospira Pomona en *Cavia pamparum* en la provincia de Corrientes, Argentina, por medio de cultivo y microaglutinación, asociada a un brote en ganado bovino. Se colectaron 282 muestras de las cuales 25 dieron positivas por serología (9%). Los autores exponen la alta correlación entre el mantenimiento del ciclo de la enfermedad en los bovinos y la infección en los cuyes ya que pese a que los muestreos se realizaron en intervalos de tiempo diferentes siempre hubo animales seropositivos en los potreros problema.

Cordeiro y Sulzer (1981) en Brasil, llevaron a cabo un estudio en el que evaluaron la infección por leptospira en diferentes especies de animales silvestres del sudeste del país; de 43 especies examinadas 6 especies de roedores fueron asociadas como portadoras de la bacteria: *Mus Musculus*, *Akodon Arviculoides*, *Rattus Rattus*, *Rattus Norvegicus*, *Nectomys Squamipes* y *Oryzomys Nigripes*. Del total de 742 animales analizados 88 fueron seropositivos a uno o varios serovares de la bacteria donde: de 173 *Mus Musculus* resultaron positivos 63 (36,41%) a los serovares Ballum, Pomona y Tropica; de 307 *Akodonarviculoides* fueron positivos 14 (4,56%) para el serovar Pomona y 2 más no identificados. De 189 *Rattus Rattus*, 5 (2,64%) fueron positivas a serovar Pomona y 1 no identificado; de 21 *Rattus Norvegicus*, 2 (9,52%) fueron positivas a un serovar no identificado. De 42 *Nectomys Squamipes*, 2 (4,76%) animales fueron positivos para el serovar Australis y de 10 *Oryzomys Nigripes*, 2 (20%) fueron seropositivos al serovar Pomona. Este estudio permitió identificar un total de 8 diferentes serovares y nuevas especies reservorio de la bacteria en Brasil y predecir factores de riesgo para los animales domésticos y los humanos.

Según (Zamora y col., 1995) en un estudio realizado en Chile en zonas urbanas y rurales de Valdivia durante 3 años se capturaron 784 roedores múridos silvestres, se estableció que la prevalencia fue de 37.8%, también se pudo evidenciar que éstos estaban infectados en un porcentaje superior en el área rural (41.4%) que los capturados en el área urbano (24.2%), la prueba de aglutinación microscópica identificó al serovar Pomona como el de mayor prevalencia seguido en orden descendente por Canícola, Hardjo, Javanica, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi, al analizar la especie de roedores capturados resultaron positivos: 20/97 (20.6%) ejemplares de *M. Musculus*, 87/175 (49,7%); de *A. Longipilis*, 91/206 (44.2%); de *A. Olivaceus*, 77/191 (40.3%); de *O. Longicaudatus*, 18/85 (21.2%);

de *R. Rattus*, 2/27 (7.4%); de *R. Norvegicus* , 1/2 (50%); de *G. Valdivianus* y 0/1 (0.0%) de *A. Microtus*.

Bevilacqua y col., (2004) en la provincia de Minas Gerais, Brasil capturaron 72 animales de la especie *Rattus Rattus* en las cercanías a un hospital veterinario y en un fragmento de bosque, pero en ninguno de los roedores se presentó seropositividad a leptospira por medio del MAT. En ninguno de los casos se encontró evidencia de exposición a leptospira, sin embargo, los autores no descartan que estas especies puedan comportarse como reservorios de la enfermedad y atribuyen los hallazgos a un ambiente libre de animales portadores. Otro estudio realizado en Brasil por Correa y col., publicado en 2004 encontraron que, de 302 muestras tomadas en el Parque Zoológico de San Pablo, de las cuales 14 correspondían al orden Rodentia (7 *Rattus Norvegicus*, 5 *Dasyprocta Azarae* y 2 *Hydrochoerus Hydrochaeris*) Fueron positivos: dos *Dasyprocta Azarae* para el serovar Castellonis y tres *Rattus Norvegicus* para el serovar Icterohaemorrhagiae. En Brasil y el Salvador, donde cada año ocurren brotes de leptospirosis, se ha determinado que la especie *Rattus Norvegicus* tiene un rol fundamental en la epidemiología de los sectores con establecida pobreza y hacinamiento. En relación a su serotipificación se ha demostrado la asociación de *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni con dicha especie, quedando establecida su relación (Tucunduva, 2008).

Scialfa y col., (2010) en la ciudad de Tandil, Argentina, realizaron pruebas de MAT, de 42 *Rattus Norvegicus* (rata gris) encontrando seropositividad en el 52,3% de los roedores para los serovares Castellonis, Canícola, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae y Hebdomadi. Sin embargo, (2015) realizan otro estudio en Buenos Aires Argentina, donde capturan un total de 16 roedores de la especie *Rattus Norvegicus*, de las cuales resultaron positivas 2 por microaglutinación a los serovares Grippytyphosa, Canícola y Castellonis.

Méndez y col., (2013) en México determinaron la distribución de anticuerpos antileptospira en roedores silvestres y en tres especies domésticas que comparten el mismo hábitat en un área endémica de leptospirosis bovina, en el cual se analizaron muestras de suero de 24 roedores mismo que fueron sometidos a siete serovares mediante el MAT, 50% de los roedores reaccionó contra Icterohaemorrhagiae (37%), Gryppytyphosa (14%), Tarassovi (12%) y Canícola (4%).

## **5.7. Importancia de roedores**

Las ratas son sinónimos de suciedad o enfermedad. Es algo que se torna más veraz en el caso de la leptospirosis. Los roedores se comportan como reservorios de leptospiras por excelencia y las ratas, a diferencia de los ratones, representan el mayor riesgo (UNNE, 2008). Ellas tienen un área de dispersión más amplia ya que deambulan por techos, paredes y recovecos y marcan su territorio mediante la orina, vía de eliminación de las leptospiras (Goretta, 2005).

Si bien no todos los animales domésticos o salvajes que se infectan, se enferman, la gran mayoría mantienen las bacterias en los riñones por largo tiempo. Las ratas las portan de por vida, y ante una situación de stress, las eliminan en abundancia, y contaminan el suelo, el agua o los alimentos por eso, es el reservorio más peligroso (Goretta, 2005).

Una de las razones de la prevalencia de roedores es la acumulación de desperdicios en forma inadecuada, el deficiente cuidado de depósitos, el deterioro de las edificaciones, que generan ambientes propicios para las ratas con el consiguiente riesgo para la salud (Marder, 2005)

## **5.8. Características del hospedador natural**

Se ha observado que los animales al ser hospederos naturales de un serovar en particular, por lo general muestran pocos efectos a la enfermedad, pero pueden llegar a desarrollarla si son infectados con un serovar distinto (Rodríguez, 2011). De igual forma pueden ser hospederos de mantenimiento o accidentales, y a su vez, portar y transmitir diferentes serovares de *Leptospira* (Levett, 2001). La infección en los hospedadores de mantenimiento, generalmente, es adquirida a una edad temprana y la prevalencia de excreción crónica de leptospira por la orina aumenta con la edad (Céspedes, 2005). Por lo tanto, esto supone un importante hecho epidemiológico, puesto que los animales inmunes pueden actuar como fuentes de infección (Villamizar, 2011).

Según (Faine, 1994) la prevalencia de los serovares difiere considerablemente de acuerdo con los países y en un mismo país de región a región, presentándose de tal manera que una variedad de huéspedes se puede infectar con el mismo serovar y una misma especie

animal puede sucumbir con uno o más serovares, aunque generalmente un serovar es portado principalmente por una determinada especie animal.

### **5.8.1 Características físicas para identificar los roedores capturados**

#### **5.8.1.1. *Mus Musculus***

Es un roedor relativamente pequeño. La longitud de un animal adulto, incluyendo la cola, es de unos 13 a 19cm. Pesa entre 15 y 20gr. Su pelaje, corto, suave y lustroso, es de color pardo claro a pardo grisáceo oscuro, con la región ventral más clara. La cabeza es alargada, con orejas grandes y redondas. La cola es más larga que el cuerpo más la cabeza y es uniformemente oscura, poco peluda y con anillos bien marcados. Los ojos son pequeños. El hocico es puntiagudo. Es un roedor que habita dentro de las casas o en sus inmediaciones, pero con frecuencia, también invade los campos cultivados (Steinmann y Priotto, 2016). *Mus Musculus* (ratón doméstico). La longitud total de un ratón doméstico adulto es de 13 a 19 cm (cabeza + cuerpo + cola) (Steinmann y Priotto, 2016).

#### **5.8.1.2. *Rattus Rattus***

Un animal adulto mide más de 30cm y hasta 45cm de largo con la cola incluida. Pesa de 120 a 350gr. Su pelaje, más liso y suave que el de *Norvegicus*, varía entre el gris claro y el gris oscuro, siendo casi negro en la cabeza y el lomo. El pelaje del vientre es de color blanco. Las orejas son grandes, sobresalientes y prácticamente carecen de pelo. La cola, uniformemente oscura y de anillado muy marcado, es más larga que el cuerpo más la cabeza. Los ojos son grandes y prominentes y el hocico es puntiagudo. Es un roedor que habita en las cercanías de las viviendas o dentro de ellas. Se lo encuentra preferentemente en los sistemas de desagües y de cloacas, en los basurales, en lugares donde se almacenan víveres, en las paredes y techos de las casas, en huecos de árboles. Un animal joven puede atravesar orificios menores de 25mm de diámetro (Steinmann y Priotto, 2016).

*Rattus Rattus* (Rata de los tejados). Una rata adulta mide de 17 a 20 cm (cabeza + cuerpo) y su cola mide de 20 a 25 cm (Steinmann y Priotto, 2016)

#### **5.8.1.3. *Rattus Norvegicus***

Es la más grande de las ratas. Un animal adulto mide de 19 a 25 cm de longitud (cabeza + cuerpo) y su cola mide de 16 a 20 cm y pesa aproximadamente entre 300 a más de 400gr. Es de color pardo leonado, variando a veces a gris oscuro o pardo rojizo, con el

vientre grisáceo o blanco amarillento. Su pelaje es corto, áspero y tieso, pero no tan rígido como el de la rata negra. Las orejas son relativamente pequeñas, redondeadas, peludas y pegadas a la cabeza. La cola es igual o más corta que la cabeza más el cuerpo, oscura por arriba y clara por debajo presentando un anillado poco marcado. Los ojos son pequeños y el hocico es chato (Steinmann y Priotto, 2016).

Es un roedor que prefiere los lugares húmedos y/o cercanos al agua. Por ello habita en las costas de los ríos y arroyos, en los sistemas de desagües, en las cloacas. Como es un buen nadador, le es fácil desplazarse en el agua. Cava muy bien, pero es un mal trepador. Habita preferentemente fuera de las viviendas, en madrigueras que construye cerca de alcantarillas y desagües, o que excava en el suelo. Estas excavaciones constituyen un sistema de galerías de varias bocas, en el fondo del cual instala el nido. Son animales nocturnos y omnívoros. Sus excrementos son cilíndricos y miden hasta 20mm. Una rata joven puede pasar a través de un orificio de 25mm de diámetro (Steinmann y Priotto, 2016).

### **5.9. Inmunidad de los roedores hacia la infección**

Al respecto, aquellos factores que determinan si un animal sufrirá una infección aguda o crónica no están completamente entendidos, pero pueden estar determinados por la especie hospedera, serovar infectante y dosis infectante, por lo tanto, en el caso de los roedores con tendencia a la infección crónica, la colonización, multiplicación renal y leptospiruria perduran a pesar de la respuesta celular y humoral presente en el hospedero (Monahan A, 2009).

### **5.10. Hallazgos histopatológicos en roedores**

Bharti A, (2003) indica que al igual que la rata, el ratón doméstico es un reservorio importante de leptospiras, dada la habilidad de desarrollar el estado de portador crónico, sin embargo, dependiendo del tipo de animal, su edad y el serovar implicado, pueden presentarse cuadros de leptospirosis aguda letal.

(Nally J, 2005) lo demostraron cuando infectaron a dos líneas genéticas de ratones con *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni, los cuales sucumbieron ante un fallo renal agudo, en donde todos los individuos presentaron necrosis de los túbulos renales.

Otros estudios en el ratón doméstico constataron como única lesión la inflamación renal sin observar lesiones en otros tejidos, y la nefritis intersticial se caracterizó por un infiltrado rico en macrófagos y linfocitos que se extendió desde las zonas periarteriales hacia el resto del parénquima (Santos C, 2010). En ratas capturadas en sectores urbanos Sterling y Thiermann (1981) indican que las infecciones, respaldadas por los altos títulos al MAT, estaban relacionadas con la presencia infiltrado inflamatorio en el tejido renal.

(Tucunduva y col., 2007) compararon la histopatología renal de ratas Wistar infectadas experimentalmente con la de ratas capturadas en ambientes urbanos con leptospirosis demostrada. En las ratas de laboratorio la única alteración fue nefritis intersticial, mientras que las ratas capturadas la presencia de alteraciones morfológicas en el tejido renal como calcificación multifocal, glomerulonefritis mesangioproliferativa, cambios glomerulares leves, de igual manera presentaron nefritis intersticial, pero en menor medida. Dichos autores establecen que la nefritis intersticial fue el único cambio atribuible a la presencia leptospirosis y que es un hallazgo tardío de la infección, dado que su presencia se manifestó un mes después de la infección. De esta manera, la rata es un modelo ideal de resistencia a la enfermedad aguda letal, ya que es capaz de albergar a leptospiras patógenas en el tejido renal por períodos prolongados, favoreciendo la diseminación bacteriana en el ambiente (Nally y col, 2004).

## **5.11. Prueba de Laboratorio**

### **5.11.1. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)**

En la actualidad, el método de diagnóstico más fiable se basa en la detección de anticuerpos séricos específicos, el MAT (Avizeh et al., 2008). Basada en la detección de anticuerpos aglutinantes contra el serovar infectante, que es el método estándar de oro recomendado por la OMS. Aunque la ventaja del MAT es su especificidad, combinada con una alta sensibilidad para los serovares (Esfandiari y col., 2015).

Al estandarizar el MAT, deben tenerse en cuenta dos puntos importantes:

- a) La densidad central del cultivo usado como antígeno
- b) La determinación del punto final de aglutinación (título) (Kamety, 1993).

## **5.12. Diagnóstico de la exposición a leptospira en el laboratorio**

### **5.12.1. Observación al microscopio**

Al microscopio de campo oscuro puede observarse que una de las extremidades termina en gancho. Tiene de 6 a 12 micras de largo por 100 milimicras de diámetro. Es tan delicada que en el campo oscuro puede aparecer solo como una cadena de cocos diminutos (Torres, 2000).

### **5.13. Desarrollo en medios de cultivos**

Los medios de cultivo pueden presentarse de dos formas, líquido y semisólido los cuales son: Fletcher, Stuart, Korthof, Schuffner, Ellinghausen - McCullough - Jhonson - Harris (EMJH) y el medio de albúmina bovina polisorbato (Tween 80), sin embargo, los más utilizados son EMJH y Fletcher (Caballeros A, 1997).

Los cultivos deben incubarse a una temperatura de  $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$  al menos durante 16 semanas y, preferiblemente, durante 26 semanas (Ellis, 1986). El tiempo que se requiere para la detección de un cultivo positivo varía con el serotipo de leptospira y el número de microorganismos presentes en la muestra, también los cultivos deben examinarse con un microscopio de campo oscuro cada 1-2 semanas y es importante utilizar una fuente luminosa de 100 vatios y un microscopio de campo oscuro de buena calidad (Ellis, 1986).

## **VI. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **6.1. Tipo de estudio**

El presente trabajo de investigación fue un estudio transversal descriptivo de campo, el cual consistió en capturar roedores de diferentes sitios (lugares) de las parroquias urbanas y rurales del cantón Portoviejo durante los meses de marzo a diciembre del 2019. Los lugares fueron seleccionados por conveniencia de acuerdo a las facilidades de colaboración por parte de los dueños de los predios donde fueron ubicadas las trampas para su captura.

### **6.1. Localización**

El presente trabajo se realizó en el cantón Portoviejo, de la Provincia de Manabí, el cual estuvo integrado de dos etapas: la primera etapa fue la colocación de trampas de captura para posterior recolección de muestras, tiempo que estuvo comprendido entre los meses de marzo a diciembre; una segunda etapa estuvo comprendida en el procesamiento de la muestras en el laboratorio Agropecuarios de la UTM, en el área de Leptospira ubicada en la Parroquia Lodana, del cantón Santa Ana, Provincia de Manabí, Ecuador desde los meses de noviembre a diciembre.

#### **6.1.1. Características geográficas y climáticas del cantón Portoviejo**

**Superficie:** 960.730 km<sup>2</sup>

**Densidad:** 291.480 hab/km<sup>2</sup>

**Parroquias urbanas.** - Integrada por nueve parroquias: 12 de Marzo, Andrés de Vera, Colón, Picoazá, Portoviejo (Parroquia), San Pablo, Francisco Pacheco, 18 de Octubre, Simón Bolívar.

**Parroquias rurales:** Integradas por siete parroquias: Abdón Calderón, Alajuela, Chirijos, Crucita, Pueblo Nuevo, Riochico, San Placido.

**Características climatológicas:** En el cantón Portoviejo, durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 21°C a 29°C y rara vez baja a menos de 20°C o sube a más de 32°C.

La temporada de lluvia es opresiva y nublada, dura 7,2 meses, del 21 de noviembre al 27 de junio, con un intervalo móvil de 31 días de lluvia de por lo menos 13 milímetros.

La temporada seca es ventosa y parcialmente nublada y es caliente durante todo el año. El periodo del año sin lluvia dura 4,8 meses, del 27 de junio al 21 de noviembre (Weatherspark, 2018).

## **6.2. Captura de Roedores**

La obtención de la muestra se realizó mediante la utilización de trampas tipo Tomahawk (anexo1) cebadas artesanalmente con carne de cerdo cruda condimentada, las cuales eran activadas en horas de la tarde para que su tiempo de captura fuera en las horas de la noche. Las jaulas activadas con la captura se limpiaban y se desinfectaban con cloro para posteriormente ser utilizadas.

Los lugares seleccionados estuvieron integrados por casas ubicadas en las parroquias urbanas y rurales del cantón Portoviejo donde los propietarios mostraban interés en participar en esta investigación, porque habían observado presencia de roedores en sus casas.

Para establecer el éxito de captura (trampeo), este fue definido por el número de trampas colocadas por el número de noches que funcionaron.

$$\text{Éxito de captura} = \text{N}^{\circ} \text{ de trampas} \times \text{Noche que funcionaron}$$

## **6.3. Procesamiento de muestras**

Una vez capturada la rata se trasladó al área de necropsia ubicada en los laboratorios Agropecuarios de la UTM, se procedió a realizar la eutanasia mediante la aplicación de anestésico por vía intraperitoneal, compuesto por una mezcla entre ketamina y xilacina en una dosis letal única equivalente a cinco veces la dosis anestésica tal como está recomendado por AVMA (2013).

Una vez realizada la eutanasia al animal, se procedió a la toma de muestra sanguínea mediante punción cardiaca, con jeringas de 3 ml con agua n° 23Gx1 pulgada. La sangre obtenida fue trasvasada en tubos de vidrio estériles de tipo vacutainer tapa roja rotulados adecuadamente para posteriormente realizar la centrifugación a 3200 rpm por 15 minutos,

para así lograr la separación del suero sanguíneo el cual fue conservado a -20°C hasta su posterior procesamiento.

Finalizada la toma de muestra se registraba en una base de datos las características físicas del animal las mismas que servirían para calcular la edad aproximada de los roedores capturados tales como: peso, sexo, medidas de cola, cuerpo-cabeza, orejas y patas traseras.

El cuerpo del animal sacrificado se enterró en una fosa común ubicada en la parte posterior de los laboratorios para disminuir algún peligro biológico.

## **6.4. Prueba de laboratorio**

### **6.4.1. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)**

La MAT se utilizó para detectar anticuerpos contra leptospira en el suero de roedores exponiéndolo a un panel integrado por 6 serovares disponibles en el laboratorio Agropecuario de la UTM área de Leptospira. (Tabla 1). Las cepas fueron donadas por los laboratorios de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD) Tumbaco-Quito.), los cuales fueron replicados en medios de cultivos en el Área de Leptospira, fueron elegidos los cultivos con buen crecimiento y con una densidad aproximada de  $2 \times 10^8$  leptospiras. La prueba MAT consistió en dos tiempos:

**Tamizaje (Screening).** - Se usaron microplacas en las cuales se adicionaban la solución fisiológica, el suero problema y el antígeno, se incubaba durante 1 hora a 37°C, para luego ser observada a 100X en el microscopio de campo oscuro.

**Titulación.** - Las muestras reactivas en el tamizaje se titulaban. En cada pocillo de la microplaca se colocó 50 uL desde la primera celda a la segunda, y de ésta a la tercera y así sucesivamente para hacer diluciones seriadas, descartando 50 uL de la última dilución, quedando las diluciones de 1:100 a 1:6400.

Tanto en el tamizaje como en la titulación se declaraba como positiva al MAT, aquel pocillo donde se observaba aglutinación en el 50% del campo observado para el serovar evaluado.

Tabla 1: Serovares de referencia usados como antígenos para la prueba de aglutinación microscópica (MAT) en los roedores capturados en el cantón Portoviejo.

<b>Especie</b>	<b>Serogrupo</b>	<b>Serovar</b>	<b>Cepa</b>
<b>L. borgpetersenii</b>	Sejroe	Sejroe	M84
<b>L. interrogans</b>	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
<b>L. borgpetersenii</b>	Tarassovi	Tarassovi	Perepicilin
<b>L. interrogans</b>	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno
<b>L. interrogans</b>	Bataviae	Bataviae	Van Tienen
<b>L. interrogans</b>	Sejroe	Wolffi	3705

### 6.5. Análisis estadístico

Para el cálculo de la prevalencia fue considerada la siguiente formula:

$$\text{Prevalencia} = (\text{N.º de animales positivos al MAT} / \text{Total de animales muestreados}) \% 100$$

El análisis estadístico de asociación entre las características individuales de los roedores capturados en relación al lugar de captura, sexo y la especie, comparadas con la seropositividad al MAT, se realizó mediante la Prueba Exacta de Fisher tomando en cuenta un valor de p inferior a 0,05 y un intervalo de confianza (IC) del 95%.

## VII. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el trabajo de investigación fueron los siguientes:

### 7.1. Esfuerzo de captura de roedores en las diferentes parroquias del cantón Portoviejo.

Esfuerzo de captura en el presente trabajo fue de 953 noches, utilizando para el efecto 66 lugares en las parroquias urbanas y 30 en las rurales, el esfuerzo de captura por parroquia es descrito en la tabla 2.

Tabla 2.- Esfuerzo de captura de roedores en el cantón Portoviejo.

<b>PARROQUIAS URBANAS</b>	<b>Sitios</b>	<b>Esfuerzo</b>	<b>Captura</b>
<b>12 de Marzo</b>	9	64	3
<b>18 de Octubre</b>	7	118	12
<b>Andrés de Vera</b>	16	149	13
<b>Colón</b>	6	41	7
<b>Francisco Pacheco</b>	4	46	3
<b>San Pablo</b>	5	62	4
<b>Simón Bolívar</b>	7	67	4
<b>Picoazá</b>	6	54	8
<b>Portoviejo</b>	6	64	0
<b>Subtotal</b>	<b>66</b>	<b>665</b>	<b>54</b>
<b>PARROQUIAS RURALES</b>			
<b>Abdón Calderón</b>	7	82	7
<b>Alhajuela</b>	5	44	4
<b>Chirijos</b>	1	18	2
<b>Crucita</b>	10	98	4
<b>Pueblo Nuevo</b>	2	10	3
<b>Riochico</b>	3	14	3
<b>San Placido</b>	2	22	3

<b>Subtotal</b>	30	288	26
<b>Total</b>	96	953	80

### 7.2. Roedores capturados de acuerdo al sexo y su división administrativa en el cantón Portoviejo

El total de animales capturados fue de 82 roedores, de los cuales 80 resultaron en muestra viable para procesamiento, de las cuales el 67,5% procedían del área urbana y el 32,5% del área rural ver tabla 2. En relación al sexo, en las parroquias urbanas el 39% (21/54) fueron hembras y el 61,1% (33/54) machos. En las parroquias rurales el 57,7% (15/26) fueron hembras y el 42,3% (11/26) fueron machos ver tabla 2.

Tabla 3.- Descripción de las muestras provenientes del cantón Portoviejo de acuerdo al sexo y su división administrativa.

<b>Parroquias</b>	<b>hembra</b>	<b>macho</b>	<b>Total</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Urbana</b>	21	33	54	67,5
<b>Rural</b>	15	11	26	32,5
<b>Total</b>	36	44	80	100,0
<b>Porcentaje</b>	45,0	55,0	100,0	

### 7.3. Roedores capturados de acuerdo a su especie en el cantón Portoviejo

Del total de individuos muestreados en el cantón Portoviejo, 3 especies de roedores fueron identificados, el 27,5% correspondientes a la especie *Mus Musculus*; el 8,8% a *Rattus Rattus* y el 63,8% a *Rattus Norvegicus* ver tabla 3.

Tabla 4.- Descripción de las especies de roedores muestreados del cantón Portoviejo

<b>Especie</b>	<b>Portoviejo</b>	<b>Porcentaje</b>
<i>Mus Musculus</i>	22	27,5
<i>Rattus Rattus</i>	7	8,8
<i>Rattus Norvegicus</i>	51	63,8
<b>Total</b>	80	100,0

#### **7.4. Características de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo a su procedencia**

Del total de 80 roedores capturados el 18,8% resultaron positivos al MAT. En relación a la procedencia de urbana y rural, se pudo observar que el 16,3% de positivos pertenecieron al área Urbana y el 2,5% al área Rural. Cuando evaluamos las proporciones de seropositivos de acuerdo a la división administrativa (urbano-rural) no se encontró diferencias estadísticas significativas, lo que indica que la proporción de positivos tanto en la zona rural como urbano son iguales ver tabla 4

Tabla 5.- Roedores positivos al MAT según las parroquias urbanas y rurales del cantón Portoviejo.

<b>Resultado</b>	<b>Urbano</b>	<b>Rural</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>IC 95%</b>
<b>Positivo</b>	13	2	15	18,8	(10,2-27,3)
<b>Negativo</b>	41	24	65	81,3	(72,7-89,8)
<b>Porcentaje</b>	16,3	2,5	100,0		

Valor p.= 0,1251 Prueba Exacta de Fisher

#### **7.4.1. Característica de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo a las parroquias en el cantón Portoviejo**

Cuando se evaluó los seropositivos de acuerdo a la parroquia urbana de procedencia, se observó que Andrés de Vera, 18 de Octubre y Picoazá presentaron mayores porcentajes en relación a las otras parroquias 16,2 15,0 y 10,0% respectivamente; Cuando se evaluó los seropositivos de acuerdo a la parroquia rural de procedencia, Abdón Calderón,

Alhajuela y Crucita fueron las que se observó mayores muestras de animales seropositivos con el 8,7, 5 y 5% respectivamente. La prevalencia de positivos al MAT tanto en la parroquia urbana como en la parroquia rural no son estadísticamente significativas, de tal manera que las proporciones de seropositivos que se presentaron en las parroquias urbanas y rurales del cantón Portoviejo se presenta de igual forma en ambas parroquias ver tabla 5

Tabla 6.- Roedores positivos al MAT según la parroquia de procedencia.

<b>Parroquias</b>	<b>Positivos</b>	<b>Negativos</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>PARROQUIAS URBANAS</b>				
<b>12 de Marzo</b>	2	1	3	3,7
<b>18 de Octubre</b>	2	10	12	15,0
<b>Andrés de Vera</b>	4	9	13	16,2
<b>Colón</b>	0	7	7	6,7
<b>Francisco Pacheco</b>	0	3	3	2,9
<b>San Pablo</b>	0	4	4	5,0
<b>Simón Bolívar</b>	3	1	4	5,0
<b>Picoazá</b>	2	6	8	10,0
<b>Portoviejo</b>	0	0	0	0,0
<b>PARROQUIAS RURALES</b>				
<b>Abdón Calderón</b>	1	6	7	8,7
<b>Alhajuela</b>	0	4	4	5,0
<b>Chirijos</b>	0	2	2	2,5
<b>Crucita</b>	1	3	4	5,0
<b>Pueblo Nuevo</b>	0	3	3	3,7
<b>Riochico</b>	0	3	3	3,7
<b>San Placido</b>	0	3	3	3,7
<b>Total</b>	15	65	80	100,0

<b>Porcentaje</b>	18,8	81,2	100,0
-------------------	------	------	-------

Valor p.= 0,06816 (Urbana) Prueba Exacta de Fisher

Valor p.= 1 (Rural) Prueba Exacta de Fisher

### 7.5. Características de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo al sexo

Se observó que el 100% de los machos fueron seropositivos a leptospira patógena, no se encontró roedores hembras que reaccionaran positivas al MAT ver tabla 6.

Tabla 7.- Roedores positivos al MAT según su sexo.

	<b>Hembra</b>	<b>Macho</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>Positivo</b>	0	15	15	18,8
<b>Negativo</b>	36	29	65	81,3
<b>Total</b>	36	44	80	100,0

Valor p.=0,004916 Prueba Exacta de Fisher

### 7.6. Característica de los animales seropositivos a leptospiras patógenas de acuerdo a la especie y serovares presentes en el cantón Portoviejo

Del total de muestras recolectadas por especie de roedores capturadas en el cantón Portoviejo, el 31,8 % de seropositivos fueron observadas en las muestras de la especie *Mus Musculus*; el 14,3% en *Rattus Rattus* y el 13,5% en *Rattus Norvegicus*. No se observó diferencias significativas entre los porcentajes reportados en estas especies, es decir que la seropositividad a leptospira es independiente de la especie de roedores. Tabla 7

Tabla 8.- Especies de roedores positivos al MAT en el cantón Portoviejo durante el año 2019

<b>Especies</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<i>Mus Musculus</i>	7	15	22	31,8
<i>Rattus Rattus</i>	1	6	7	14,3
<i>Rattus Norvegicus</i>	7	44	51	13,7
<b>Total</b>	15	65	80	13,5

Valor p.= 0,1381 Prueba Exacta de Fisher

Cuando se evalúa la reacción de las muestras de las diferentes especies de roedores capturadas al panel diagnóstico utilizado en el estudio, se puede observar que la especie *Rattus Norvegicus* fue la especie de roedores que reaccionó a los 6 serovares, seguido de *Rattus Rattus* a 4 serovares; y *Mus Musculus* a un solo serovar, lo que podría suponer que las *Rattus Norvegicus* tiene mayor contacto con la bacteria en el ambiente. Cuando se evalúan los serovares más prevalentes en las muestras de roedores, se puede observar que el 6,3% de las reacciones positivas correspondieron al serovar Tarassovi; seguido del serovar Hardjo con 5%; los serovares Sejroe, Bataviae y Wolfii con el 3,7% cada uno seguido por el serovar Canicola con el 1,2% ver tabla 8.

Tabla 9.- Proporción de seropositivos por especie de roedores capturados en el cantón Portoviejo durante el año 2019 y títulos de los serovares presentes

Serovares	Especies (Título)			Total	Prev
	<i>Mus Musculus</i>	<i>Rattus Rattus</i>	<i>Rattus Norvegicus</i>		
<b>Sejroe</b>	1:100 <sup>a</sup>		1:100 <sup>a</sup> 1:100	3	3,7
<b>Canícola</b>			1:100 <sup>a</sup>	1	1,2
<b>Hardjo</b>		1:200	1:100 <sup>a</sup> 1:100 1:100	4	5,0
<b>Tarassovi</b>	1:100 <sup>a</sup> 1:100 <sup>b</sup> 1:100 1:200		1:100	5	6,3
<b>Bataviae</b>	1:100 <sup>b</sup> 1:100		1:100	3	3,7
<b>Wolffi</b>	1:100 1:200		1:100	3	3,7
<b>Positivos</b>	9(4)	1	9(6)	19(11)	
<b>Co-aglutinación</b>	2	0	1	3	
<b>Positivos</b>	7	1	7	15	
<b>Negativos</b>	15	6	44	65	61

Letras iguales representan una muestra que presenta reacción positiva a más de un serovar

### **7.7. Títulos alcanzados en los animales seroreactores al MAT contra leptospira patógena en muestras de roedores del cantón Portoviejo**

Cuando observamos los títulos detectados en las muestras de roedores capturados en el cantón Portoviejo, el 84,2% del total de reacciones alcanzaron un título de 1:100, mientras que el 15,8% reaccionaron a títulos de 1:200, siendo los serovares Hardjo y Tarassovi los que generaron los títulos más altos en las especies *Rattus Rattus* y *Rattus Norvegicus* respectivamente ver tabla 8 y 9.

Tabla 10.- Titulación de los serovares observados en los roedores positivos al MAT.

<b>Serovar</b>	<b>1:100</b>	<b>1:200</b>	<b>Total</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Total</b>	16	3	19	100,0
<b>%</b>	84,2	15,8	100,0	

## VIII. DISCUSIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica distribuida a nivel mundial, que tiene incidencia en regiones subtropicales de clima húmedo. La leptospira está ampliamente distribuida en animales domésticos y silvestres, siendo las ratas el reservorio más importante y su orina la fuente de contagio hacia otros animales incluido el hombre. Las condiciones climáticas en la zona costera del Ecuador y mayoritariamente en la provincia de Manabí, en la cual la temperatura varía de 21°C a 30°C en el transcurso del año, favorecen su crecimiento y proliferación, sumado esto a la presencia de hospedadores de mantenimiento que facilitan su difusión entre los animales susceptibles.

El porcentaje de seropositivos encontrados en el presente estudio (18,8%) son similares a los encontrados en Valdivia-Chile, por Luna (2015), donde reportó 13,5% de seropositividad a partir de una muestra de 121 roedores comprendidos entre sinantrópicos y silvestres. De igual forma en el estudio realizado en Perú por Sacsquispe y col (2003) reportan una seropositividad del 16,6% a partir del suero sanguíneo. Se han efectuado trabajos en roedores en sistemas de producción porcícola, como el realizado por Giraldo y col (2002) donde reportó seropositividad del 1% al MAT, a partir de 75 muestras. Diferentes seroprevalencias fueron reportadas por varios investigadores entre 22,4 a 25,8% (Riedemann.,1994; Agudelo.,2010 y Mgode., 2014). Estas diferencias observada entre las diferentes prevalencias observadas posiblemente se deba a que estos estudios difieren en relación al número de serovares que integran la batería diagnóstica del MAT (11serovares), así como también el punto de corte (Mgode 1:20); (Riedemann 1:25); (Agudelo y Giraldo 1:50), utilizados para dar una muestra positiva, diferentes al utilizado en este estudio, incrementando de esta forma la posibilidad de encontrar muestras positivas y un aumento de las prevalencias cuando el punto de corte de la técnica del MAT es disminuido.

Tarassovi fue el serovar más frecuentes en el presente estudio con un 6,3% (5/80); superior al 3,6% (13/354) y el 1,2% (3/254) reportado por Sepúlveda y col., (2002) en México y por Agudelo (2010) en Colombia respectivamente, Tarassovi es un serovar que se encuentra frecuentemente en las especies porcina tal como lo demuestra Ramos y col (2006) donde observó una seropositividad del 9,9% en cerdos del Brasil a partir de 351 muestras. Méndez y col., (2013) reportan en México seropositividad a Tarassovi del

70,8% en equinos de un total de 24 muestras. Se han reportado recientemente la presencia de seropositividad a este serovar en caninos de la ciudad de Portoviejo con un 5,0%, dicha seropositividad estaría marcada por la presencia y el contacto indirecto con roedores (Garzón y Velázquez., 2020). La presencia del serovar Tarassovi en los roedores pudiese estar dada por el contacto indirecto que tienen con otros animales propios de los sectores rurales como el cerdo, que son hospedador de mantenimiento y que actúa como reservorios continuos de dicha serovariedad, por lo que esta especie animal contribuye a la difusión de la espiroqueta en el medio en el que habitan tal como es manifestado por García y col., (2014).

Hardjo fue el segundo serovar en frecuencia reportado en nuestro estudio con el 5,0% (4/80), diferentes resultados fueron reportado por Riedemann (1994) con un 7,7% en el Sur de Chile y el 5,7% en Colombia por Agudelo (2010) a partir de muestras de roedores. De igual forma Méndez y col., (2013) reportan en bovinos un 35% seroprevalencia al serovar Hardjo, dicho serovar es considerado un serovar adaptado a la especie bovina (Alder y de la Peña., 2010); sin embargo, seropositividad en especie canina es reportada en la ciudad de Portoviejo por Garzón y Velázquez (2020) con un 2,6%, lo que posiblemente indicaría el contacto existente entre perros y roedores en esta zona. Dicha prevalencia de seropositivos al serovar Harjo se verían reflejada porque los roedores al tener una mayor área de distribución estarían en contacto con bovinos de sectores aledaños o rurales, por lo que los roedores al recorrer diferentes ambientes contaminados pueden estar más expuestos a la transmisión indirecta (Desvars, 2013).

Diversos estudios demuestran la presencia de otros serovares en muestras de roedores tales como Sokoine (Mgodeet y col., 2014), Pomona, Bratislava (Morales y col., 2007), Grippytyphosa e Icterohaemorrhagiae (Agudelo., 2010); Autumnalis (Vedhagiri y col., 2009) y Australis (Paixão 2016). Estos serovares no fueron demostrados en el presente estudios posiblemente por no haber sido parte del panel diagnostico utilizado en el MAT, razón por la que no puede ser descartada su presencia en los roedores capturados ni en el ambiente del cantón Portoviejo.

En el presente estudio cuatro muestras de suero de roedores seropositivos presentaron coaglutinación. La co-aglutinación fue definida cuando la misma muestra presentaba aglutinaciones de más del 50 % de leptospiras con dos o más serovares con títulos iguales.

En relación a los títulos bajos con más de una variedad serológica podría explicarse por la cantidad de reacciones cruzadas que se presentan entre los distintos grupos serológicos y sus variedades serológicas, debido en parte a antígenos comunes entre las leptospiras, o por anticuerpos que persisten de contactos infecciosos previos (Jung y col., 2007). Por otra parte, títulos altos contra diferentes serogrupos se asocian con infecciones actuales o recientes (Rodríguez, 2018), sin embargo, estos hallazgos no fueron encontrados en las muestras procesadas en el presente estudio.

La técnica del MAT detecta anticuerpo circulante, sin embargo, no confirma que los animales reaccionantes estén infectados, ya que esta prueba solo detecta anticuerpos productos de una exposición previa, por lo tanto, para la confirmación si el animal está en un estado infeccioso se debería utilizar otras pruebas directas como la PCR (Tamara, 2018), y Cultivo que permitan aislamiento del agente infeccioso (Riedemann, 1994). Sin embargo a pesar que el MAT no detecta un estatus infeccioso, no se debe disminuir su importancia por su valor para detectar los serogrupos de leptospira circulantes que pueden ser de gran importancia epidemiológica del cantón e iniciar con la identificación de las posibles fuentes de infección y hospedadores de mantenimiento de leptospira por comparación de los reportes serológicos.

En relación al número de capturas observadas realizadas en el presente trabajo se pudo evidenciar que solo una parroquia urbana no se registró captura, aunque existió un esfuerzo de captura similar en otras parroquias del cantón Portoviejo, esto posiblemente se debió a que por ser área céntrica en donde existen edificaciones y mayor afluencia de personas los roedores busquen sitios más tranquilos en donde formar sus madrigueras tal como lo menciona Donald (1984).

La seropositividad de acuerdo al sexo fue observada únicamente en los machos, esto posiblemente es atribuible a los hábitos de los mismo puesto que tienen áreas de distribución mayores que las hembras y que algunas veces coinciden con las de otros roedores, por lo que al recorrer diferentes ambientes contaminados estos pueden estar más expuestos a la transmisión indirecta de *Leptospira*, así mismo los comportamientos agresivos y las peleas favorecen la transmisión de la bacteria a través de las heridas (Ospina y col., 2017).

## **IX. CONCLUSIONES**

La prevalencia observada a partir de 6 serovares de leptospira al MAT en el cantón Portoviejo fue moderada.

Diversos serovares con diferentes títulos fueron observados, siendo los serovares Tarassovi y Hardjo los más frecuentes, lo que demuestra el contacto con reservorios de mantenimiento de estos serovares.

La seropositividad en las 3 especies de roedores capturados fue igual entre ellas, sin embargo, la especie *Rattus Rattus* resultó ser expuesta a menos serovares en comparación a las otras especies capturadas.

En cuanto al sexo, los machos tienen mayor probabilidad de reaccionar positivamente al MAT en comparación a las hembras, por lo que existe mayor exposición de los roedores machos a la bacteria.

## **X. RECOMENDACIONES**

A partir del presente trabajo se llegan a las siguientes recomendaciones.

Para las autoridades encargadas de velar por la salud pública del cantón no descuidar los planes de control y erradicación de roedores en los sectores urbanos y rurales del cantón Portoviejo, evitando así la proliferación de esta plaga que es considerada un potencial diseminador del agente infeccioso como lo es la leptospira.

Por otra parte, a la población mantener en buen estado los drenajes de aguas durante la estación lluviosa y evitar el contacto con aguas producto de inundaciones, puesto que pueden venir contaminadas con orina de animales infectados con leptospira, llegando a potencializar el riesgo de adquirir leptospirosis por contacto con piel, mucosas.

A las autoridades de la Universidad Técnica de Manabí incentivar la investigación en esta área de importancia permitiendo aumentar la batería diagnóstica (serovares) en el área de Leptospira, permitiéndonos tener una mejor comprensión de la epidemiología de la leptospira en la provincia de Manabí, por otra parte dotar de equipos que permitan implementar otras técnicas diagnósticas directa como el PCR, permitiendo corroborar el verdadero estatus infeccioso de los animales estudiados en especial en roedores que comparten hábitat con el ser humano, donde se reporta por parte del Ministerio de Salud Pública ser la primera provincia con más casos de leptospirosis humana en el país.

## XI. BIBLIOGRAFIA

1. **Adnsur.** (2017). *Lo que hay que saber después de la inundación*. Recuperado el 16 de Noviembre de 2018, de Leptospirosis: <https://www.adnsur.com.ar/2017/04/leptospirosis-lo-saber-despues-la-inundacion/>
2. **Agudelo PM., Londoño AF., Quiroz VH., Muñoz AF., Angel JC., Loaiza ET., Rodas JD.** (2010). *Estudio de la prevalencia de leptospira spp en roedores de la central minorista de abastos de Medellin, Colombia*. Rev col cienc pec.20, 4: 560. Recuperado el 28 de Febrero del 2020, de Scielo: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v12n6/v12n6a11.pdf>
3. **Adler B, De la Peña A.** Leptospira and Leptospirosis. *Veterinary Microbiology*. 2010; 140: 287-296.
4. **Avizeh R., Ghorbanpoor M., Hatami S., Abdollahpour.** (2008). *Seroepidemiology of canine leptospirosis in Ahvaz*. Irán: Vet Res. Recuperado el 12 de enero de 2019, de <file:///C:/Users/Eliana/Desktop/8vo%20semestre/RodentMazandaran.pdf>
5. **AVMA.** (2013). *Guidelines for the Euthanasia of Animals*. Recuperado el 22 de Enero de 2019, de [avma: https://www.avma.org/KB/Polices/Documents/euthanasia.pdf](https://www.avma.org/KB/Polices/Documents/euthanasia.pdf)
6. **Bevilacqua, P., Carmo, R., Silva, J. & Giudice, G. M.** (2004). *Roedores inventariados em hospital veterinário e fragmento de mata nativa da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil: caracterização populacional e infecção por Leptospira sp..* *Ciência Rural*, 34(5), 1519-1523
7. **Bharti A., Nally J., Ricaldi N., Matthias M., Diaz M., Lovett M., Levett P., Gilman R., Willig M., Gotuzzo E., Vinetz J.** ( 2003). *Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance*. Recuperado el 03 de Marzo del 2020, de PubMed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14652202>
8. **Blood, B., Szyfres, B. & Moya, V.** (1963). *Infecção por Leptospira Pomona en la cavia de las Pampas (Cavia Pamparum)*. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP); 54 (6):603-09.
9. **Caballeros A, R. J.** (1997). *Manual de procedimientos de laboratorio deL Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia epidemiológica (INDRE)*. México.
10. **Campos, N.** (2014). *Leptospirosis. Med. leg. Costa Rica vol.31 n.2 Heredia .*

11. **Céspedes, M.** (2005). *Leptospira*. Recuperado el 13 de Noviembre de 2018, de Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública: <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/21934/Capitulo4.pdf>
12. **Cordeiro, F. & Sulzer, A.** (1981). *Leptospira interrogans* in several wildlife species in southeast Brazil, *Pesq. Vet. Bras.* 1: 19- 29.
13. **Corrêa, V. S.** (2014). *Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo*. *Braz J Vet Res Anim Sci*, 189-193.
14. **Cosson, P. M.** (2014). *Epidemiology of leptospira transmitted by rodents in southeast Asia*.
15. **Dammert, N.** (2005). *Leptospirosis: Una revisión bibliográfica*. San Marcos.
16. **Desvars A, Michault A, Chiroleu F.** Influence of risk factors on renal leptospiral load in naturally infected wild black rats. *Acta Tropica* 2013; 125: 258-261
17. **Donaires, C. M.** (2012). *Determinantes ambientales y sociales para la reemergencia de la leptospirosis en la región amazónica del Perú*. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 280-284.
18. **Donald J.** (1984) *Roedores como plagas de productos almacenados; control y manejo*: <http://www.fao.org/3/x5052s/x5052S00.htm#Contents>
19. **Ellis W.A.** (1986). *The diagnosis of leptospirosis in farm animals*. In: *The Present State of Leptospirosis Diagnosis and Control*, Ellis W.A. & Little T.W.A., eds. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands, 13–31
20. **Esfandiari B., Reza M., Mehdi M., Khaki P., Mostafavi E., Darvish J., Moradi S., Hanifi H., Nahrevanian H.** (2015). An epidemiological comparative study on diagnosis of rodent leptospirosis in Mazandaran Province, northern Iran. *Epidemiol Health*. doi:<https://doi.org/10.4178/epih/e2015012>
21. **Faine.** (1994). *Leptospira and leptospirosis*. *CRC Press*.
22. **Feigin, A.** (1974). Human leptospirosis. *Rev Clin Lab Sci*, 413-67.
23. **Frison, S.** (2018). *Leptospirosis en perros*. Recuperado el 23 de Noviembre de 2018, de *Leptospirosis en perros de áreas urbanas de la provincia de Jujuy*: [http://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/leptospirosis\\_en\\_perros.\\_a\\_gos\\_18.pdf](http://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/leptospirosis_en_perros._a_gos_18.pdf)
24. **García P., Castro H., García S., Lorente F., Frías S.** (2014) *Leptospirosis porcina: situación, diagnóstico y control*, *Suis* 104,26-31

- 25. Garzón y Velázquez.** (2020) *Seroprevalencia a leptospira patógenas en caninos domésticos de la ciudad de Portoviejo asociada a las características de los animales reaccionantes al MAT.*
- 26. Gamarra, R.** (2009). *Universidad Nacional mayor de San Marcos.* Obtenido de Leptospirosis:  
<http://186.46.160.229/bitstream/123456789/8551/1/MARIO%20Y%20MARGARITA%20TESIS%20LEPTOSPIROSIS.pdf>
- 27. Glenn, M.** (2003). *Estudio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en salitral.* Recuperado el 20 de Noviembre de 2018, de Scielo:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342003000100008](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342003000100008)
- 28. Giraldo L., Santacruz M., Yepes E.** (2002) *Leptospirosis. Las aguas de la explotación porcina como vehículo de la Leptospira, en la zona central cafetera de Colombia.* Recuperado el 20 de Noviembre de 2019, de Scielo:  
[https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2002000100008](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2002000100008)
- 29. Goretta, J.** (2005). *Universo Porcino.* Recuperado el 16 de Noviembre de 2018, de Aumenta la prevalencia de ratas con leptospirosis:  
[http://www.aacporcinos.com.ar/articulos/actualidad\\_porcina\\_aumenta\\_la\\_prev\\_de\\_ratasa\\_con\\_leptospirosis.html](http://www.aacporcinos.com.ar/articulos/actualidad_porcina_aumenta_la_prev_de_ratasa_con_leptospirosis.html)
- 30. Goarant, P. M.** (2009). Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009, 736-747.
- 31. Hartskeerl, T.** (1996). Leptospirosis in wild animals. *Vet. Quart*, 149–150.
- 32. Heymann, D.** (2013). El control de las enfermedades transmisibles. En *Publicación Científica y Técnica* (págs. 467- 474). Washinton: 19.
- 33. INSPI-Portoviejo.** (2013). *Leptospirosis en la provincia de Manabí: Análisis de distribución geográfica en meses de alta prevalencia (Mayo-Junio), Año 2012.* Quito
- 34. INRS.** (2009). *Databio.* Obtenido de Leptospira interrogans:  
<http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Leptospira%20interrogans.pdf>

35. **Jung B.Y., Choi J.S., Kim K.T., Song Y.K., Lee S.H., Lee K.W., et al.** (2007). *Seroprevalence of leptospirosis in Korean municipal zoo animals.* J Vet Med Sci. 69(8):861-3.
36. **Kamath, S. S.** (2014). *J Glob Infect Dis.* Obtenido de Studying risk factors associated with human leptospirosis: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im165k.pdf>
37. **Kamety.** (1993). *Classificacion of species Leptospira interrogans.* Obtenido de AMC: [https://leptospira.amc.nl/media/1507/kmety\\_dikken\\_classification\\_1993-reduced.pdf](https://leptospira.amc.nl/media/1507/kmety_dikken_classification_1993-reduced.pdf)
38. **Kathleen, J.** (2015). Evidence of Leptospira sp. infection among a diversity of African wildlife species: beyond the usual suspects. *Trans R Soc Trop Med Hyg,* 349-351.
39. **Kenneth B, K. S.** (2019). Leptospira infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. *Neglected Tropical Disease.*
40. **Levett.** (2001). Leptospirosis: a forgotten zoonosis? *Clin Appl Immunol Rev* 2001, 435-448.
41. **Lomar.** (2000). *Infectious disease clinics of North America.* Recuperado el 2018 de Noviembre de 13, de Leptospirosis in Latin America: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2864/Arias\\_cm.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2864/Arias_cm.pdf?sequence=1)
42. **Luna J.** (2015) *Determinación del estatus de infección por leptospira y de los factores de riesgos en roedores sinantrópicos y silvestres capturados en la región de Los Ríos, Chile,* tesis de magister en salud animal, universidad austral de chile
43. **Marder, G.** (2005). *Instituto Leloir.* Recuperado el 16 de Noviembre de 2018, de Aumenta la prevalencia de ratas con leptospira: [http://www.aacporcinos.com.ar/articulos/actualidad\\_porcina\\_aumenta\\_la\\_prev\\_de\\_ratas\\_con\\_leptospirosis.html](http://www.aacporcinos.com.ar/articulos/actualidad_porcina_aumenta_la_prev_de_ratas_con_leptospirosis.html)
44. **Martinez, A.** (2006). La zoonosis como Ciencia y su Impacto Social. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria,* 2(9), págs 1-9. Recuperado el 12 de Enero de 2019, de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612675013.pdf>
45. **Méndez, C., Benavides, L., Esquivel A., AldamaI, A., Torres, J., Gavaldón, D. & Meléndez, P. & Moles, L.** (2013). *Pesquisa serológica de Leptospira en*

- roedores silvestres, bovinos, equinos y caninos en el noreste de México.* Rev. Salud Anim. 35(1): 25-32.
- 46. Mgone F., Abdul, Katakweba, Ginethon, Fwalo F., Bahari M., Mashaka Mdangi, Kilonzo B., Mulungu.** (2014) *Prevalence of leptospirosis and toxoplasmosis: A study of rodents and shrews in cultivated and fallow land, Morogoro rural district, Tanzania.* Recuperado el 3 de febrero de 2020, de <http://dx.doi.org/10.4314/thrb.v16i3.X>
- 47. Michna.** (1970). *Leptospirosis.* 484-496.
- 48. Monahan A, J. C.** (2009). Host-Pathogen Interactions in the Kidney during Chronic Leptospirosis. *Vet Pathol* 46, 792-799.
- 49. Montesino C., Arocha E.** (2001). Comportamiento de la leptospirosis humana. *Revista Cubana de Enfermería*, 17(3). Recuperado el 22 de Enero de 2019, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03192001000300005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03192001000300005)
- 50. Moral, M.** (2000). *Guía para el equipo de salud.* Recuperado el 13 de Noviembre de 2018, de Enfermedades Infecciosas- Leptospirosis: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000489cnt-guia-medica-leptospirosis.pdf>
- 51. Morales R, Bravo D, Moreno D, Góngora A, Ocampo A.** (2007). *Asociación serológica de la infección por leptospira en humanos, porcinos y roedores en una granja de Villavicencio-Colombia.* Rev. Orinoquia; 11(2): 73-80
- 52. Nally J, M. F.** (2005). Lethal Infection of C3H/HeJ and C3H/SCID Mice with an Isolate of *Leptospira interrogans* Serovar Copenhageni. *Infect Immun* 73, 7014-7017.
- 53. Nally y col, C. C.** (2004). Alveolar Septal Deposition of Immunoglobulin and Complement Parallels Pulmonary Hemorrhage in a Guinea Pig Model of Severe Pulmonary Leptospirosis. *Am J Pathol* 164, 1115-1127.
- 54. Navas, L.** (2016). *Clinica UNR.* Obtenido de Seminario Central : <http://clinica-unr.com.ar/seminarios-centrales/423/423-discu.php>
- 55. Organización Mundial de la Salud.** (2008). *Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control / Organización Mundial de la Salud;* traducción del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. - Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa

- 56. Organización Mundial de la Salud.** (2003). *Guía de diagnóstico, vigilancia y control*. Recuperado el 23 de Noviembre de 2018, de Leptospirosis humana: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002.23.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf)
- 57. Ospina C., Rincón M., Soler D., Hernández P.** (2017). *Rev. Salud Pública*. Recuperado el 16 de noviembre de 2018, de Papel de los roedores en la transmisión de *Leptospira spp.* En granjas porcinas: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v19n4/0124-0064-rsap-19-04-00555.pdf>
- 58. Paixão, M.S.; Alves, M. F.; Pirajá, G.V.; FerreirA, A. G.; Alves, M. L.; Tenorio, M. S.; Buzetti, W. A. S.; Lucheis, S.B.** (2016). *Leptospira spp. in dairy cattle of Maranhão state, Brazil: frequency, risk factors and mapping of reagent herds*. Recuperado el 4 de febrero de 2020, de Scielo: <http://www.scielo.br/pdf/aib/v83/1808-1657-aib-83-e1022014.pdf>
- 59. Palma, N.** (2011). *Alerta en Manabí por la leptospirosis*. Recuperado el 20 de Noviembre de 2018, de eluniverso: <https://www.eluniverso.com/2011/01/19/1/1447/alerta-manabi-leptospirosis.html>
- 60. Peña., Adler B.** (2010). *Vet Microbiol*. Recuperado el 20 de Noviembre de 2018, de *Leptospira and leptospirosis*: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im165k.pdf>
- 61. Pizarro, E. Z.** (2007). *Infectología al día*. Obtenido de Leptospirosis. Puesta al día: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v24n3/art08.pdf>
- 62. Ramírez., Sandow K., W.** (2005). Leptospirosis(Leptospirosis). *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria, Volumen nº6*, p 2. Recuperado el 12 de Enero de 2019, de <https://www.redalyc.org/html/636/63612649001/index.html>
- 63. Ramos AC., Souza GN., Lienbaum W.** (2006). *Influencia de la leptospirosis en el rendimiento reproductivo de cerdas en Brazil*. Recuperado el 28 de Febrero de 2020, de Elsevier: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16584764>
- 64. Riedemand G., Stella., Cabezas O., Zamora B.** (1994). *Detección de aglutininas antileptospira en sueros de roedores silvestres del área rural de Valdivia, Chile*. Recuperado el 22 de Enero de 2019, de Avances de Medicina Veterinaria: [http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan\\_vet\\_completa/0,1424,S CID%253D8583%2526ISID%253D424,00.html](http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan_vet_completa/0,1424,S CID%253D8583%2526ISID%253D424,00.html)

- 65. Riveros, N.** (2019). *VetComunicaciones*. Obtenido de Leptospirosis en perros de áreas urbanas de la provincia de Jujuy: [https://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/leptospirosis\\_en\\_perros\\_agos\\_18.pdf](https://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/leptospirosis_en_perros_agos_18.pdf)
- 66. Rodríguez, I** (2011). The concept serovar in *Leptospira*. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, vol. 12, págs. 1-4. Recuperado el 12 de Enero de 2019, de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63622567008.pdf>
- 67. Rodríguez V.** (2018) *Especialización en epidemiología cohorte VIII*, Universidad Cooperativa De Colombia Facultad De Enfermería
- 68. Sacsquispe, R.** (2003). *Estudio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en salitral, Piura-1999*. Recuperado el 20 de Noviembre de 2018, de scielo: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-463420030001000](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-463420030001000)
- 69. Santos C, J. M.-J.** (2010). Different outcomes of experimental leptospiral infection in mouse strains with distinct genotypes. *J Med Microbiol* 59, 1101-1106.
- 70. Scialfa E, Grune S, Aguirre P, Romero G, Brihuega B.** (2015). *Didelphis albiventris (Zarigüeya overa) un portador de L. Icterohaemorrhagiae en la provincia de Buenos Aires, Arg.* Revista Electrónica de Veterinaria. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>
- 71. Scialfa, E., Bolpe, J., Bardon, J., Ridao, G., Gentile, J. & Gallicchio, O.** (2010). *Isolation of Leptospira interrogans from suburban rats in Tandil, Buenos Aires*. Rev Argent Microbiol. 42: 126-128.
- 72. Sepúlveda, M.A.; Santiago, D.J. y Preciado, R.F.J.,** 2002. *La rata y el perro, importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de Ciudad Guzmán, Jalisco*. Rev. Cubana Med. Trop. 54(1): 21-23.
- 73. Sosa A.** (2015). *Detección de Leptospira en el cantón Portoviejo (Manabí)*. Recuperado el 22 de Enero de 2019, de UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/4887/1/120361.pdf>
- 74. Steinmann y Priotto.** (2016) *Manual de control de roedores en municipios*. Recuperado el 16 de Marzo de 2019, de Ministerio de Salud publica Tucuman: <http://msptucuman.gov.ar/wordpress/wp-content/uploads/2016/04/Manual-de-control-de-roedores-op.pdf>

- 75. Sterling C, A Thiermann.** (1981). *Urban Rats as Chronic Carriers of Leptospiriosis: An Ultrastructural Investigation.* Vet Pathol 18, 628-637.
- 76. Tamara R., Monje D., N. Landolt, T. Chiani, M. Schmeling, P. Beldoménico, N. Vanasco, Y M. Previtali** (2018). *Primer informe de Leptospira interrogans en el roedor sigmodontino Scapteromys aquaticus..* Recuperado el 3 de febrero de 2020, de Rev Panam Salud Publica: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6386106/>
- 77. Tilahun Z, R. D.** (2013). Global epidemiological overview of leptospirosis. *Intl J Microbiol Res*, 9-15.
- 78. Torres, V. A.** (2000). *Instituto Nacional de Salud.* Obtenido de Leptospiriosis: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/m%C3%B3dulo%20t%C3%A9cnico%20leptospiriosis.pdf>
- 79. Tucunduva., DA Athanzio, EA Goncalves Ramos, EF Silva, MG Reis, AI Ko., D. A.** (2007). Morphological Alterations in the Kidney of Rats with Natural and Experimental Leptospira Infection. *J Comp Pathol* 137, 231-238.
- 80. Tucunduva, M. C.** (2008). Carriage of Leptospira interrogans among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. *Acta Trop* 108, 1-5.
- 81. UNNE.** (2008). Creció el número de roedores transmisores de leptospirosis. *Revista de Ciencia y Técnica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE.*
- 82. Vedhagiri K., Natarajaseenivasan K., Shanmugarajan G. Prabhakaran., Selvin J., Narayanan R., Shouche S., Vijayachari P., Ratnam S.** (2009) *Characterization of leptospira borgpetersenii isolates from field rats (rattus norvegicus) by 16s rRNA and lipL32 gene sequencing.* Recuperado el 3 de Febrero de 2020, de Brazilian Journal of Microbiology: [https://www.researchgate.net/publication/232700966\\_Characterization\\_of\\_Leptospira\\_borgpetersenii\\_isolates\\_from\\_field\\_rats\\_Rattus\\_Norvegicus\\_by\\_16s\\_rRNA\\_and\\_lipL32\\_gene\\_sequencing](https://www.researchgate.net/publication/232700966_Characterization_of_Leptospira_borgpetersenii_isolates_from_field_rats_Rattus_Norvegicus_by_16s_rRNA_and_lipL32_gene_sequencing)
- 83. Villamizar, R.** (2011). *Revista Electronica Veterinaria.* Recuperado el 16 de Noviembre de 2018, de El concepto serovar en Leptospira: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070711/071106.pdf>

- 84. Weatherspark.** (2018). *Weatherspark*. Recuperado el 23 de Noviembre de 2018, de El clima promedio en Portoviejo-Ecuador:  
<https://es.weatherspark.com/y/18295/Clima-promedio-en-Portoviejo-Ecuador-durante-todo-el-a%C3zamora%B1o>
- 85. Zamora., R. S., Riedemann, S. & Cabezas** (1995). Leptospirosis de los roedores silvestres en el área rural de Valdivia. *Arch. Med. Ve*, 115- 118.
- 86. Zilber A., Belli P., Artois M., Kodjo A., Djelouadji Z.** (2016). First Observation of *Leptospira interrogans* in the Lungs of *Rattus norvegicus*. *BioMed*, 2-8. Recuperado el 22 de Enero de 2019, de:  
<file:///C:/Users/Eliana/Desktop/8vo%20semestre/Tesis/BMRI2016-9656274.pdf>

## 12. ANEXOS



Manipulación de los roedores capturados en las trampas Tomahawk para la aplicación de anestésico



Aplicación de anestésico a los roedores capturados con la ayuda de las trampas Tomahawk



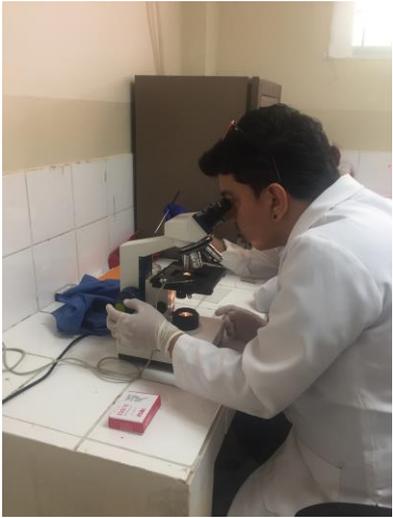
Evaluación de los roedores capturados posterior a la anestesia



Extracción de suero sanguíneo  
y colocación en tubos  
ependorf



Evaluación de los roedores  
capturados para identificar la  
especie



Evaluación de los sueros  
sanguíneos por técnica de  
MAT