



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS DE GRADO

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MODALIDAD:
INVESTIGACIÓN DIAGNÓSTICA O PROPOSITIVA

TEMA:

**DETERMINAR LA INFECCION POR LEPTOSPIRA SPP. EN
PERROS DE LA PARROQUIA CALDERÓN DE LA PROVINCIA
DE MANABI EN EL AÑO 2013**

AUTORES:

**CARREÑO ARTEAGA MARIO ANDRES
CEDEÑO BRAVO GLADYS MARGARITA**

DIRECTOR DE TESIS:

DR. VICTOR MONTES ZAMBRANO

PORTOVIEJO - MANABI – ECUADOR

2013

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, causada por bacterias del género *Leptospira* spp que afecta a animales domésticos, roedores y seres humanos, catalogándola como una enfermedad de importancia para la salud pública. La presente investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de leptospirosis en caninos, mediante la aplicación de la prueba de aglutinación microscópica (MAT), en la parroquia rural de Calderón, muestreándose 253 animales de los cuales el 39% (99/253) reaccionaron positivo a nueve serovares de *Leptospira* (IC 95% 33,12 – 45,14%); de la siguiente manera: el 28% (72/253) fueron positivo a *L. canicola*; el 8,7% (22/253) a *L. sejroe*; el 3,2% (8/253) a *L. grypotyphosa*; el 2,8% (7/253) a *L. icterohaemorrhagiae*; el 1,98% (5/253) a *L. pomona*, *L. bataviae*, *L. hebdomadis*; el 1,6% (4/253) a *L. autumalis*; el 0,4% (1/253) para *L. wolffi*; las características de los animales positivos a *Leptospira* spp, en relación a permanencia, edad y sexo, no existió diferencias significativas $P > 0,05$, por lo que esta enfermedad se presenta con igual ocurrencia en todos los animales.

SUMMARY

Leptospirosis is a zoonotic disease caused by bacteria of the genus *Leptospira* spp affecting pets, rodents and humans, calling it a disease of public health significance. The present study aimed to determine the presence of leptospirosis in dogs, by applying the microscopic agglutination test (MAT) in the Calderon rural parish, being sampled 253 animals of which 39% (99/253) reacted positive to nine *Leptospira* serovars (95% from 33.12 to 45.14%) as follows: 28% (72/253) were positive for *L. canicola*, 8.7% (22/253) to *L. sejroe*, 3.2% (8/253) to *L. grypotyphosa*, 2.8% (7/253) to *L. icterohaemorrhagiae*, 1.98% (5/253) to *L. pomona*, *L. bataviae*, *L. hebdomadis*, 1.6% (4/253) to *L. autumalis*, 0.4% (1/253) for *L. wolffi*; the characteristics of positive animals *Leptospira* spp, regarding permanency, sex and age, there was no significant difference $P < 0.05$, so that this disease occurs equally in all animals occurrence.

CERTIFICACIÓN

Dr. Víctor Montes Zambrano, certifica que la tesis en la Modalidad Investigación Diagnóstica o Propositiva, titulada: DETERMINAR LA INFECCIÓN POR LEPTOSPIRA SPP. EN PERROS DE LA PARROQUIA CALDERÓN DE LA PROVINCIA DE MANABI EN EL AÑO 2013, es trabajo original de los. Egresados, Mario Carreño Arteaga y Margarita Cedeño Bravo, el que ha sido realizado bajo mi supervisión.

Dr. Víctor Montes Zambrano
DIRECTOR DE TESIS

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TEMA:

**DETERMINAR LA INFECCION POR LEPTOSPIRA SPP. EN PERROS DE LA
PARROQUIA CALDERÓN DE LA PROVINCIA DE MANABI EN EL AÑO 2013**

TESIS DE GRADO

Sometida a consideración del Tribunal y Sustentación y Legalización por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL TRIBUNAL

Dr. Pablo Zambrano Rodríguez
DECANO-PRESIDENTE

Dr. Víctor Montes Zambrano
DIRECTOR DE TESIS

MVZ. Juan Zambrano Villacis
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Marina Zambrano Aguayo
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Pablo Zambrano Rodríguez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

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

AUTORES:

.....

Sr. Egdo. Mario Carreño Arteaga

.....

Srta. Egda. Margarita Cedeño Bravo

8.- DISEÑO METODOLÓGICO

8.1.-TIPO DE ESTUDIO:

La presente investigación fue de campo, documental y bibliográfico.

8.2.- ÁREA DE ESTUDIO

La parroquia Calderón del cantón Portoviejo de la provincia de Manabí, fue el escenario para el desarrollo de esta investigación; La parroquia se encuentra localizada al sur central del Cantón Portoviejo, limita al norte con las parroquias Pueblo Nuevo y Río Chico, al sur con la parroquia Ayacucho del cantón Santa Ana, al este con las parroquias Alajuela y Chirijos del Cantón Portoviejo al oeste la zona urbana del Cantón Portoviejo.

Calderón se encuentra ubicado entre las coordenadas 9882.100 y 9876.500 metros de latitud norte y entre las coordenadas 585.300 y 567.600 metros de longitud este. Existe una diferencia de extremo a extremo en su latitud de 15,6 Km, y una diferencia de extremo a extremo en su longitud 17,7 Km. (GAD CALDERÓN, 2012).

Se considerando todos los sitios de la parroquia Calderón los cuales son: San Gabriel, El Tillo, La Cienega, El Rodeo, El Tigre, El Zapallo, Maconta Afuera, La Sera, Maconta Adentro, Potrerillo, Cajones, Los Cuatro Caminos, El Parel Paraíso, El Congo, Zapanillal, Los Cañales, El Jobo, Pechichal, Madera Adentro, Los Garcias, San Vicente de Bijahual, Bijahual, Quebrada de Guillen, Naranjal, La Balsa de Miguelillo, El Hormiguero, Mocochoal, La Pampa, La Chirimoya, San Antonio de Miguelillo, Cruz Alta, Sacón, Las Brisas de Calderón, Maconta quebrada del agua, Calderón Centro.

8.3.- POBLACIÓN O UNIVERSO:

La población en estudio correspondió a los perros domésticos de la parroquia Calderón del cantón Portoviejo

8.4.- MUESTRA

Para establecer este parámetro se determinó un muestreo que determina prevalencias sugerida por Mateu /Casal 2003, la misma que se detalla a continuación:

$$n = \frac{z^2 pq}{B^2}$$

Donde

n= Tamaño de la muestra,

z= 1,96 para el 95% de confianza,

p= Frecuencia esperada del factor a estudiar (20,8%)

q= 1- p

B= Precisión o error admitido

n= 253

8.5.-MÉTODO

El método de referencia para el diagnóstico serológico de leptospirosis es el MAT (del inglés: *Microscopic Agglutination Test*, prueba de aglutinación microscópica), y es considerado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Internacional de Epizootias (OIE) como la prueba de mayor validez diagnóstica; en la cual, el suero del animal es enfrentado con suspensiones de leptospiras vivas de distintos serovares.

Luego de incubar la mezcla, se la observa microscópicamente en busca de aglutinación y se determinan los títulos. (HERRERA, 2008)

Esta prueba es de alta especificidad y sensibilidad y no presenta reacciones cruzadas con otra enfermedad. (STANCHI, N 2010).

Se puede definir a la MAT como, la técnica que en diluciones seriadas de un suero en contacto con una suspensión de leptospiras vivas, incubadas a una determinada temperatura y en un período de tiempo, se lee al microscopio de

campo oscuro considerando, 50% de aglutinación de las leptospiras vivas, como el título de corte para la positividad de la reacción.

La técnica de la MAT se realiza en tubos de hemólisis para realizar las diluciones y placas de 20 cm x 20cm, con 80 pocillos en los cuales se colocan las diluciones y los controles, utilizando pipetas de 0,01 ml.

El diluyente utilizado para el suero es PBS (Solución salina fosfatada buferada).

Se realiza una primera lectura con diluciones con un título de corte 1/50 y luego se llega al título final. Se considera como título final la última dilución en la cual hubo aglutinación completa. (M.S.P.2002).

Los criterios de interpretación de la prueba indican que títulos de 1:50 son sospechosos y de 1:100 ó mayores, son positivos. Títulos de 1:100 a 1:200 son de importancia principalmente en animales no vacunados, títulos mayores con una sola muestra (=1:800) son usualmente indicativos de infección y son de valor diagnóstico siempre y cuando existan datos compatibles con el cuadro clínico (SRIVASTAVA, 2010).

De cada paciente se obtuvo muestras de sangre por venopunción de la vena cefálica, luego se trasvaso a un tubo de 10ml para ser ubicados en un termo refrigerante para su posterior centrifugación. Luego de centrifugada la muestra se trasvaso 1ml de suero estos se depositaron en tubos viales de 5 ml, los cuales se mantuvieron congelados a -25 °C hasta la realización de la prueba de MAT que se realizo en el Laboratorio Veterinario del Instituto de higiene y medicina tropical Leopoldo Izquieta Pérez ubicado en la ciudad de Quito provincia del Pichincha calle panamericana sur km 2 y medio por el M.V.Z. Luis R. Hidalgo A. Microbiólogo del I.N.H.

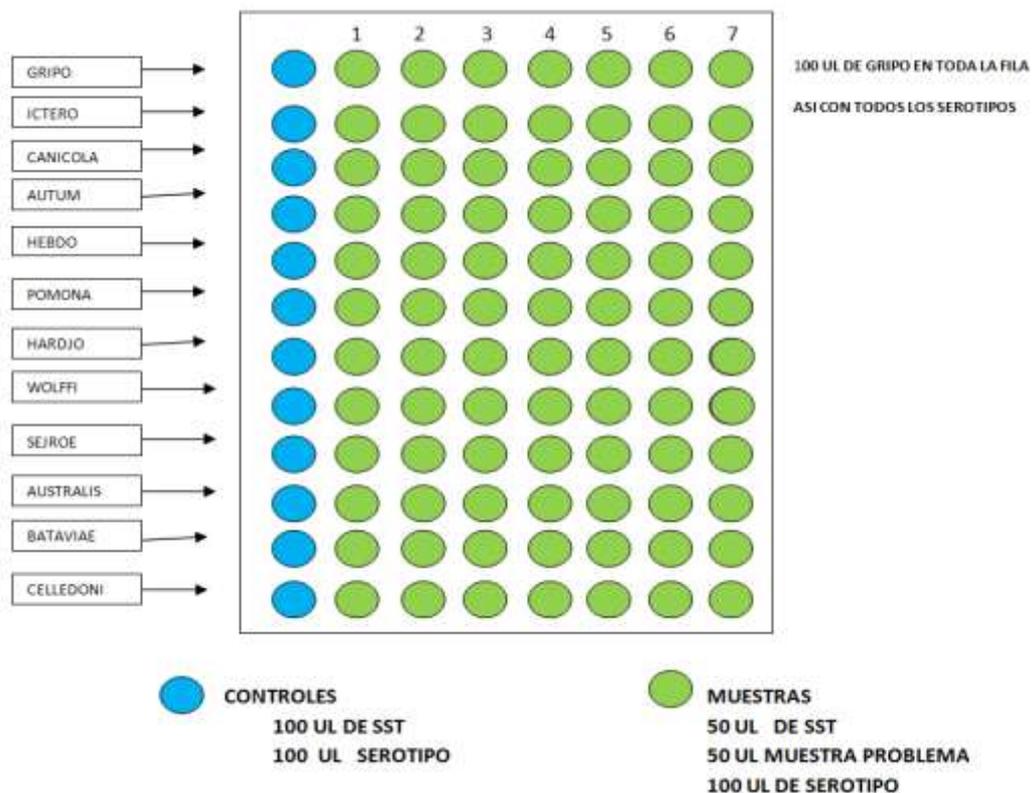
8.6.-PROTOCOLO DE DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS

8.6.1.- PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN EN TUBO (MAT)

- **1.- Materiales:**

Pipetas, puntas plásticas estériles, solución salina tamponada (SST), tubos de cristal de 5cc, placas de 96 pocillos, bandeja plástica, cinta, hoja de registro.

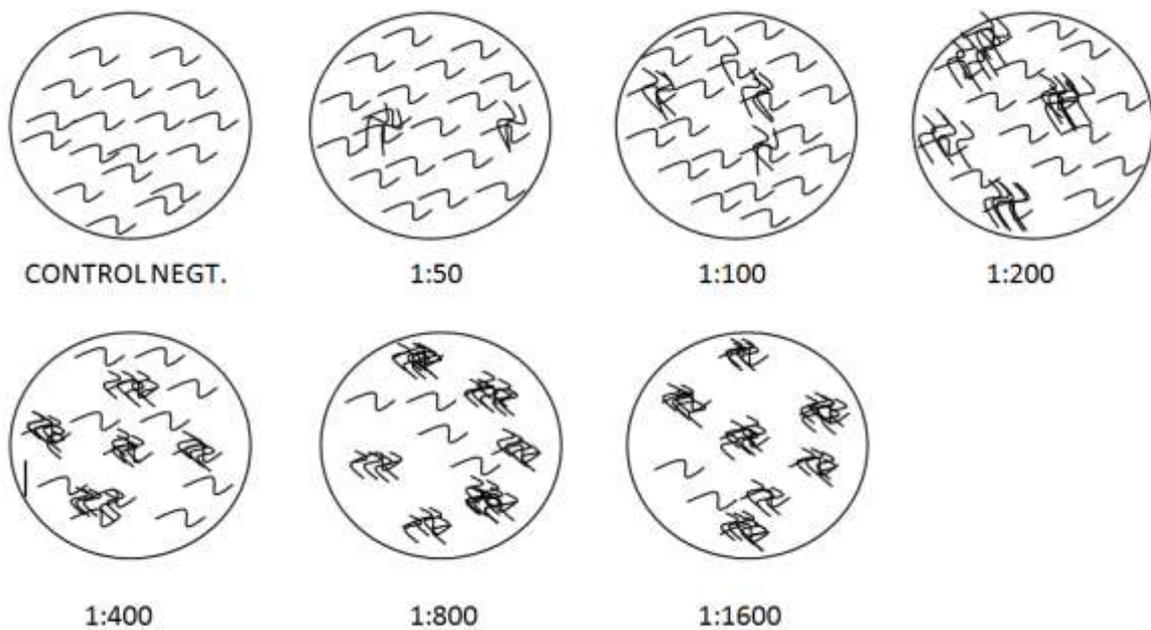
- **2.-** Se preparo la solución madre 1: 25 (25 ul de muestra problema y 600 ul de SST), identificando cada tubo.
- **3.-** Se coloco en los pocillos de la fila azul: 100 ul de SST y 100UL de serotipos, Los serotipos son colocados según la incidencia en el lugar.
- **4.-** En las filas verdes se coloco: 50 ul de la SST, 50 UL de la solución 1:25 por cada muestra (solo van 7 muestras por cada placa)
- 100 UL de serotipo



- **5.-** Se dejó incubar por 2 horas a temperatura ambiente.

- 6.- Se realizó la lectura de las placas mediante el microscopio de campo oscuro con el objetivo de 10X. (El objetivo de 40X es utilizado para ver la morfología de las cepas).
- 7.- Los resultados positivos se dan dependiendo del grado de aglutinación, se describen desde la aglutinación 1:100 en adelante.
- 8.- Los resultados negativos son aquellos que no presenten aglutinación.

EJM DE AGLUTINACIONES¹:



La aglutinación formada se debió a la reacción antígeno-anticuerpo, ya puede ser a enfermedad o post vacunal.

¹ Instituto Izquieta Pérez DR.MVZ Luis Hidalgo

8.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron sometidos a la prueba de X^2 CHI CUADRADO para establecer los niveles de significancia en las diversas variables como sexo, edad, permanencia, presencia de roedores, animales que habitan cerca del río, animales vacunados, conocimientos de la enfermedad por parte de propietarios de mascotas y personas que padecen de la enfermedad. De la misma forma se aplicó intervalo de confianza para la proporción de una muestra con una confiabilidad del 95% $z = 1,96$.

10.-CONCLUSIONES

Una vez realizada la presente investigación se llegó a las siguientes conclusiones

- De un total de 253 perros muestreados en la parroquia rural de Calderón el 69,56% (176/253) fueron machos, y el 30,44%(37/253) fueron hembras; en lo referente a la edad se determinó que el 35,57%(90/253), correspondían a pacientes en edades comprendidas entre 0-1 año; el 39,53%(100/253) a animales mayores 1-3 años; el 16,60%(42/253) animales entre de 3-5 años y el 8,30%(21/253) animales de 5 años en adelante.
- De un total 253 pacientes muestreados el 39% (99/253) resultaron positivos a *Leptospira* spp mediante la prueba de MAT (micro aglutinación).
- De un total de 99 pacientes positivos a *leptospira* spp el 76% (75/99) fueron machos, y el 24%(24/99) fueron hembras; en lo relacionado a la edad de los animales positivos el 32,32% (32/99), fueron pacientes entre 0 -1 año; el 35,35%(35/99), fueron animales entre 1-3 años; el 21,21%(21/99) entre de 3-5 años, y el 11,11% (11/99). animales mayores de 5 años.
- De un total de 99 pacientes positivos a la prueba de MAT a *Leptospira* spp que equivalen al 39% (99/253) el 28% (72/253) de los pacientes reaccionaron positivamente a *L. canicola*; el 8,7% (22/253) a *L. sejroe*; el 3,2% (8/99) a *L. grypotyphosa*; el 2,8% (7/99) a *L. icterohaemorrhagie*; el 1,98% (5/99) a *L. pomona*, *L. bataviae*, *L. hebdomadis*; el 1,6% (4/99) a *L. autumallis*; el 0,4% (1/99) para *L. wolffi*; encontrándose ausencia para los serotipos de *L. hardjo* y *tarassovi*.

- De un total de 253 pacientes muestreados, en la Parroquia Calderón, se constato sus características de permanencia estableciendo que el 4% (11/253) pacientes viven dentro de la casa, el 96% (242/253) permanecen fuera de las casas. De la misma manera según los resultados del MAT; de 99 pacientes positivos en la Parroquia Calderón, se constato sus características de permanencia encontrando que el 5 % (5/99) pacientes viven dentro de la casa, el 95% (94/99) permanecen fuera de casa.
- De un total de 253 personas encuestadas en el transcurso de la presente investigación encontramos que un 89% (225/253) existe presencia de roedores; el 11% (28/253) no la tienen, De lo que respecta a casos positivos el 36% de casas (91/253) si presentan roedores, el 3% (8/253) no se encontró presencia de ratas
- De un total de 253 propietarios encuestados pudimos encontrar que un 63%(160/253) personas tienen conocimiento de esta enfermedad; el 37%(93/253) no poseen información de esta enfermedad.
- De un total de 253 animales se pudo constatar que un 2%(6/253) animales recibieron vacunación para la leptospira; de los cuales el 1,6% resultaron positivos a leptospira spp.
- De un total de 253 personas encuestadas se constato que un 81% (205/253) humanos no han sufrido la enfermedad; el 19%(48/253) humanos si padecen de esta enfermedad, De la misma manera los pacientes que reaccionaron positivamente a la prueba del MAT de lo cual corresponde a un 39% encontramos que un 29,35% (75/99) personas no presentaron síntomas de la enfermedad; el 9,39% (24/253)propietarios o personas allegados a los pacientes si padecen de la enfermedad.
- Se pudo determinar que en las variables de sexo, edad, permanencia, presencia de roedores, perros cercanos al río, perros vacunados contra

leptospira, propietarios con conocimiento de la enfermedad, humanos que padecen de la leptospirosis cercanos a perros positivos, no existe diferencia significativa en ninguna de las variables estudiadas para esto se utilizó la prueba de X^2 para su comprobación.

- Se comprobó que la leptospirosis se presentó en la parroquia Calderón en un 39% de prevalencia con un Intervalo de confianza de 33,12% a 45,14% con un nivel de confiabilidad al 95%
- Desde el punto de vista epidemiológico la leptospirosis es una enfermedad difícil de controlar, porque el microorganismo se alberga y se expulsa durante muchos años por la orina de animales portadores aumentando su diseminación y prevalencia; la única medida preventiva es la vacunación aunque para que esta sea efectiva se deben detectar los serovares específicos relacionados con cada caso.

11.-RECOMENDACIONES

Una vez culminado el presente trabajo de investigación podemos llegar a las siguientes recomendaciones:

- Concientizar a los dueños de las mascotas infectadas, del grave peligro que corre la población humana debido a que este agente causal es eliminado por la orina de los animales enfermos.
- Que las Autoridades de salud realicen campañas de prevención de leptospirosis canina en la población de calderón, permitiendo controlar esta enfermedad que es muy frecuente en la población humana en épocas de invierno.
- Que las autoridades de Salud realicen un seguimiento y monitoreo constante de las personas que tienen leptospirosis, ya que pueden ser también diseminadores de este agente infecciosa.
- Realizar campañas de desratización en la parroquia calderón en donde se encuentran los casos de perros positivos a leptospira spp.
- Crear un Instituto o Departamento de Investigaciones de la Leptospirosis spp, por ser una enfermedad que ocasiona en algunos casos la muerte de pacientes que la padecen.
- Que la población de la parroquia Calderón evite el consumo de agua o alimentos contaminados con orina de animales enfermos
- Impedir que roedores y otros animales silvestres vivan en áreas de habitación humana manteniendo los alrededores escrupulosamente limpios, removiendo escombros y basuras, cortando pastos y arbustos, instalando un saneamiento adecuado, en particular con una correcta disposición de aguas residuales, de baños y buena provisión de agua limpia.