

Evidencia serológica de circulación de *Leptospira* spp en *Rattus norvegicus* naturalmente expuestos en una zona urbana colombiana

Serological evidence of *Leptospira* spp circulation in naturally-exposed rats (*Rattus norvegicus*) in a Colombian urban area

Piedad Agudelo-Flórez¹, Juan C. Arango¹, Elisa Merizalde¹, Andrés F. Londoño², Víctor H. Quiroz² y Juan D. Rodas²

1 Instituto Colombiano de Medicina Tropical–Universidad CES, Colombia. pagudelo@ces.edu.co
2 Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.

Recibido 27 Enero 2010/Enviado para Modificación 12 Diciembre 2010/Aceptado 27 Diciembre 2010

RESUMEN

Objetivo Determinar la frecuencia de anticuerpos dirigidos contra especies de *Leptospira* patógenas en reservorios naturales, con el propósito de establecer evidencia de su papel potencial en la dispersión ambiental de *Leptospira* y por consiguiente su actuación como agente diseminador de la infección tanto al humano como a otras especies susceptibles.

Materiales y métodos El muestreo se llevó a cabo en la Plaza Minorista durante el periodo comprendido entre agosto de 2006 y abril de 2007, en el cual se capturaron 254 roedores *Rattus norvegicus*. Se obtuvo sangre de estos por punción cardiaca y el suero resultante se procesó con la prueba de Microaglutinación.

Resultados El análisis serológico para verificar las serovariedades circulantes de *Leptospira* spp, dio como resultado que 64 roedores (25,2 %, 95 % CI=19,5-30,1) tuvieron títulos positivos para al menos una de las 11 serovariedades probadas.

Conclusiones Los datos muestran que no solo la serovariedad Icterohaemorrhagiae está asociada con esta especie reservoria; también lo están otras serovariedades como Grippothyphosa y Canícola. El estudio permitió determinar la frecuencia de anticuerpos contra especies patógenas de *Leptospira* para reservorios procedentes de una zona urbana colombiana. Estos datos son relevantes para las entidades de salud pública por constituir la base para la implementación de campañas de control adecuadas para esta zona del país y como modelo de otros estudios similares en otras ciudades colombianas.

Palabras Clave: Anticuerpos, epidemiología, *Leptospira*, prueba de aglutinación, serovar (*fuentes: DeCS, BIREME*).

ABSTRACT

Objective Assessing the frequency of antibodies directed against pathogenic *Leptospira* species found in natural reservoirs for establishing evidence of their poten-

tial role in the environmental dispersion of *Leptospira* and consequent dissemination of the infection to humans as well as to other susceptible species.

Material and methods A survey was carried out in the Plaza Minorista from August 2006 to April 2007 in which 254 rats (*Rattus norvegicus*) were captured. Blood was obtained from these rodents by cardiac puncture and the resulting serum was used for microagglutination tests.

Results Serological analysis for verifying *Leptospira* spp circulating serovars resulted in 64 rodents (25.2 %; 19.5-30.1 95 %CI) having positive antibody titres for at least 11 of the serovars tested.

Conclusions Frequency data regarding the antibodies so detected showed that the Icterohaemorrhagiae serovar was not the only one possibly associated with this reservoir species, but also with others such as the Grippothyphosa and Canicolaserovars. The study determined the frequency of antibodies against pathogenic *Leptospira* species for reservoirs from an urban area in Colombia. This data is relevant for public health authorities and might constitute the basis for implementing appropriate control campaigns for this area of the country and, likewise, this work could serve as a model for similar studies in other Colombian cities.

Key Words: Antibodies, epidemiology, *Leptospira*, agglutination test, serovar (source: MeSH, NLM).

La leptospirosis es una zoonosis re-emergente de distribución mundial que está presente tanto en áreas rurales como urbanas (1). La enfermedad es ocasionada por una espiroqueta del género *Leptospira* del que se han descrito 13 especies patógenas y que afecta a numerosos animales, tanto domésticos como silvestres (2). La bacteria coloniza de manera persistente los túbulos renales de hospederos susceptibles. Las fuentes de contaminación con la espiroqueta pueden ser el contacto directo con tejidos u orina de animales infectados o el contacto indirecto con alimentos, aguas y suelos contaminados con orina de animales portadores de la bacteria; esto es debido, a la capacidad que tienen las especies patógenas de *Leptospira* de sobrevivir por períodos variables en ambientes acuáticos o húmedos (3).

Algunas especies de animales actúan como hospederos adaptados para *Leptospira* patógena, que desarrollan formas agudas y crónicas de la enfermedad y excretan a su vez el microorganismo a través de sus mucosas y en su orina (leptospirosis) en forma permanente o intermitente lo que constituye una fuente potencial de infección inter e intra específica. Dentro de este grupo se incluyen los porcinos, equinos, bovinos, caprinos y caninos. En otras especies animales, la fase de leptospirosis es permanente, sin presentarse en ellos sintomatología clínica evidente. Por esta razón estos animales son considerados reservorios o huéspedes de mantenimiento de la bacteria. Se encuentran en este grupo los roedores, tanto sinantrópicos como

silvestres, y los marsupiales (4,5). Todas estas especies animales, cuando están infectadas, son una fuente potencial de transmisión de la enfermedad para el humano que es susceptible a todas las especies patógenas de *Leptospira* (3).

En zonas urbanas las condiciones inadecuadas de saneamiento han establecido ambientes propicios para que se presente la transmisión de la enfermedad asociada a los roedores (6). Estudios previos realizados en el continente americano han señalado la importancia de estos reservorios, predominantemente *Rattus norvegicus*, en la transmisión de la leptospirosis urbana con registros de seroprevalencia de 77,4 % para la ciudad de Detroit (7), 27 % para Barbados (8), 36,1 % para Río de Janeiro (9) y 45,8 % para la ciudad de Buenos Aires (10).

Para Colombia aún no se registran datos que permitan establecer la situación epidemiológica real en zonas urbanas, pero es necesario conocer la frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp en este reservorio, para establecer evidencias objetivas de su papel como fuente potencial de infección en una zona en particular. Esto cobra importancia especial si se tiene en cuenta que el papel de los roedores en la epidemiología de la leptospirosis puede variar entre distintas áreas geográficas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se llevó a cabo un estudio en roedores naturalmente expuestos en una zona urbana de la ciudad de Medellín, con el propósito de establecer su papel potencial en la dispersión ambiental de *Leptospira* y por consiguiente su actuación como agente diseminador de la infección tanto al humano como a otras especies susceptibles (11). En este reporte presentamos la evidencia serológica de la circulación de *Leptospira* spp en estos roedores. Esta información es relevante debido a que no se dispone de reportes previos, para zonas urbanas del país, donde se haya establecido la frecuencia de anticuerpos dirigidos contra especies de *Leptospira* patógenas en reservorios adaptados. Estos datos son de utilidad para las entidades de salud pública del municipio por ser la base para la implementación de campañas de control de roedores para esta zona del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El muestreo se llevó a cabo en la Plaza Minorista de la zona urbana de la ciudad de Medellín, Colombia durante los meses de agosto de 2006 a abril de

2007. Se realizaron muestreos nocturnos con un sistema de captura viva con trampas tipo Sherman y Tomahawk cebadas con una mezcla de hojuelas de avena, mantequilla de maní y esencia de vainilla. Los roedores atrapados durante la noche eran clasificados por especie, se sedaban con una mezcla de Ketamina-Xilazina y se obtenía su sangre por punción cardiaca para el análisis serológico. Posteriormente los roedores se sacrificaban con una sobredosis de Eutanax. Todos los procedimientos realizados contaron con el aval del Comité de Ética de experimentación animal de la Universidad de Antioquia.

Análisis serológico

Las muestras se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos y el suero resultante se almacenó a -20 °C hasta su procesamiento con la prueba de Microaglutinación (MAT) que es la prueba de referencia para leptospirosis y siguiendo las especificaciones descritas por la Organización Mundial de la Salud (5). Inicialmente a las muestras de suero se les hicieron diluciones dobles a partir de la dilución 1:12,5 hasta 1:200 y se pusieron en contacto con el antígeno de *Leptospira* spp. En la prueba se utilizaron antígenos vivos cultivados en medio líquido Ellinghausen-McCullough- Johnson-Harris (EMJH-Difco). Se utilizó un panel de 11 serovariedades patógenas de *Leptospira* spp, seis de ellas (Icterohaemorrhagiae, Grippothyphosa-Valbuzzi, Pomona, Hardjo, Canicola y Bratislava) son consideradas como las más comunes en Colombia (12), adicionalmente se incluyeron las serovariedades Australis, Castellonis, Pyrogenes, Tarassovi y Shermani con el propósito de ampliar el espectro de inmuno-reacción. Todas las cepas fueron donadas por el Laboratorio de Leptospirosis y Borreliosis de la Universidad Nova de Lisboa-Portugal.

La prueba se leyó en el microscopio de campo oscuro con objetivo de 10x. El título de anticuerpos se fijó en la dilución inmediatamente anterior a aquella en la cual se vio negativa la reacción de aglutinación. La prueba se interpretó como positiva cuando se observó aglutinación de más del 50 % de leptospirosis, de cualquiera de las serovariedades probadas, en una dilución del suero mayor o igual a 1:50. Se consideró coaglutinación cuando la misma muestra presentaba aglutinaciones de más del 50 % de leptospirosis con dos o más serovariedades.

Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos en el programa Microsoft®Excel 2003. Se tabularon los datos de cada roedor consignando fecha de muestreo, sexo,

edad aproximada y estado de salud aparente en el momento de la captura. Se realizó la distribución de la frecuencia de positividad para las 11 serovariedades de *Leptospira* spp obtenida por la prueba de microaglutinación.

RESULTADOS

Se capturaron 254 roedores, todos pertenecientes a la especie *Rattus norvegicus*, vulgarmente conocida como rata noruega o rata de las alcantarillas. El 70,5 % eran adultos y 61,4 % eran machos. El 92,1 % presentaban un buen estado de salud al momento de la captura establecido por agresividad, presencia de pelaje liso y ausencia de lesiones externas.

El análisis serológico por MAT, para verificar las serovariedades circulantes de *Leptospira* spp, dio como resultado que 64 roedores (25,2 %, 95 % CI=19,5-30,1) tuvieron títulos positivos para al menos una de las serovariedades probadas. No hubo asociación estadísticamente significativa ($p < 0,05$), entre el estatus de seropositivo y las variables de sexo, edad y condición de salud.

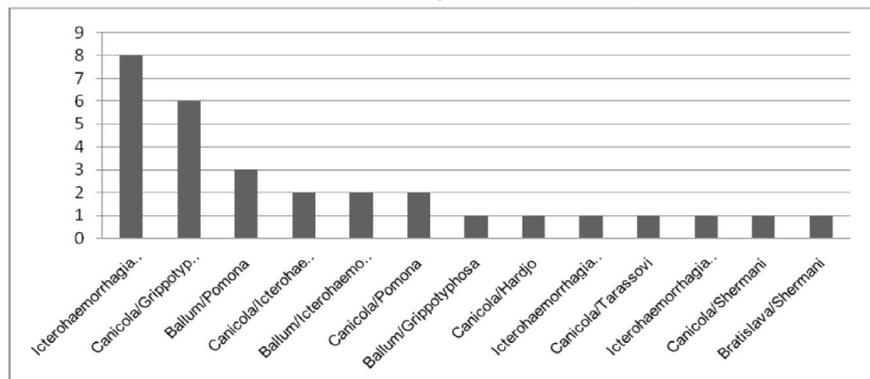
Fueron más frecuentes las respuestas de anticuerpos contra las serovariedades Grippotyphosa-Valbuzzi (21,0 %), Icterohaemorrhagiae (20,4 %) y Canicola (15,9 %). Se presentó una respuesta de anticuerpos intermedia para las serovariedades Ballum-Castellonis (11,5 %) y Pomona (8,9 %). Fue evidenciada una respuesta de anticuerpos baja para las serovariedades Shermani (6,4 %), Hardjo (5,7 %), Bratislava (5,1 %), Tarassovi (4,5 %) y Pyrogenes (0,6 %), ninguna de las muestras aglutinó con la serovariedad Australis. De las 64 muestras positivas, 14 aglutinaron con una única serovariedad.

Con respecto a las coaglutinaciones, 30 muestras presentaron positividad con dos serovariedades. En la Figura 1 se presenta la distribución de las asociaciones encontradas siendo Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa-Valbuzzi la coaglutinación más frecuente. Nueve muestras fueron positivas para tres serovariedades; en este caso la coaglutinación más frecuente fue Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa-Valbuzzi y Canicola. En diez muestras se presentó aglutinación con cuatro o más serovariedades.

La distribución de la seropositividad por mes de muestreo estableció que el máximo porcentaje se presentó en el mes de marzo de 2007 con 40 % (10/25), seguido por el mes de septiembre del 2006 con 32,9 % (26/79).

Los mínimos porcentajes de positividad se registraron en los meses de noviembre de 2006 con 7,7 % (1/13) y abril de 2007 donde de los 21 roedores capturados ninguno fue positivo por MAT. En todos los meses que se registró seropositividad se presentaron títulos positivos para la serovariedad *Icterohaemorrhagiae*.

Figura 1. Distribución de la frecuencia de coaglutinaciones presentadas para dos serovariedades patógenas de *Leptospira* spp. 2006-2007



DISCUSIÓN

En Colombia se conoce muy poco sobre la epidemiología de la leptospirosis en ambientes urbanos, particularmente el papel que cumple el roedor de esos ambientes en el ciclo de transmisión de la espiroqueta. Para explorar esta situación, realizamos un estudio serológico en roedores capturados en zona urbana de la ciudad de Medellín durante los años 2006 y 2007. Este estudio mostró seropositividad del 25,2 % para algunas serovariedades patógenas de *Leptospira* spp, lo cual proporciona evidencia de exposición previa a este agente zoonótico por parte de la población urbana de roedores.

Es ampliamente conocida la asociación que se presenta entre la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* y los roedores (4,5). Específicamente *R. norvegicus*, la única especie capturada en este estudio, es referenciada como una especie portadora de esa serovariedad, aunque se ha encontrado también portadora de otras como *Ballum* (13). Los datos de frecuencia de anticuerpos encontrados en la población de roedores del área urbana de la ciudad de Medellín, muestran que no solo la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* está posiblemente asociada con esta especie reservoria, otras serovariedades como *Grippothyphosa* y *Canicola* también pueden estarlo.

Lo anterior corrobora la afirmación de que un serovar puede encontrarse en diferentes huéspedes y una especie animal puede ser huésped para diferentes serovares (4). Se presenta entonces la posibilidad de que en la zona de estudio *R. norvegicus* pueda estar diseminando permanentemente la serovariedad Icterohaemorrhagiae, debido a que todos los meses en los que se registró positividad se detectaron títulos para Icterohaemorrhagiae, pero además en forma permanente o intermitente, puede estar diseminando otras serovariedades para las que no esté adaptada. Esto implica que se ampliaría el espectro de infección, que clásicamente se ha establecido para los roedores como portadores de leptospiras patógenas para hospederos susceptibles tales como el humano.

Adicionalmente la presencia de anticuerpos contra serovariedades de *Leptospira*, que no se encuentran frecuentemente asociadas a *R. norvegicus*, puede también ser un indicador epidemiológico de que esta especie es un centinela de la circulación de diferentes serovariedades en el área de estudio. Esto puede atribuirse a que los roedores al desplazarse libremente por todas las áreas del mercado pueden establecer contacto con otras especies animales, procedentes de diferentes regiones del departamento de Antioquia que son llevadas allí para ser comercializadas en la zona de la plaza; tales como porcinos, bovinos y equinos que podrían encontrarse infectadas con *Leptospira* spp de origen rural. Lo anterior se corrobora al registrarse frecuencias de anticuerpos contra las serovariedades Pomona, Hardjo y Bratislava que están asociadas con las especies pecuarias anteriormente señaladas. Igualmente, los roedores pueden entrar en contacto con aquellas especies que habitan permanentemente en el sector del mercado, como es el caso de los perros callejeros que deambulan libremente por las instalaciones de este recinto y sus alrededores o con aquellos que son vendidos por algunos comerciantes de la plaza. Los datos de seropositividad obtenidos contra la serovariedad Canícola adaptada a perros permiten inferir este último aspecto. Un estudio realizado con caninos callejeros procedentes de zona urbana de la ciudad de Cali evidencia que esta especie cumple un papel importante en la epidemiología de la leptospirosis urbana, al registrarse por MAT una seropositividad de 41,1 % (14).

En Colombia se registran dos reportes previos que establecen la presencia de *Leptospira* en roedores rurales. En el primer estudio del que se encuentra registro, realizado en porquerizas del Valle del Cauca, se capturaron 111 *R. norvegicus* de los cuales se pudo aislar la serovariedad Icterohaemorrhagiae de tejido renal y solo en un caso la serovariedad Pomona (15). En el segundo

trabajo realizado también en porquerizas, pero esta vez de la zona central cafetera de Colombia, se capturaron 75 roedores encontrándose evidencias de infección por *Leptospira* en 82,7 % (62/75). La especie de roedor más abundante fue *Rattus rattus*, seguido de *R. norvegicus* y *Mus musculus* (16). Los reportes anteriores coinciden en señalar a *R. norvegicus* como una especie importante en áreas rurales y que es portadora de *Leptospira* spp.

Aunque no se pueden establecer relaciones causales a partir de un estudio descriptivo como el que aquí se presenta, la presencia de anticuerpos en roedores contra *Leptospira* spp de diferentes serovariedades patógenas, unido al registro de que 21 % (95 % IC: 15,5 %; 25,4 %) fueron positivos por cultivo (11), implican una exposición a *Leptospira* de orígenes diferentes y un consiguiente riesgo potencial para la salud humana y pecuaria de la zona urbana de Medellín.

Comparando los resultados de los estudios previos con los hallazgos del presente estudio, realizado en área urbana, se infiere que esta especie de roedor cumple un papel dominante sobre otras especies de roedores, favorecido posiblemente por su gran tamaño que le proporciona mayor jerarquía competitiva (17), lo que la hace diseminadora importante de *Leptospira* spp en ambientes urbanos.

Analizando estos reportes de implicación de roedores en la epidemiología de leptospirosis para Colombia, se establece también que tradicionalmente la leptospirosis ha sido considerada en el país como endémica de zonas rurales y se ha asociado a ocupaciones humanas propias de estas zonas (18-20). Pero la leptospirosis ha re-emergido como un problema de grandes centros urbanos, donde las condiciones inadecuadas de saneamiento ambiental favorecen la transmisión de la enfermedad en humanos asociada a roedores (6). Estudios previos realizados en Colombia, entre los que se cuentan el brote epidémico en la región caribe Colombiana con un total de 47 casos confirmados y mortalidad de 17 % (21), junto a otros reportes de positividad del 11,5 % en Medellín, 23,3 % en Cali y 12,5 % en la región de Urabá (12,22,23), han confirmado la presencia de leptospirosis humana en población general de zonas urbanas. En estos estudios y adicionalmente por el método de MAT, se registra mayor seropositividad para los serovares Icterohaemorrhagiae y Grippityphosa todos asociados con la transmisión de roedores.

Los resultados de este estudio enfatizan en la necesidad de establecer control de roedores por presentarse riesgo potencial para la salud pública en la zona urbana de la ciudad de Medellín. Las medidas de control de roedores incluyen la protección de alimentos, eliminación adecuada de desperdicios y en general un reordenamiento del medio ambiente para eliminación de refugios, manejo de residuos y acondicionamiento de infraestructura (17). Todo esto llevando a cabo un proceso participativo donde se involucre tanto a la comunidad afectada como a las autoridades de salud pública municipal.

Con los aportes de esta investigación, el personal involucrado en los programas de control de roedores podrá tener una visión más completa de la situación de la leptospirosis urbana que le permitan evaluar los riesgos de exposición humana, para así aplicar las medidas de control adecuadas. Además, cabe resaltar que el personal clínico debe incluir a leptospirosis en el diagnóstico diferencial de otros síndromes febriles que también se presentan en áreas urbanas, como es el caso del dengue y la influenza, por tener sintomatología semejante pero manejo terapéutico diferente ♣

Agradecimientos: Al personal administrativo de la Plaza Minorista de la ciudad de Medellín, Colombia. Este estudio recibió financiación del Comité para el Desarrollo de la Investigación, Universidad de Antioquia (CODI EO 1206) y el Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES.

REFERENCIAS

1. Meites E, Jay MT, Deresinski S, Shieh WJ, Zaki SR, Tompkins L, et al. Reemerging leptospirosis, California. *Emer Infect Dis* 2004;10:406-12.
2. Levett PN. Sequence-based typing of *Leptospira*: Epidemiology in the genomic era. *PLoS Negl Trop Dis*. 2007;1:e120.
3. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al.. Peru-United States Leptospirosis Consortium. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:757-71.
4. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001;14: 296-326.
5. World Health Organization [Internet]. International Leptospirosis Society. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control 2003. Disponible en: <http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/ilspage.html> Consultado Diciembre 2009.
6. Ko AI, Galvão M, Ribeiro CM, Johnson WD, Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet* 1999; 354: 820-5.
7. Thiermann AB. Incidence of leptospirosis in the Detroit rat population. *Am J Trop Med Hyg*. 1977;26: 970-4.
8. Taylor KD, Turner LH, Everard JD. Leptospire in *Rattus* spp. on Barbados. *J Trop Med Hyg*. 1991;94:102-3.
9. Lilienbaum W, Ribeiro V, Martin E, Bispo V. Serologic study for detecting anti-*Leptospira* antibodies in *Rattus norvegicus* from Duque de Caxias, Rio de Janeiro Brazil. *Rev Latinoam Microbiol*. 1993; 35:357-80.

10. Arango J, Cittadino E, Agostini A, Mazzonelli D, Gleyre D, Alvarez C, et al. Prevalencia de leptospirosis en *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Ecología Austral*. 2001;11:25-30.
11. Agudelo-Flórez P, Londoño AF, Quiroz VH, Angel JC, Moreno N, Loaiza ET, et al. Prevalence of *Leptospira* spp. in Urban Rodents from a Groceries Trade Center of Medellín, Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;81:906-10.
12. Sebek Z, Sixl W, Valova M, Marth E, Dock M, Reinthaler FF. Serological investigations for leptospirosis in humans in Columbia. *Geogr Med Suppl*. 1989;3: 51-60.
13. Thiermann AB. The norway rat as a selective chronic carrier of *Leptospira icterohaemorrhagiae*. *J Wildl Dis*. 1981;17:39-43.
14. Rodríguez AL, Ferro BE, Varona MX, Santafé M. Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de la ciudad de Cali. *Biomédica*. 2004; 24: 291-5.
15. Morales GA, Guzmán VH, Beltrán LE. Leptospirosis in Colombia: isolation of *Leptospira* spp. from the kidneys of brown rats (*Rattus norvegicus*) trapped on infected piggeries. *Trop Anim Health Prod*. 1978; 10:121-3.
16. Giraldo G, Orrego A, Betancurth AM. Los roedores como reservorios de *Leptospiras* en plantales porcinos de la zona central cafetera de Colombia. *Arch. Med. Vet*. 2002; 34:69-78.
17. Coto H. *Biología y control de ratas sinantrópicas*. Buenos Aires: Editorial Abierta. 1997; p. 207.
18. Ochoa JE, Sanchez A, Ruiz I. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Rev Panam Salud Pública*. 2000; 7:325-31.
19. Nájera S, Alvis N, Babilonia D, Alvarez L, Máttar S. Occupational leptospirosis in a Colombian Caribbean area *Salud Publica Mex* 2005; 47:240-4.
20. Góngora A, Parra JL, Aponte L, Gómez LA. Seroprevalencia de *Leptospira* spp. en Grupos de Población de Villavicencio, Colombia. *Revista Salud Pública (Bogotá)*. 2008; 10:269-78.
21. Epstein PR, Calix O, Blanco J. Climate and disease in Colombia. *Lancet* 1995;346:1243-44.
22. Ferro BE, Rodríguez AL, Perez M, Travi BL. Seroprevalencia de infección por *Leptospira* en habitantes de barrios periféricos en Cali, Colombia. *Biomedica* 2006;26:250-57.
23. Agudelo-Flórez P, Restrepo BN, Arboleda M. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. *Cad Saúde Pública* 2007;23:2094-102.