

Prevalencia de *Leptospira* spp. en especies sinantrópicas dentro del programa de control de plagas y vectores del Bioparque Ukumarí, Pereira, Colombia

Trabajo de grado para optar por el título de Médica Veterinaria

Vanessa Naranjo Estrada

Asesor

Santiago Monsalve Buriticá

Médico Veterinario MV, Esp, Msc. Dr Sc

Unilasallista Corporación Universitaria

Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias

Medicina Veterinaria

Caldas - Antioquia

2021

Tabla de Contenido

Resumen	5
Introducción	6
Objetivos.....	7
<i>Objetivo General.....</i>	<i>7</i>
<i>Objetivos Específicos</i>	<i>7</i>
Marco teórico.....	8
<i>Epidemiología</i>	<i>8</i>
<i>Patogenia</i>	<i>9</i>
<i>Manejo integrado de plagas</i>	<i>10</i>
<i>Métodos Diagnósticos</i>	<i>11</i>
Microaglutinación	11
PCR en tiempo real.....	12
Materiales y métodos.....	14
<i>Elementos de investigación</i>	<i>14</i>
Área de estudio y monitoreo	14
Población monitoreada	14
Tipo de captura	14
Clasificación	15
Formatos.....	16
<i>Protocolo de muestreo.....</i>	<i>16</i>
<i>Didelphis marsupialis</i>	<i>16</i>
<i>Rattus norvegicus y Rattus rattus</i>	<i>19</i>
<i>Protocolo de PCR y Microaglutinación para Leptospira.....</i>	<i>21</i>
PCR	21
Microaglutinación	21
Resultados.....	23
Discusión	26
Conclusiones.....	29
Referencias Bibliográficas	30

Lista de tablas

<i>Tabla 1. Prevalencia de Leptospira spp. Confirmados por PCR y MAT, en especies sinantrópicas del Bioparque Ukumari, Pereira-Colombia 2021.</i>	21
<i>Tabla 2. Prevalencia de Leptospira spp. en especies sinantrópicas por biorregión del Bioparque Ukumari 2021.</i>	22
<i>Tabla 3. Roedores positivos a Leptospira spp., según el sexo</i>	23
<i>Tabla 4. Didelphis marsupialis positivos a Leptospira spp., según el sexo</i>	23

Lista de Figuras

<i>Ilustración 1. Trampa Tomahawk cebada con plátano.....</i>	¡Error! Marcador no definido.
<i>Ilustración 2. Pesaje de marsupial (zarigüeya).....</i>	15
<i>Ilustración 3. Colecta de muestra sanguínea de zarigüeya.....</i>	¡Error! Marcador no definido.8
<i>Ilustración 4. Reubicación y liberación de zarigüeya.....</i>	19
<i>Ilustración 5. Roedor capturado en trampa Tomahawk.....</i>	19
<i>Ilustración 6. Riñón derecho de roedor.</i>	¡Error! Marcador no definido.

Resumen

La leptospirosis es una zoonosis causada por bacterias del género *Leptospira* spp., los roedores son los principales reservorios de leptospirosis en nuestro medio. El objetivo de este estudio fue establecer la prevalencia de *Leptospira* spp. en roedores y marsupiales que han sido capturados mediante el programa del control de plagas y vectores del Bioparque Ukumari, Pereira, Colombia. Se realizó el estudio en 14 especies sinantrópicas, mediante las técnicas PCR y MAT, tomando muestras de sangre, orina y tejido. La prevalencia de *Leptospira* spp. en *Rattus norvegicus* fue de 75%, *Rattus rattus* fue del 0% y para *Didelphis marsupialis* fue del 25%. La biorregión de Andes tuvo una mayor prevalencia de captura de especies sinantrópicas. Se concluye que la alta prevalencia de animales positivos denota la existencia de una importante fuente de infección en el Bioparque Ukumarí.

Introducción

Los roedores sinantrópicos se encuentran en la mayoría de las regiones del mundo debido a su gran capacidad de adaptación a diversos ecosistemas, también revisten importancia en la cadena epidemiológica, pues son piezas relevantes para la transmisión de diversas enfermedades (Romero Herrera, 2020).

Leptospira spp. es una espiroqueta causante de la Leptospirosis, enfermedad infecciosa, y por la cual constituye un problema de salud pública y veterinaria. Los roedores son los reservorios más relevantes debido a que la bacteria se establece y se reproduce en su tejido renal (Torres-Castro et al., 2018).

En este estudio se pretendió obtener la prevalencia de *Leptospira* spp en algunas especies sinantrópicas capturadas durante el monitoreo ambiental del programa de control de plagas y vectores, ya que, en estudios anteriores, realizados dentro del Bioparque Ukumari, se sugirió realizar la medición de títulos para *Leptospira* spp en una población más representativa (Cespedes Z, 2005).

Objetivos

Objetivo General

Establecer la frecuencia de *Leptospira* spp. en roedores y marsupiales que han sido capturados mediante el programa del control de plagas y vectores del Bioparque Ukumari, Pereira, Colombia.

Objetivos Específicos

Detectar *Leptospira* spp. en tejido renal, muestras de orina o sangre de algunas especies sinantrópicas.

Establecer la frecuencia de *Leptospira* spp. en la población de roedores y marsupiales.

Marco teórico

La *Leptospira* spp. es una espiroqueta Gram negativa causante de la Leptospirosis, enfermedad infecciosa, y por la cual constituye un problema de salud pública y veterinaria (Torres-Castro et al., 2018).

La tendencia de los parques zoológicos actuales es garantizar las condiciones básicas de sanidad, bienestar y ambientales para mantener la salud física y psíquica de los animales. Para garantizar la protección animal, se tendrán en cuenta las medidas de prevención o protección de las poblaciones sanas, así como las formas más eficientes y económicas para enfrentar en un breve plazo, el diagnóstico y la liquidación de las consecuencias que se puedan derivar de una enfermedad grave (Benithes, 2016). El conocimiento de la situación anormal que surja dentro de una población animal (una o varias especies) constituirá la base fundamental del éxito que se pueda alcanzar en el enfrentamiento de cualquier situación emergente que se origine (Castañeda, T. ; Lazo, 2010).

Epidemiología

Diferentes especies de roedores son potenciales transmisores de múltiples agentes zoonóticos como *Leptospira* spp, del que se han descrito 13 especies patógenas y que afecta a numerosos animales, tanto domésticos como silvestres (Ospina-Pinto et al., 2017).

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 (Agudelo-Flórez et al., 2010).

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 (leptospiuria) en forma permanente o intermitente (PN Levett, 2001). Dentro de la fase permanente se encuentran los roedores, tanto sinantrópicos como silvestres, y los marsupiales, sin presentar en ellos sintomatología clínica evidente, por esta razón estos animales son considerados reservorios o huéspedes de mantenimiento de la bacteria (World Health Organization, 2003b). Las especies de roedores más comunes son el ratón doméstico (*Mus musculus*), la rata parda (*Rattus norvegicus*) y la rata negra (*Rattus rattus*), que actúan como huéspedes de mantenimiento de diferentes serovares de *Leptospira* spp. (Ospina-Pinto et al., 2017).

Patogenia

Los roedores son los reservorios más relevantes debido a que la bacteria se establece y se reproduce en su tejido renal, la bacteria coloniza de manera persistente los túbulos renales de hospederos susceptibles, y es excretada por la orina (Torres-Castro et al., 2018).

Manejo integrado de plagas

Cuando hablamos de control de roedores en casi cualquier lugar, tiene gran importancia el denominado manejo integrado de plagas (MIP), que es un enfoque en las operaciones del control estructural de plagas, el enfoque MIP involucra la inspección de roedores, sanidad, construcción a prueba de roedores y reducción de la población. (Acha & Szyfres, 2001). Al implementar cualquiera de estos pasos en forma individual, excepto la inspección de roedores, se lograr cierto grado de control de roedores. Sin embargo, los programas de control son más efectivos y eficientes a largo plazo, cuando se integran todos estos pasos (Jaime et al., 2016).

La inspección de roedores siempre se debe realizar antes de iniciar cualquier programa de control real. Existen diez signos de roedores que se pueden observar, oler o escuchar durante las inspecciones de control de roedores: Deyecciones, huellas, daños por roídas, escondites, vías de escape, marcas de grasa, manchas de orina, roedores vivos o muertos, sonidos de roedores y olores de roedor. (Evangelista & Coburn, 2010). Siempre que exista abundancia de ratas y ratones, se debe a que la disponibilidad de alimento, agua y refugio es alta, y más en un zoológico. La eliminación o reducción de estos factores mediante la vía de la práctica sanitaria tiene un impacto tremendo en la reducción de la población, aun sin el uso de ningún rodenticida, si se utilizan sólo venenos en forma intermitente no se resolverá el problema si no se eliminan o reducen las fuentes alimenticias y los refugios (World Health Organization, 2003a).

El índice de atrape de roedores (IAR) fue definido como el número de trampas positivas (número de trampas con roedores capturados) dividido entre el esfuerzo de captura (número de trampas colocadas por los días de funcionamiento), multiplicado por 100. En las poblaciones de ratas silvestres, la capacidad reproductiva se incrementa

durante la época cálida o lluviosa., la altitud afecta negativamente el índice de reproducción en las ratas, pero se presume que esto tiene que ver con la escasez de oxígeno, con la presión y/o la temperatura (Arriera et al., 2001).

Métodos Diagnósticos

Esta enfermedad es frecuentemente subdiagnosticada debido a que los síntomas clínicos son inespecíficos y, por lo tanto, las pruebas de laboratorio son esenciales para confirmar los casos. (Vanasco et al., 2007). Según los estudios más recientes, existen dos tipos de anticuerpos específicos contra las leptospiras: unos dirigidos contra antígenos específicos de género comunes a todas las leptospiras (variedades patógenas y no patógenas) y otros contra antígenos específicos de serovariedad y serogrupo. Los anticuerpos específicos de género (anticuerpos coaglutinantes o de reactividad cruzada) son los primeros en aparecer, por lo que su presencia puede ser considerada como un indicador de fase aguda de la infección. Tras el período inicial, estos anticuerpos desaparecen gradualmente a medida que la respuesta inmunitaria madura.

Microaglutinación

El MAT es una prueba serológica de referencia para la detección de anticuerpos aglutinantes contra antígenos vivos de *Leptospira* con el fin de determinar el serovar causante de la infección (World Health Organization, 2003b). Es leída mediante microscopía de campo oscuro; el diagnóstico de laboratorio está basado en la serología debido a que el cultivo y aislamiento de la espiroqueta es difícil por los requisitos exigentes para el crecimiento, y el tiempo para dar los cultivos como negativos estimado

es de cuatro meses (Musso & La Scola, 2013). Es considerada como la prueba estándar de oro actual, basado en el mantenimiento de cepas viva de serovares de *Leptospira* en cultivo en medio líquido, para lo cual se debe contar con un laboratorio específico para evitar contaminación y la pérdida de las cepas de referencia. El proceso es laborioso, dispendioso y costoso, por lo tanto, está limitado a los laboratorios de referencia de leptospirosis, y la transferencia de la metodología a instituciones sin infraestructura y personal entrenado no es un proceso posible en la mayoría de los casos (APJTB, 2014).

Los anticuerpos específicos de género sólo permanecen detectables durante unas semanas o unos meses, mientras que los anticuerpos específicos de serovariedad y serogrupo pueden determinarse por MAT durante años. Esto indica que un resultado positivo en la MAT puede ser de escasa utilidad para diferenciar una infección presente de una infección pasada. (Limmathurotsakul et al., 2012).

PCR en tiempo real

La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo real es una modalidad del PCR de punto final, donde la acumulación de ADN amplificado es detectado y cuantificado a medida que la reacción avanza, es decir: “En tiempo real” esto se logra incorporando una molécula fluorescente que se asocia al ADN amplificado, donde el incremento de esta fluorescencia es la proporcional al incremento de la cantidad de moléculas de ADN amplificadas en la reacción (Brown, 2006). Es un método de amplificación de segmentos específicos del DNA de *Leptospira* spp, se realiza la amplificación del gen patogénico Lip32 a partir de muestras de tejidos, sangre y orina; los protocolos de la PCR en tiempo real pueden diseñarse para obtener resultados cuantitativos así como demostrar la presencia o ausencia de un fragmento de ADN o

ARN o resultados cuantitativos calculando el número de copias de ADN, que al compararse con una curva estándar, establece la cantidad de microorganismos presentes en una muestra determinada o bien determinar el número de moléculas de un ARN para designar la expresión de este por ejemplo (Herrera Diaz, 2019).

Materiales y métodos

Elementos de investigación

Área de estudio y monitoreo

El muestreo se llevó a cabo en el Bioparque Ukumari de la ciudad de Pereira, Colombia durante los meses de marzo a junio del 2021. Se realizó muestreos diurnos y nocturnos, en todas las áreas periféricas a exhibiciones y zonas de manejo animal.

Población monitoreada

Los muestreos se realizaron a 14 individuos de la población de roedores y marsupiales capturados en las trampas, entre las 10 semanas sujetas al cronograma.

Tipo de captura

Se implementó un sistema de captura viva con trampas tipo Tomahawk, cebadas con plátano proveniente del área de nutrición. Luego, las ratas y ratones fueron sacrificados con CO₂, para la muestra de tejido. Mientras que las zarigüeyas fueron anestesiadas con isoflurano al 5% para la toma de orina o sangre.



Ilustración1. Trampa Tomahawk cebada con plátano

Clasificación

Los roedores y zarigüeyas atrapadas fueron identificados por género, especie, sexo, edad aproximada y peso.



Ilustración 2. Pesaje de marsupial (zari güeya)

Formatos

Se diligenció la hoja de envíos de muestra para el laboratorio EJELAB de Pereira, quienes procesaron las muestras, y el formato de registro y seguimiento de pruebas laborales. Además, para los individuos *Didelphis marsupialis* se diligencio la hoja de restricción química.

Se estableció los siguientes protocolos:

Protocolo de muestreo

Didelphis marsupialis

a. Luego de ser reportada la captura de estos individuos, se recogieron en el menor tiempo posible.

b. Se resguardo el animal en un lugar seguro mientras se hizo la preparación del área de quirófano para el procedimiento.

c. Previo al procedimiento se tuvo listo, según el tipo de muestra (sangre u orina):

- Hoja de restricción química
- Caja para inducción anestésica inhalada
- Equipo de anestesia con isoflurano
- Mascara para anestesia inhalada

Inducción anestésica:

Se hizo restricción física del individuo usando los elementos de bioseguridad, guantes de carnaza y tapabocas. Luego se implementó la anestesia inhalada con isoflurano al 5%, se abrió el equipo de oxígeno y se ajustó la máscara anestésica al animal. Una vez el animal se encontró en plano anestésico 1, se realizó mantenimiento en 3% a 1.5% de isoflurano. Posterior a esto, se procedió a evaluar e identificar el animal.

Toma de muestras:

Para este estudio se tomó muestra de orina, ideal para prueba de leptospira, por cistocentesis. En el caso donde esta muestra no se pudo obtener, por falta de contenido de orina en la vejiga, se realizó una toma de muestra sanguínea.

- Toma de muestra de orina:

Para lograr la obtención de muestra de orina para el estudio de laboratorio (cistocentesis diagnóstica) fue necesario contar con una jeringa, aguja y material de asepsia. El calibre de la aguja utilizado fue de 22G y jeringa de 10 ml. La cistocentesis se realizó con el paciente en decúbito lateral palpando la vejiga plétórica y fijándola con delicadeza hacia arriba con una mano abajo del abdomen, acercándose a la pared abdominal para la punción. Previo a esto, se lavó el área y se aplicó una solución antiséptica.

Luego de identificar e inmovilizar la vejiga por palpación, se procedió a insertar la aguja con jeringa en un ángulo oblicuo de 45 grados dirigido dorso-caudalmente sobre la vejiga inmovilizada, en dirección al trígono vesical. Una vez que la aguja penetra la pared abdominal y vejiga, se realizó la aspiración del volumen (3ml -10ml) de orina; evitando realizar una presión excesiva sobre la pared de la vejiga con la mano. Para

retirar la jeringa fue necesario dejar de ejercer presión negativa sobre el émbolo y extraer la aguja lenta. Luego esta muestra fue depositada en un tarro de citoquímico.

- Toma de muestra sanguínea:

Se realizo a través de la vena femoral con jeringa de 5ml y aguja calibre 22G. Se puso al individuo en decúbito supino y en la región inguinal se localizó el frémito arterial, lateral a este se punciono y se recolecto la sangre, mínimo 2 ml. Luego, se introdujo en el tubo tapa roja.



Ilustración 3. Toma de muestra sanguínea de zari güeya

Monitoreo:

Se ubico al individuo en un guacal haciendo un monitoreo constante hasta lograr su total incorporación. Se hizo la reubicación y liberación del animal en el menor tiempo posible.



Ilustración 4. Reubicación y liberación de zarigüeya

Rattus norvegicus y Rattus rattus

1. Luego de ser reportada la captura de estos individuos, se recogió en el menor tiempo posible.
2. Se procedió a realizar la eutanasia al individuo con CO₂, para esto se utilizó una pipeta de CO₂, ubicado en el área del bioterio, con una manguera que se conectó con la caja donde se pone la trampa con el animal. Se espero de 5 a 10 minutos, esto según el peso del animal, hasta que el animal dejara de respirar.
3. Se preparo la zona de trabajo en el área de necropsia con todos los implementos necesarios para el procedimiento.
4. Se pesa el individuo y se caracteriza.



Ilustración 1. Roedor capturado en trampa Tomahawk

Toma de muestra:

Para este procedimiento se debió tener en cuenta todas las medidas de seguridad como la implementación de guantes, tapabocas, bata, gorro, botas y pinzas para la manipulación del roedor. Se posiciono el animal en la mesa de trabajo, en decúbito lateral, con ayuda de unas pinzas y bisturí se incidió en la piel en cavidad abdominal, en el retroperitoneo. Se extrajo el riñón derecho o izquierdo y se introdujo el riñón completo o una parte de este tejido, esto según el tamaño del animal, en un frasco con solución salina. Luego se solicitó examen de *Leptospira* PCR en tiempo real al laboratorio, para ser recogida en el menor tiempo posible. Se dispuso el cadáver del roedor en una bolsa roja y se introdujo en la nevera del laboratorio de patología, hasta ser recogido por la entidad competente.



Ilustración 6. Riñón derecho de roedor

Luego de que las muestras (sangre, orina u órgano) fueron tomadas se marcaron, los tubos o frascos, con la identificación del individuo para luego ser guardadas o refrigeradas hasta ser recogidas por el laboratorio, esto en el menor tiempo posible.

Protocolo de PCR y Microaglutinación para *Leptospira*

PCR

Se utilizo PCR en tiempo real cuantitativa (qPCR), que combina la amplificación y detección del producto amplificado en el mismo recipiente de reacción con una excelente sensibilidad y especificidad.

Se empleo para detectar leptospiras en tejido renal de ratas y ratones capturadas en el Bioparque Ukumari, donde se requirió cortes de tejido de 2 x 2 cm suspendidos en solución salina y refrigerados.

Se amplificaron segmentos de los genes 16S rRNA y Lip32. Los tiempos y temperaturas de ciclaje fueron establecidos según el protocolo normalizado establecido (TestMol S.A.S).

Microaglutinación

Esta prueba se realizó en zarigüeyas donde se realizó cultivo de sangre, habiendo una alta probabilidad de que la leptospira no se encontrara en sangre. Se realizo la toma de la muestra de sangre según el protocolo de toma de muestra del Bioparque en un

tubo tapa roja. Se mando al laboratorio lo más pronto posible donde realizaron el cultivo. Se marco el tubo con la ID del animal.

Para el cultivo de orina se recolecto la orina en un tarro estéril. Se mando al laboratorio lo más pronto posible donde realizaron el cultivo. Se marco el tarro con la identificación del animal.

Las cepas utilizadas de los serovares en el laboratorio fueron *Ballum*, *Canicola*, *Pomona*, *Icterohaem*, *Grippothyphosa*, *Bratislava*, *Tarassovi*, *Hardjoprajitno* y *Pyrogenes*. (EJELAB).

Se considero como casos confirmados los títulos $\geq 1:100$, Cuando aumenta en 4 o más veces el título de anticuerpos de los reactores investigados a los 14 a 21 días posteriores a la primera investigación y casos sospechosos a los títulos en las investigaciones por MAT de 1:100 (indico una infección residual o una respuesta a una infección actual) o superior en la primera investigación, frente a uno o más antígenos leptospirales. Títulos mayores que 1:200 indicaron proceso infeccioso y $>$ de 1:800 son diagnósticos.

Resultados

Fueron capturados y procesados 14 especies sinantrópicas en total, de los cuales el 57% (8/14) fueron positivos y el 43% (6/14) fueron negativos.

En la tabla 1 se puede observar la prevalencia de *Leptospira* spp. de cada especie sinantrópica. Para *Rattus norvegicus* fue de 75% (6/9), *R. rattus* fue del 0% (0/2) y para *Didelphis marsupialis* fue del 25% (2/3).

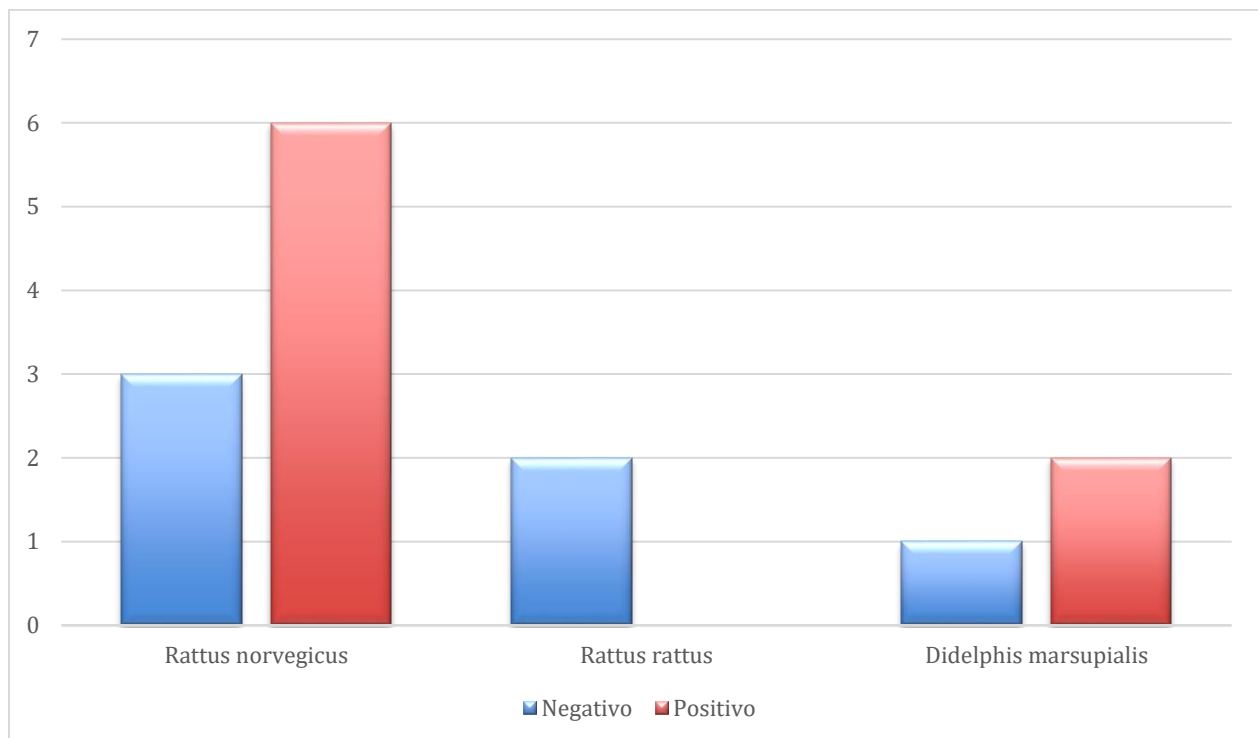


Tabla 1. Prevalencia de *Leptospira* spp. Confirmados por PCR y MAT, en especies sinantrópicas del Bioparque Ukumari, Pereira-Colombia 2021.

La tabla 2 muestra la prevalencia de *Leptospira* spp. por biorregión donde BA (bosques andinos) tuvo una mayor prevalencia de captura de especies sinantrópicas del 79% (11/14) de los cuales el 55% fueron positivos, y de los individuos capturados y muestreados en AR fue 21% (3/14) de la población donde la prevalencia de *Leptospira* fue del 67%.

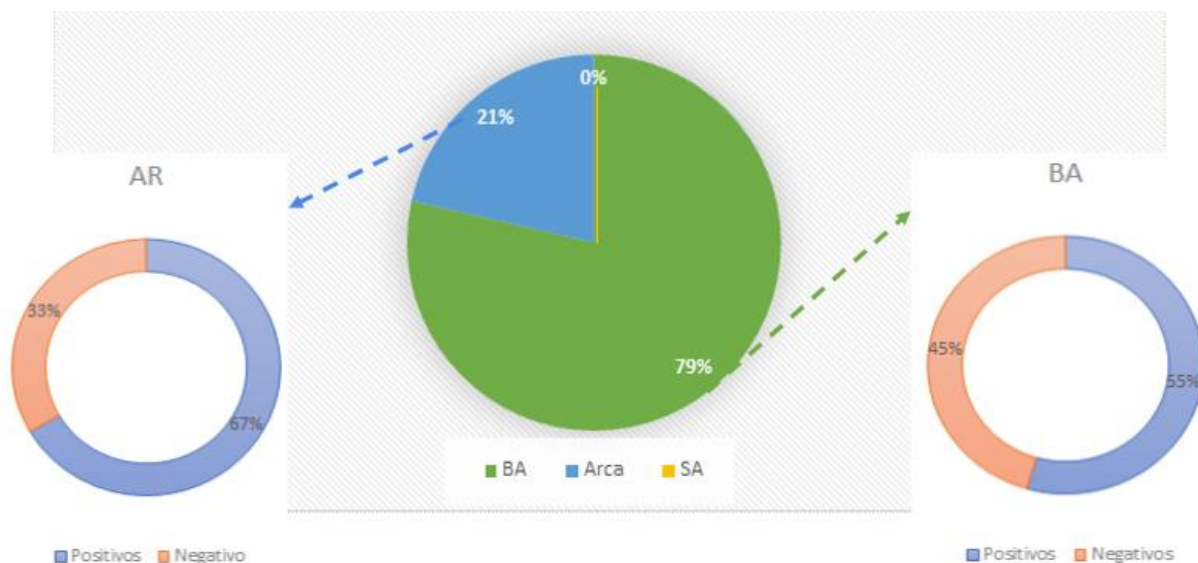


Tabla 2. Prevalencia de *Leptospira* spp. en especies sinantrópicas por biorregión del Bioparque Ukumari 2021.

Las tablas 3 y 4 representan los casos positivos de *Leptospira* spp. en roedores y marsupiales, respectivamente, clasificados según el sexo.

En los 7 roedores machos se obtuvo una prevalencia de 57.1% y de las 4 hembras el 50% fueron positivas.

Tabla 3. Roedores positivos a <i>Leptospira</i> spp., según el sexo.				
Sexo	Positivos	Tasa	Negativos	Total
Machos	4	57,14%	3	7
Hembras	2	50,00%	2	4
Total	6	54,54%	5	11

En el caso de las zarigüeyas se obtuvo que el 100% de las hembras fueron positivas y un 0% en los machos.

Tabla 4. <i>Didelphis marsupialis</i> positivos a <i>Leptospira</i> spp., según el sexo.				
Sexo	Positivos	Tasa	Negativos	Total
Machos	0	0,00%	1	1
Hembras	2	100%	0	2
Total	2	66,66%	1	3

Discusión

En años recientes, se ha presentado en el Bioparque Ukumari, Pereira-Colombia, importantes investigaciones epidemiológicas sobre agentes infecciosos con importancia en salud pública y veterinaria. Tanto en este estudio de *Leptospira* spp. del 2021 como en estudios anteriores, se ha establecido que las especies sinantrópicas, como roedores y marsupiales son reservorios o portadores asintomáticos. Asimismo, en estudios poblacionales y ecológicos del Bioparque se ha comprobado que las especies sinantrópicas *R. norvegicus*, *R. rattus* y *D. marsupialis* son las más importantes y abundantes en este ambiente, lo cual se debe a factores como la presencia de numerosas fuentes de alimento y de amplios sitios de resguardo y reproducción.

Aunque en este estudio, de marzo a junio del 2021, no se hayan capturado las especies *Dasyprocta punctata* y *Mus musculus*, se deben tener en cuenta como población abundante dentro del Bioparque, ya que en estudios anteriores se han registrado y se evidencio la presencia de estos animales en varias ocasiones.

La circulación de *Leptospira* spp. se ha evidenciado en animales del Bioparque Ukumari, lo cual indica la importancia de esta bacteria. De igual forma, (Torres-Castro et al., 2018) y (Vado-solis & Peniche-lara, 2016), demostraron la infección en *M. musculus* y *R. rattus* con especies y serovares patógenos de *Leptospira* spp. mediante pruebas moleculares, histopatológicas y serológicas. No obstante (REYES et al., 2011), ha señalado la necesidad de incrementar el número de investigaciones en poblaciones de animales silvestres que pudieran estar involucrados en el ciclo infeccioso de la leptospirosis.

Para el diagnóstico de *Leptospira* spp. se han utilizado varias técnicas como la prueba de aglutinación microscópica (MAT), inmunoensayo enzimático o enzimoimmunoanálisis (ELISA), reacción en cadena de polimerasa (PCR) y las técnicas de tinción inmunológica, en especial por inmunofluorescencia directa (WHO, 2011). En este caso, se utilizó para el diagnóstico de *Leptospira* spp. la PCR, para las muestras de tejido y MAT para las muestras de sangre, provenientes de las zarigüeyas. Las cuales confirmaron la existencia de la bacteria.

La técnica de PCR implementada en este estudio mostró ser una herramienta útil en la presencia de la bacteria en el tejido renal de los individuos y la técnica MAT solo se utilizó en un caso, el cual fue una muestra de sangre de una zarigüeya.

Según (Sandoval Petris et al., 2018). La PCR combinada con la prueba serológica MAT, tiene una ventaja en la detección temprana de la leptospirosis. Esto puede ser útil para el diagnóstico de leptospirosis en los animales del Bioparque Ukumari.

En numerosos estudios se ha documentado la circulación de *Leptospira* spp. en roedores sinantrópicos, principalmente *R. rattus* y *M. musculus*, lo cual los convierte en los reservorios más relevantes de dicha bacteria. En algunos de estos estudios se han registrado frecuencias de infección superiores a la reportada en el presente trabajo; por ejemplo (Vanina & Erwan, 2016), evidenciaron prevalencias de 38,5 y 9 % para *R. rattus* y *M. musculus*, respectivamente. A diferencia de este estudio donde la mayor prevalencia fue en la especie *Rattus norvegicus* con una prevalencia del 75%.

Se recomienda seguir haciendo este estudio, con muestras más representativas y recopilando datos de estudios retrospectivos en el Bioparque Ukumari. Asimismo, deben hacerse capturas en diferentes estaciones y temporadas (de lluvia y secas), ya que el factor ambiental también puede influir en los porcentajes de positividad encontrados en las diferentes especies, pues el contacto con fuentes de agua contaminada es un elemento fundamental para la transmisión de *Leptospira* spp. (Agudelo-Flórez et al., 2010). Asimismo, El análisis de *Leptospira* en MAT de una sola muestra no es concluyente, por lo que se recomienda la toma de una segunda muestra.

Es importante hacer un correcto manejo de los residuos de alimentos ya que estos propician la estadía y permanencia de las especies sinantrópicas, por lo cual se recomienda inspeccionar diariamente los recintos y sus alrededores, asegurando de que se haga un correcto aseo y desecho de estos residuos de alimentos.

Es importante seguir con este estudio supervisando las trampas diariamente, confirmando las trampas positivas y haciendo el respectivo registro, ya que con esto se puede obtener el número de trampas positivas y el número de trampas colocadas, con exactitud, lo que permitirá obtener el índice de atrape de roedores, importante en el análisis de la población de especies sinantrópicas en el Bioparque Ukumari.

Conclusiones

De las especies sinantrópicas capturadas, *Didelphis marsupialis*, *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*, la de mayor población fue la especie *Rattus norvegicus*, mostrando también una mayor prevalencia de *Leptospira* spp., seguida por *Didelphis marsupialis*.

La biorregión donde se capturaron más especies sinantrópicas fue la de Bosques Andinos (BA), pero la biorregión con mayor prevalencia de leptospira fue la de Arca (AR).

Con relación a la prevalencia según el sexo de los individuos se observó que de los roedores los machos tienen una mayor prevalencia que en las hembras y en las zarigüeyas fueron las hembras con una mayor prevalencia.

Se concluye que la alta prevalencia de animales positivos denota la existencia de una importante fuente de infección en el Bioparque Ukumari. por lo cual es importante hacer un monitoreo rutinario de los hábitats y de la salud de los animales.

Ya que la Leptospirosis constituyen una seria amenaza para las especies silvestres, las investigaciones de esta enfermedad dentro del Bioparque Ukumari, pueden beneficiar los esfuerzos en la conservación de las diferentes especies animales y proveer una conexión entre estudios serológicos y las necesidades de la detección, identificación y vigilancia epidemiológica oportuna de esta enfermedad. Por otro lado, la detección de los potenciales hospedadores y diseminadores del microorganismo entre las diferentes especies silvestres y exóticas, permiten la generación de programas de control efectivos encaminados al correcto control de los vectores y otras fuentes involucradas de manera importante en el ciclo epidemiológico de la enfermedad.

Referencias Bibliográficas

- Acha, P., & Szyfres, B. (2001). Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales. *Publicación Científica y Técnica*, 1, 398.
- Agudelo-Flórez, P., Arango, J. C., Merizalde, E., Londoño, A. F., Quiroz, V. H., & Rodas, J. D. (2010). Evidencia serológica de circulación de *Leptospira* spp en *Rattus norvegicus* naturalmente expuestos en una zona urbana Colombiana. *Revista de Salud Pública*, 12(6), 990–999.
- APJTB. (2014). Interpretación de la prueba de aglutinación microscópica para el diagnóstico de leptospirosis y seroprevalencia. *NCBI*, 4(1), 162–164.
- Arriera, M., Soto, R., Gonzales, R., Nombera, J., Holguin, C., & Monje, J. (2001). Características de la población de roedores y pulgas en áreas de diferente riesgo para peste de tres provincias del departamento de Piura-Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 18, 3–4.
- Benithes, A. (2016). Manejo de roedores en zoológicos. *Veterinariosvs*, 1–3.
- Brown, C. (2006). Diagnostic cystocentesis: technique and considerations. *Clinical Techniques*, 35(4), 21–23.
- Castañeda, T. ; Lazo, P. O. (2010). Propuesta de una metodología para la evaluación de la bioseguridad en zoológicos tradicionales. *Redvet*, 11, 1–9.
- Céspedes Z, M. (2005). Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 22(4), 290–307. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2005.224.1009>
- Evangelista, K. V, & Coburn, J. (2010). *Leptospira* como patógeno emergente: una revisión de su biología, patogénesis y respuestas inmunes del huésped. *Arch Med Vet*, 5(9), 1413–1425.
- Herrera Diaz, J. (2019). *PCR en tiempo real*. Agosto.
- Jaime, P., José, P., Andrea, S., & Héctor, C. (2016). Manual de control de roedores en municipios. *Mundo Sano*, 4, 12–56.
- Limmathurotsakul, D., Turner, E., & Wuthiekanun, V Thaipadungpanit, J. (2012). El oro de los tontos: por qué las pruebas de referencia imperfectas están socavando la evaluación de nuevos diagnósticos: una reevaluación de 5 pruebas de diagnóstico para la leptospirosis. *Clin Infect Dis*, 55(3), 322–331.
- Musso, D., & La Scola, B. (2013). Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Immunol. Infect*, 46, 245–252.
- Ospina-Pinto, C., Rincon-Pardo, M., Soler-Tovar, D., & Hernández-Rodríguez, P. (2017). Papel de los roedores en la transmisión de *Leptospira* spp. *Revista de Salud Pública*, 19(4), 555–561. <https://doi.org/10.15446/rsap.v19n4.41626>
- PN Levett. (2001). Leptospirosis. *ASM*, 14(2), 296–326.
- Reyes, E., Ruíz, H., Escobedo, J., Rodríguez, I., Bolio, M., Polanco, Á., & Manrique, P. (2011). Situación actual para el estudio de las enfermedades zoonóticas emergentes. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14, 35–54.
- Romero Herrera, J. N. (2020). Identificación de parásitos gastrointestinales en roedores sinantrópicos en el zoológico de barranquilla, atlántico. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 21(1), 1–9.
- Sandoval Petris, E., Avilés Acosta, M., Montesinos Cisneros, R. M., Montalvo Corral, M., & Tejeda Mansir, A. (2018). Estudio comparativo del diagnóstico de leptospirosis mediante PCR y MAT en el noroeste de México. *Acta Universitaria*, 28(4), 50–55.

- <https://doi.org/10.15174/au.2018.1625>
- Torres-Castro, M., Cruz-Camargo, B., Medina-Pinto, R., Reyes-Hernández, B., Moguel-Lehmer, C., Medina, R., Ortiz-Esquivel, J., Arcila-Fuentes, W., López-Ávila, A., No-Pech, H., Panti-May, A., Rodríguez-Vivas, I., & Puerto, F. I. (2018). Detección molecular de leptospirosas patógenas en roedores sinantrópicos y silvestres capturados en Yucatán, México. *Biomédica*, 38, 51–58. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3938>
- Vado-solis, I., & Peniche-lara, G. (2016). *Colombia Médica Estudio transversal de leptospirosis y muerte fetal en Yucatán , México*. 47(498), 11–14.
- Vanasco, N. B., Lottersberger, J., Schmeling, M. F., Gardner, I. A., & Tarabla, H. D. (2007). Diagnóstico de leptospirosis: Evaluación de un enzimoimmunoensayo en fase sólida en diferentes etapas de la enfermedad. *Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health*, 21(6), 388–395. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892007000500007>
- Vanina, G., & Erwan, L. (2016). Leptospirosis humana en la Isla Reunión, Océano Índico: ¿Son los roedores los (únicos) culpables? *National Library of Medicine*, 10(6). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27294677/>
- World Health Organization. (2011). Report of the Second Meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group. *World Health Organization*.
- World Health Organization. (2003a). Human leptospirosis: guidance for diagnosis , surveillance and control. *International Leptospirosis Society*, 1(0), 3–122.
- World Health Organization. (2003b). Human leptospirosis: guidance for diagnosis. *Surveillance and Control*, 45, 1–109.