

Seropositividad para *Leptospira* spp en roedores sinantrópicos capturados en el parque zoológico Santa Fe. Medellín, Colombia 2010

Jaramillo L¹; Romero C¹; Martínez-Osorio P²; Ocampo MC³; Agudelo-Flórez P^{4*}

- 1 Estudiantes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES Medellín, Colombia, E-mail: lojadel2@gmail.com; ktarm15@hotmail.com
- 2 Médico Veterinario Esp. Anestesiología Docente Universidad CES, E-mail: pmartinez@ces.edu.co
- 3 Médica Veterinaria, Parque Zoológico Santa Fé, E-mail: marthacocam@une.net.co
- 4 Bióloga Ph.D en Ciencias Biomédicas, Investigadora Instituto Colombiano de Medicina Tropical – Universidad CES, E-mail: pagudelo@ces.edu.co

*Autor para Correspondencia

Piedad Agudelo-Flórez

Tel: 574-3053500 ext 2314

Fax: 574-3014258

Email: pagudelo@ces.edu.co

Carrera 43A No 52 Sur-99

Sabaneta-Colombia

Resumen

Con el propósito de establecer evidencia serológica de la circulación de *Leptospira* spp en roedores sinantrópicos capturados en el parque zoológico Santa Fe, ubicado en la zona urbana de la ciudad de Medellín, se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte para establecer una base objetiva para estimar el riesgo potencial de infección para las diversas especies pertenecientes a la colección del zoológico.

Inicialmente se llevaron a cabo capturas sistemáticas durante dos semanas en seis diferentes zonas distribuidas en el área del zoológico. Los roedores fueron clasificados de acuerdo a parámetros biométricos, sexo y edad aproximada. Se tomó registro fotográfico de cada especie tipo para su verificación taxonómica posterior. A cada uno de ellos se le tomó una muestra de sangre por punción cardiaca, con las cuales se realizó microaglutinación en placa (MAT). Por este método se evaluó la seropositividad de las muestras para diez serogrupos de *Leptospira* spp asociadas con roedores y con especies de mamíferos silvestres y domésticos (Ballum, Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagie, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Shermani, Tarassovi).

Se capturó a 50 roedores, pertenecientes a las especies *Rattus norvegicus* (3), *Mus musculus* (13) y *Rattus rattus* (34). Se obtuvo evidencia serológica de positividad total del 14% (7/50). Se presentaron aglutinaciones desde 1:50 hasta 1:400 para *L.interrogans* serogrupo Icterohaemorrhagie y coaglutinaciones en la dilución 1:50 con los serogrupos Patoc y Tarassovi. La especie de roedor positiva para anticuerpos en todos los casos fue *R. rattus*.

Los resultados de seropositividad de este proyecto, apoyan la necesidad de establecer futuras estrategias de intervención de control de roedores sinantrópicos, principalmente *R. rattus* y que sean adecuadas para esta área en particular.

Palabras clave: Leptospirosis, Microaglutinación, Rattus, Zoológico.

Abstract

In order to establish serologic evidence of circulation of *Leptospira* spp in synanthropic rodents captured in the Santa Fe Zoo, located in the urban area of the city of Medellin, conducted a cross sectional study to establish a objective basis for estimating the potential risk of infection for the various species in the zoo collection.

Initially carried out systematically captured for two weeks in six different areas distributed in all area of the zoo. The rodents were classified according to biometric parameters, sex and approximate age. Photographic record was taken of each type species for taxonomic verification later. Each of them took a blood sample by cardiac puncture, which was performed with microscopic agglutination (MAT). For this method were evaluated seropositivity of the samples for ten serogroups of *Leptospira* spp associated with rodents and wild mammals and domestic (Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagie, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Shermani, Tarassovi).

Were captured 50 rodents, belonging to the species *Rattus norvegicus* (3), *Mus musculus* (13) and *Rattus rattus* (34). Serological evidence of positive total 14% (7/50). Clumps were presented from 1:50 to 1:400 for specie *L.interrogans* Icterohaemorrhagie and the dilution 1:50 with serogroups Patoc and Tarassovi. The rodent species for antibodies positive in all cases was *R. rattus*.

Seropositive results of this project, support the need for future intervention strategies synanthropic rodent control, especially *R. rattus* and are suitable for this particular area.

Key words: Leptospirosis, Microagglutination test, Rattus, Zoo.

Introducción

Leptospirosis es una enfermedad zoonótica bacteriana de distribución mundial que afecta a animales domésticos, fauna silvestre y humanos. Es clasificada como una enfermedad re-emergente, porque en los últimos años se han reconocido nuevas especies patógenas y se han asociado, con la enfermedad humana, nuevas formas clínicas ¹.

El agente causal es una espiroqueta del género *Leptospira*. El género está dividido en 20 especies, siendo nueve de ellas patógenas para una amplia variedad de animales¹. *L. interrogans* es la especie patógena más ampliamente distribuida; de esta especie se reconocen más de 200 serovares, o variantes antigénicas. Las bacterias persisten por períodos prolongados en los túbulos renales (con excreción por la orina) de los animales susceptibles (que presentan un amplio espectro clínico) y reservorios ².

Diferentes especies de roedores silvestres y sinantrópicos han sido reconocidos como reservorios de *Leptospira* spp. En ellos la bacteria se multiplica en los túbulos renales, sin que presente manifestaciones clínicas asociadas. En distintos países de Sudamérica se han identificado los géneros *Rattus*, *Mus*, *Oryzomys*, *Peromyscus* y *Oligorizomys* como diseminadores de la bacteria³. *Rattus* spp generalmente es huésped de serovares de los serogrupos Icterohaemorrhagiae y Ballum, y *Mus musculus* es huésped del serogrupo Ballum ².

En ambientes de cautiverio y de confinamiento, los roedores circulan libremente por todas las áreas. Ellos son prácticamente los únicos mamíferos que tienen contacto con los animales de colección de los zoológicos, por lo cual pueden ser la fuente de infección de agentes exógenos para los demás animales cuando llegan a las jaulas en búsqueda de alimento. Este hecho deriva en la importancia epidemiológica que tiene el determinar la posible infección por *Leptospira* de los roedores que circulan por las áreas del zoológico y que tienen acceso a las

exhibiciones de los animales que son potencialmente susceptibles, al exponerse a un agente infeccioso que en sus ambientes silvestres originales no se encuentra.

El propósito de este estudio fue el de establecer evidencias de seropositividad para *Leptospira* patógena en los roedores sinantrópicos del área del zoológico Santa Fe de la ciudad de Medellín. Esta evidencia puede ser una base objetiva para estimar el riesgo de infección para las especies pertenecientes a la colección del zoológico. Los resultados esperados de este proyecto apoyarán el establecimiento de futuras estrategias de intervención adecuadas para esta área en particular.

Materiales y Métodos

Área de Estudio: El Parque Zoológico Santa Fe está ubicado en la zona sur-occidental de la ciudad de Medellín, Colombia. La ciudad presenta una temperatura promedio de 23°C y humedad relativa del 70%.

Población de Estudio: Se capturaron 50 roedores los cuales pertenecían a las especies *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* y *Mus musculus*. La captura se realizó con trampas Tomahawk o directamente por ubicación de las madrigueras en las diferentes zonas del parque zoológico Santa Fe.

Se dividieron las zonas del zoológico para facilitar la información de la ubicación de los roedores capturados. En la figura 1 se presenta el mapa del zoológico en donde se ubican las zonas de muestreo en las que se obtuvo captura de roedores.

Muestreo: la recolección de las muestras se realizó en un periodo de dos semanas entre los meses de final de junio e inicio de julio de 2010. Todas las animales capturados fueron extraídos de la trampa o de la madriguera con guantes de carnaza e introducidos en bolsas de tela de algodón en la cual fueron anestesiados con una mezcla de ketamina 5% y xilazina 2% en proporción 6 en 1 y tramadol 5 %. De ésta mezcla se aplicaron 0,1 ml por cada 100 gr de peso vivo, además Tramadol a razón de 0,2 MG del producto por cada 100 MG de peso vivo aplicados intramuscularmente.

Una vez anestesiado cada individuo fue clasificado de acuerdo a parámetros biométricos, sexo y edad aproximada determinado por el peso. Se tomó registro fotográfico de cada especie tipo para su verificación taxonómica posterior. Igualmente se le tomó una muestra de sangre (1-5 ml) mediante punción cardiaca y fue depositada en tubo vacuntainer ® sin anticoagulante.

Posteriormente, cada roedor fue sacrificado estando aún anestesiado con 390 MG de Pentobarbital sódico y 50 MG de Difenilhidantoina sódica (Eutanex ®) a razón de 0,1 ml. Por cada 500 gramos de peso vivo por punción intracardiaca. Cada roedor fue descartado de acuerdo al protocolo de descarte de material biológico que tiene el parque Zoológico Santa Fe, en el cual los animales debieron ser empacados en bolsas rojas con la adecuada rotulación: Fecha, tipo de estudio, tipo de animal y área.

Cada muestra de sangre total fue centrifugada, posteriormente se le extrajo el suero y fue remitido al laboratorio del Instituto de Medicina Tropical (ICMT-CES) para ser conservado a -20°C hasta su procesamiento.

En el laboratorio se realizó un análisis serológico mediante la prueba de microaglutinación (MAT) según el método descrito por “The World Health Organization - International Leptospirosis Society” ⁴. Dentro del panel de estudio se incluyeron los serogrupos Ballum, Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagie, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Shermani y Tarassovi pertenecientes a especies patógenas de *Leptospira*. Las diluciones dobles del suero para la prueba serológica por MAT se iniciaron desde 1:25 hasta 1:800 para cada serogrupo. Se consideró como punto de corte la dilución en la que se obtuviera el 50% de aglutinaciones. Se consideraron positivos títulos iguales o superiores a 1:50.

Aspectos Éticos: El proyecto cumplió con las condiciones éticas establecidas por las directivas del parque zoológico.

Resultados

Durante el periodo de capturas se obtuvieron 50 roedores; con base en parámetros biométricos se determinó que pertenecían a las especies *Rattus norvegicus*, 6% (3/50), *Mus musculus* 26% (13/50) y *Rattus rattus* 68% (34/50). Dentro de la especie *R. norvegicus* todos fueron machos, los *M. musculus* se distribuyeron entre 8 hembras y 5 machos y *R. rattus* fueron 24 hembras y 10 machos.

Las capturas se realizaron por zonas así: Zona 3 correspondiente a las jaulas de la colección de primates; Zona 4 correspondiente al Museo de historia natural; Zona 6 donde se ubicaba la colección de felinos; Zona 7 del Vivario, cocina y compostaje; Zona 8 que era el área del hospital y cuarentena y en la Zona 9 correspondiente al parqueadero.

Se obtuvo evidencia serológica de positividad total del 14% (7/50). Se presentaron aglutinaciones desde 1:50 hasta 1:400 para *L.interrogans* serogrupo Icterohaemorrhagie y coaglutinaciones en la dilución 1:50 con los serogrupos Patoc y Tarassovi. No se registraron positivities para los serogrupos Ballum, Bratislava, Canicola, Grippytyphosa, Pomona, Pyrogenes y Shermani. En la tabla 1 se describen los títulos obtenidos para cada uno de los roedores positivos para *Leptospira* spp.

La especie de roedor positiva para anticuerpos en todos los casos fue *R. rattus*. Se determinó que el mayor número de *Rattus* infectados fueron capturados en la zona 7, siendo esta el área en donde se guarda el alimento de los animales de exhibición y donde se realiza el compostaje.

Discusión

El papel que juegan los roedores en la diseminación de *Leptospira* spp ha sido muy bien establecido por múltiples autores y se conoce que ratas (*Rattus norvegicus*) y ratones (*Mus musculus*) se relacionan principalmente con la serovariedad Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa y Ballum siendo reservorios

primarios de *Leptospira* ^(1, 2, 3). Esto está de acuerdo con los resultados producto de la presente investigación donde la totalidad de los roedores seropositivos (14%) lo fueron al serogrupo Icterohaemorrhagiae, el principal agente responsable de leptospirosis de zonas urbanas reconocido a nivel latinoamericano ⁵ y a nivel de la ciudad de Medellín ⁶.

Basados en el anterior hallazgo y asociado con los reportes de otros zoológicos ^{7, 8}, se encuentra que el Parque Zoológico Santa Fe de la ciudad de Medellín, puede estar presentando situaciones epidemiológicas de riesgo para la infección con agentes exógenos para los animales de colección, debido a que como lo evidencia el presente trabajo, la presencia de roedores sinantrópicos en su área con seropositividad para *Leptospira* Icterohaemorrhagiae, se ve favorecida por la presencia de alimentos, fuente de atracción para roedores, en los habitas de los ejemplares de colección y en las zonas destinadas a su preparación.

Con base en los hallazgos del último estudio realizado en el parque zoológico Santa Fe con fauna silvestre de la colección ⁹, donde se encontró que 11,6% de todos los animales evaluados, 18,7% de los felinos y 7,4% de los primates fueron positivos a *Leptospira* principalmente del serogrupo Icterohaemorrhagiae (40%), probablemente asociando esos hallazgos con los del presente estudio, se puede establecer que la fuente de infección dentro del zoológico puede estar determinado con la circulación de roedores infectados. No obstante la presente investigación tiene limitantes por su diseño y número reducido de ejemplares capturados, pero al evidenciarse esta asociación, se plantean las bases para que nuevos estudios sean llevados a cabo.

Es necesario establecer la dinámica poblacional de las especies de roedores sinantrópicas en el área del zoológico y el tamaño de la población, pues es conocido que cuanto más densa es la población de reservorios en un área dada más frecuente puede llegar a ser la infección, inter e intraespecífica, de la leptospirosis. Este concepto, unido a que el control de estos roedores para las zonas internas del zoológico se hace difícil, debido a que para evitar el posible contacto de los animales de exhibición con sustancias venenosas está limitado el

uso de rodenticidas a sólo las áreas aledañas de las colecciones, se hace necesario diseñar un programa de control de roedores para este hábitat con particularidades tan específicas.

Debe tenerse en cuenta que las especies patógenas de *Leptospira* no se multiplican fuera del reservorio, por lo que su supervivencia depende de las condiciones ambientales en las que se encuentren; la bacteria sobrevive hasta 180 días en suelos húmedos, por varios meses en superficies acuosas y sobreviven en agua estancada, es susceptible a la desecación, a los cambios de pH y temperatura ². Es pertinente por lo tanto, realizar también un monitoreo ambiental unido a la vigilancia del saneamiento de las áreas del zoológico, para controlar el riesgo de las colecciones de animales de adquirir leptospirosis.

Aunque con las limitaciones inherentes, este estudio demuestra por primera vez y con bases objetivas la importancia epidemiológica que tiene la posible asociación con la infección detectada por el anterior estudio realizado en el zoológico Santa Fe ⁹ en los felinos y primates de la colección del zoológico con la infección directa o ambiental por *Leptospira* procedente de la orina de los roedores sinantrópicos que circulan en las áreas del zoológico y que tienen acceso a los alimentos para su consumo o directamente a las exhibiciones de los animales muestreados.

Conclusiones

Se obtuvo evidencia serológica de positividad total del 14% (7/50) en roedores sinantrópicos capturados en las inmediaciones del Zoológico Santa Fe de Medellín. En estos roedores se presentaron aglutinaciones desde 1:50 hasta 1:400 para *L.interrogans* serogrupo Icterohaemorrhagiae y coaglutinaciones en la dilución 1:50 con los serogrupos Patoc y Tarassovi. La especie de roedor positiva para anticuerpos en todos los casos fue *R. rattus*.

La seropositividad registrada para el serogrupo asociado a roedores, indica que la orina de estos reservorios es una fuente de transmisión exógena de *Leptospira* spp en el ambiente del Zoológico.

Los resultados de este proyecto apoyan el establecimiento de estrategias de intervención adecuadas para esta área en particular y con una vigilancia activa a la zona donde mayor número de roedores seropositivos fueron capturados.

Agradecimientos

Al personal de apoyo del Parque Zoológico Santa Fe y a Natali Moreno del Instituto Colombiano de Medicina Tropical. Este estudio recibió financiación de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad CES y del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e innovación COLCIENCIAS, Colombia (Cod 325645221265-352-2008).

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existen conflictos de intereses.

Referencias bibliográficas

1. Ko A, Goarant C, Picardeau M. Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009;7:736-747.
2. Levett P. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev. Am Soc Microb* 2001;14: 296-326.
3. Unnell, J, Hice, C, Watts D, Montrueil V, Tesh R, Vinetz J. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. Infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 63 (5-6):225-258.
4. WHO, 2003. Human Leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. Malta: pp110. [Acceso 15 de junio de 2010]. Disponible en: http://libdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf último acceso [15/06/2010](#).
5. Ko AI, Galvão M, Ribeiro CM, Johnson WD, Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet* 1999; 354: 820-825.
6. Agudelo-Flórez P, Londoño A, Quiroz V, Angel J, Moreno N, Loaiza E, et al. Prevalence of *Leptospira* spp. in urban rodents from a groceries trade center of Medellín, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:906-910.
7. Corrêa SHR, Vasconcellos SA, Morais Z, Teixeira AA, Dias RA, Guimarães MABV, Ferreira F, Ferreira-Neto JS. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2004; 41: 189-193.
8. Jung BY, Choi JS, Kim KT, Song YK, Lee SH, Lee KW., et al. Seroprevalence of Leptospirosis in Korean municipal zoo animals. *Journal of Veterinary Medical Science* 2007;69:861 – 863.
9. Jiménez-Nicholls L; Pérez J; Loaiza J; Ocampo M; Agudelo-Flórez P. Determinación de la frecuencia de leptospirosis en felinos y primates del parque zoológico Santa Fe, Medellín, Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 2009; 4: 39-47.



Figura 1 Mapa del Zoológico Santa Fe, donde se ubican las zonas de captura de roedores sinantrópicos; Zona 3 (Colección de primates), Zona 4 (Museo de historia natural), Zona 6 (Colección de felinos), Zona 7 (Vivario, cocina y compostaje), Zona 8 (hospital y cuarentena), Zona 9 (parqueadero).

Tabla 1. Descripción de los títulos para *Leptospira* spp obtenidos por MAT para *R. rattus* capturados en el parque zoológico Santa Fe, Medellín 2010.

Especie Roedor	Serogrupo Icterohaemorrhagiae	Serogrupo Patoc	Serogrupo Tarassovi
<i>R.rattus</i> 7003	1:50	1:50	1:50
<i>R.rattus</i> 4004	1:50	Negativo	1:50
<i>R.rattus</i> 7005	1:100	Negativo	Negativo
<i>R.rattus</i> 7012	1:100	Negativo	Negativo
<i>R.rattus</i> 7018	Negativo	Negativo	Negativo
<i>R.rattus</i> 7031	1:400	Negativo	Negativo
<i>R.rattus</i> 7044	1:50	Negativo	Negativo
Título máximo obtenido	1:400	1:50	1:50