



ARTICULO CORTO

Leptospira spp. patógenas en roedores del municipio de Sincelejo, Sucre

Libardo Carballo-Blanco, Placido Arrieta-Bolaño, Anaís Castellar-Martínez,
Pedro Blanco-Tuirán

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia.

Correspondencia: Libardo Carballo-Blanco, Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia. Carrera 14 No. 16 B-32, Apartado Aéreo 406, Sincelejo, Colombia. Teléfono: (575) 2820830; fax: (575) 2818130. blanenr@gmail.com

Recibido: 18 de marzo de 2014. Aceptado: 11 de julio de 2014. Publicado: 1 de junio de 2015.

RESUMEN

Introducción. La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial que afecta a numerosas especies de mamíferos, entre los que se encuentran los roedores que son reconocidos como los reservorios más importantes de la bacteria.

Objetivos. Determinar el papel de los roedores en la diseminación de la enfermedad.

Materiales y métodos. Se capturaron roedores mediante trampas de encierro cebadas e instaladas por periodos de doce horas intra y peridomicilio. Los roedores capturados fueron sacrificados y se extrajeron los riñones para la extracción de ADN y se realizó PCR y visualización de los fragmentos de interés.

Resultados. En once muestras de tejidos se amplificó el segmento génico de interés que indica la presencia de *Leptospira* spp patógenas en los roedores.

Conclusiones. El presente estudio evidencia, mediante análisis moleculares, la existencia de *Leptospira* spp patógenas en el municipio de Sincelejo, lo que sugiere que la población en general podría estar en riesgo de padecer la infección.

Palabras clave: *Leptospira*, roedores, LipL32-PCR, Sincelejo.

ABSTRACT

Leptospira spp. pathogenic in samples rodents of the in town of Sincelejo, Sucre

Introduction. Leptospirosis is a worldwide distributed zoonotic disease that affects many mammal species including rodents which are the most important reservoirs of the bacteria.

Objective. Determine the role of rodents in the spread of the disease.

Materials and methods. The rodents were captured using baited closure traps and installed by twelve hours periods inside and around dwellings. Captured rodents were sacrificed and kidneys were used for DNA extraction. Following this, a PCR and visualization of the fragment of interest was conducted.

Results. Eleven samples of rodent tissue showed the genetic segment of interest indicating the presence of pathogenic *Leptospira* spp in these rodents.

Conclusions. This study reveals, by molecular analysis, the existence of pathogenic *Leptospira* spp in the city of Sincelejo, what makes us think that the general population is at risk for infection.

Keywords. *Leptospira*, rodents, LipL32-PCR, Sincelejo.

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial (Brown et al. 1995) causada por especies patógenas del género *Leptospira*. Esta bacteria infecta a una amplia variedad de animales domésticos y silvestres. En el caso del hombre, la infección resulta por contacto con agua o suelo contaminado con orina de roedores, los cuales juegan un papel importante en la epidemiología de la enfermedad. Una gran variedad de especies de roedores, en casi todas las regiones del mundo, son portadores crónicos de *Leptospira* spp, aunque estos no presentan síntomas clínicos perceptibles. Sin embargo, al evaluar la presencia de *Leptospira* spp en los riñones de los roedores, se puede evidenciar frecuentes emisiones de la bacteria a través de la orina durante prolongados periodos de tiempo, etapa conocida como leptospiuria (Sacsquispe et al. 2003).

En Colombia, estudios realizados en roedores reservorios de *Leptospira* en plantales porcinos de la zona central cafetera, demostraron que una cantidad alta de las explotaciones porcinas estaba infestada de roedores, y que una proporción muy alta de estos estaban infectados con *Leptospira* (Giraldo et al. 2002). En otro estudio realizado en la ciudad de Medellín, se demostró el papel de los roedores en la epidemiología urbana de la leptospirosis en Colombia, y se encontró que el 23% (12/52) de las ratas capturadas fueron positivas por cultivo y el 20% (52/254) fueron positivas para *Leptospira* patógenas por PCR (Agudelo et al. 2009). En el departamento de Sucre, solo se ha reportado un estudio de seroprevalencia de leptospirosis en humanos, donde se determinó que existe una prevalencia importante de la bacteria en trabajadores rurales (Ríos et al. 2008), los demás datos que se conocen acerca de esta zoonosis, han sido reportados por las entidades de salud. En el año 2007 se reportaron seis casos de la enfermedad, en 2008 se informaron 11 casos y en 2009 se registraron 13 casos de los cuales tres fueron fatales.

Así mismo, datos registrados por el Sistema de Vigilancia Nacional indican que entre los años 2006-2011 Sucre reportó 248 casos, de los cuales 50 fueron notificados por el municipio de Sincelejo (INS 2006-2011), estos datos clínicos demuestran que en el departamento hay circulación de especies patógenas del género *Leptospira*. Por esta razón, el principal objetivo de este trabajo fue determinar el papel de los roedores en la diseminación de la enfermedad.

Entre el segundo semestre de 2010 y el primero de 2011 se capturaron 226 roedores en diferentes barrios de las nueve comunas del municipio de Sincelejo. Para esto se tuvieron en cuenta factores de riesgo tales como: barrios cercanos a arroyos (canalizados o no), alledaños a zonas enmontadas o baldíos, barrios de invasión, y zonas con alta cantidad de desechos. Se utilizaron trampas tipo Sherman y Tomahawk para la captura de roedores vivos, las cuales fueron cebadas e instaladas en el intradomicilio y peridomicilio, respectivamente, y colocadas en la tarde y recogidas a la mañana siguiente. Para llevar a cabo este estudio, se tuvo en cuenta los lineamientos establecidos para el trapeo y muestreo de pequeños mamíferos para estudios virológicos (Mills et al. 1998).

Los roedores capturados fueron trasladados al Laboratorio de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Sucre para

su procesamiento. Inicialmente, se registraron los datos morfológicos de los individuos y luego de un proceso de limpieza, fueron sacrificados por dislocación cervical, sus riñones fueron extraídos durante la autopsia, así mismo, hígado y fluidos corporales para estudios posteriores. Se determinó la especie de cada roedor capturado, mediante claves genéricas para roedores del Nuevo Mundo (Eisenberg 1989; Emmons & Feer 1997), de esta manera se identificaron tres especies, *Rattus rattus* (rata negra), *Rattus norvegicus* (rata gris) y *Mus musculus* (ratón casero), esta última fue la más abundante (81,86%) en relación con las otras dos especies.

Con el fin de detectar la presencia de la bacteria en los riñones de los roedores capturados, se realizó una extracción de ADN total a partir de una porción de tejido renal, aplicando el método de altas concentraciones de sales propuesto por Watts (Watts 2001), y se diseñó una PCR usando los cebadores descritos por Levett et al. (2005), los cuales flanquean una región de aproximadamente 423pb que codifica para la lipoproteína de membrana externa LipL32, altamente conservada en especies patógenas del género *Leptospira*.

Once muestras fueron positivas por PCR, las cuales fueron secuenciadas en ambos sentidos de la cadena, posteriormente se alinearon con secuencias depositadas en la base de datos genéticos GenBank. Usando la herramienta BlastN y teniendo en cuenta los criterios de máxima identidad, cobertura y puntuación total en el alineamiento múltiple, se determinó la identidad del ADN amplificado a partir de tejido renal de *M. musculus* y *R. rattus*. De acuerdo a esto, fueron identificadas dos especies de bacterias del género *Leptospira*: *L. interrogans* y *L. borgpetersenii*.

Para evaluar la asociación entre las variables especie de roedor y ADN bacteriano detectado, se realizó un análisis de chi-cuadrado. Se encontró una asociación ($p > 0.05$) entre *Leptospira* y *Mus musculus*, lo que se debe probablemente a la abundancia de roedores capturados de esta especie. Este resultado podría indicar que en el área urbana del municipio de Sincelejo, la especie *M. musculus* está cumpliendo un papel muy importante en la diseminación y transmisión de *Leptospira* spp. patógenas. Sin embargo, estos resultados difieren de otros estudios en los que se ha demostrado que las ratas son uno de los principales reservorios de la bacteria (Villanueva et al. 2010). Aunque en esta investigación también se detectó ADN bacteriano en *R. rattus* y *R. norvegicus*, la asociación fue más alta en esta última (4/11) que en *R. rattus* (1/11), este resultado podría obedecer a la diferencia en jerarquía competitiva que existe entre estas dos especies o al hábito de anidado de las mismas (Coto 1997).

Teniendo en cuenta estos resultados, se demostró la presencia de *Leptospira* spp. patógenas en la ciudad de Sincelejo, así como también el papel de *Mus musculus*, como reservorio y posible transmisor de la bacteria a otras especies de animales y a la población humana, lo cual indica que la leptospirosis podría llegar a ser un problema de salud pública en Sincelejo, debido al estrecho contacto que tiene la población humana con estos roedores.

CONFLICTO DE INTERÉS

No existe conflicto de interés por declarar.

FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado por la División de Investigación de la Universidad de Sucre (DIUS) en el marco del proyecto titulado: "Identificación de *Leptospira* spp patógenas en roedores del municipio de Sincelejo, mediante reacción en cadena de la polimerasa múltiple (mPCR), Microaglutinación (MAT) y Cultivo." Resolución No. 30 de 2012.

REFERENCIAS

Agudelo P, Londoño A, Quiroz V, Ángel J, Moreno N, Loaiza E, et al. 2009. Prevalence of *Leptospira* spp. in Urban Rodents from a Groceries Trade Center of Medellín, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 81(5): p. 906-910.

Brown PD, Gravekamp C, Carrington DG, van de Kemp H, Hartskeerl RA, Edwards CN, et al. 1995. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. *J Med Microbiol.* 43(2): p. 110.

Coto H. 1997. *Biología y control de ratas sinantrópicas.* 1a Edición. Buenos Aires. Edit. Abierta.

Eisenberg J. 1989. *Mammals of the Neotropics, the Northern Neotropics: Panama, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana.* Vol 1. University of Chicago Press.

Emmons L, Feer F. 1997. *Neotropical RainForest Mammals, a Field Guide.* 2da Edition. Chicago. University of Chicago Press.

Giraldo G, Orrego-Urbe A, Betancurth A. 2002. Los roedores como reservorios de *Leptospiras* en planteles porcinos de la zona central cafetera de Colombia. *Arch med vet.* 34(1): p. 69-78.

INS. 2006 – 2011. *Boletines epidemiológicos semanales.* Subdirección de vigilancia y control en salud pública. Colombia.

Levett PN, Morey RE, Galloway RL, Turner DE, Steigerwalt AG, Mayer L. 2005. Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *J Med Microbiol.* 54:45-49.

Mills J, Childs J, Ksiazek T, Peters C, Velleca W. 1998. Métodos para trapeo y muestreo de pequeños mamíferos para estudios virológicos. National Center for Infectious

Ríos R, Franco S, Mattar S, Urrea M, Tique V. 2008. Seroprevalencia de *Leptospira* sp., *Rickettsia* sp. y *Ehrlichia* sp. en trabajadores rurales del departamento de Sucre, Colombia. *Infect.* 12(2): 90-95.

Sacsaquispe R, Glenny M, Céspedes M. 2003. Estudio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en salitral, Piura. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 20(1): 39-40.

Villanueva S Y, Ezoe H, Baterna RA, Yanagihara Y, Muto M, Koizumi N, Yoshida S. 2010. Serologic and Molecular Studies of *Leptospira* and Leptospirosis among Rats in the Philippines. *Am J Trop Med Hyg.* 82(5), 889–898.

Watts P. 2001. *Extraction of DNA from tissue: High salt method.* Liverpool. School of Biological Sciences. Versión 1.0: 5.