

**DETERMINACIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS E HISTOQUÍMICAS
DE *Leptospira* spp. EN LA ESPECIE *Cavia porcellus***

**HERNÁN DARÍO CISNEROS LÓPEZ
JOSÉ EDUARDO GUZMÁN DE LA ROSA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2015**

**DETERMINACIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS E HISTOQUÍMICAS
DE *Leptospira* spp. EN LA ESPECIE *Cavia porcellus***

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
médico veterinario**

**HERNÁN DARÍO CISNEROS LÓPEZ
JOSÉ EDUARDO GUZMÁN DE LA ROSA**

**Director:
CARLOS ALBERTO CHAVES VELÁSQUEZ
MV.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2015**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de los autores”.

Artículo primero del acuerdo N° 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN:

Director de trabajo de grado
CARLOS ALBERTO CHAVES VELÁSQUEZ

Jurado Delegado
MAYRA ALEJANDRA VARGAS PINTO

Jurado Evaluador
EDWARD JOHNNY ZAMBRANO

San Juan de Pasto, Febrero 2015

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan el agradecimiento a:

Bibiana Benavides Benavides. MV. Esp. MSc

Carlos Alberto Chaves Velásquez. MV.

Mayra Alejandra Vargas Pinto. MV.

Edward Johnny Zambrano. MV. Bact.

Grupo de Investigación SAPUEP y MIFARVET

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, por llegar en el momento en que más lo necesitaba, y hacerme entender que nada es imposible cuando estas a lado de Él. (Lucas 1:37)

A mi querida madre, quien siempre estuvo pendiente de mí en el transcurso de mi carrera, dándome su apoyo incondicional. A mi padre, por su paciencia y tolerancia. A mis tías, quienes siempre estuvieron para animarme y darme soporte. A mis amigos y compañeros, que juntos como equipo pasamos por cada etapa para desarrollarnos como profesionales.

En general a todos aquellos que hacen parte de mi vida, y gastaron un poco de su tiempo para darme palabras de aliento. Solo no pudiera ser quien soy.

Hernán Darío Cisneros López

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia o ausencia de hallazgos histopatológicos e histoquímicos en órganos blanco (riñón, pulmón, hígado) en la especie *Cavia porcellus* positivos a *Leptospira interrogans* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) provenientes de lugares de abasto en el municipio de Pasto. Se tomó 4 bloques de parafina correspondientes a los individuos positivos a PCR, y se realizó una evaluación microscópica mediante la técnica de hematoxilina-eosina y la tinción especial de plata (Warthin Starry) estableciendo el tipo de trastorno, patrón de distribución y severidad de las lesiones presentes, y la presencia o no de leptospiras en túbulos contorneados. En la totalidad de los casos tuvieron una glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria, 3 de los 4 casos se presentó una neumonía linfocítica intersticial y 2 de 4 casos desarrollo una hepatitis periportal linfocítica; en contraste, solo en uno de los casos en estudio se pudo identificar el agente mediante la tinción especial de plata. Los resultados de la investigación son los primeros en mostrar evidencia de la presencia de *Leptospira interrogans* y los disturbios microscópicos ocasionados en cuyes destinados a consumo humano en el municipio de Pasto.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence or absence of histopathological and histochemical findings in target organs (kidney, lung, liver) in *Cavia porcellus* species positive to *Leptospira interrogans* by polymerase chain reaction (PCR) from supplying places in the town of Pasto. It was taken 4 blocks of paraffin corresponding to the PCR positive individuals, and microscopic evaluation was performed using hematoxylin-eosin and special silver staining (Warthin Starry) establishing the type of disorder, distribution pattern and severity of lesions present, and the presence or absence of leptospire in convoluted tubules. All the cases had a lymphoplasmacytic interstitial glomerulonephritis, 3 of the 4 cases presented a lymphocytic interstitial pneumonia and 2 of 4 cases development periportal lymphocytic hepatitis; In contrast, only one of the cases studied was able to identify the agent by special silver staining. The research results are the first to show evidence of the presence of *Leptospira interrogans* and microscopic disturbances caused in guinea pigs for human consumption in the town of Pasto.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	17
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	20
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
4. MARCO TEÓRICO.....	22
4.1 ETIOLOGÍA.....	22
4.2 TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN.....	23
4.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	24
4.4 TRANSMISIÓN.....	26
4.5 PATOGÉNESIS.....	27
4.6 SIGNOS CLÍNICOS.....	29
4.7 DIAGNÓSTICO.....	31
4.7.1 MAT (Prueba de Microaglutinación o Aglutinación Microscópica).....	32
4.7.2 Microscopia de Campo oscuro.....	33
4.7.3 Cultivo.....	33
4.7.4 PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).....	34
4.7.5 Histopatología.....	35
4.7.6 Histoquímica.....	37
4.7.7 Inmunohistoquímica.....	37
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	39

5.1	ÁREA DE ESTUDIO	39
5.2	TAMAÑO DE MUESTRA	39
5.3	MATERIALES Y EQUIPOS.....	39
5.4	PROCESAMIENTO	39
5.5	ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO	39
5.6	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	40
5.7	REGISTRO FOTOGRÁFICO	40
5.8	IMPLICACIONES ÉTICAS	40
6.	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	41
6.1	DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 1	41
6.1.1	Riñón.....	41
6.1.2	Pulmón.....	41
6.1.3	Hígado	42
6.2	DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 2.....	50
6.2.1	Riñón.....	50
6.2.2	Pulmón.....	51
6.2.3	Hígado.	51
6.3	DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 3.....	60
6.3.1	Riñón.....	60
6.3.2	Pulmón.....	60
6.3.3	Hígado.	60
6.4	DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 4.....	67
6.4.1	Riñón	67
6.4.2	Pulmón.....	67

6.4.3 Hígado.	67
6.5 TINCIÓN DE PLATA (WARTHIN STARRY)	81
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	83
7.2 RECOMENDACIONES.....	83
BIBLIOGRAFÍA.....	84

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Taxonomía de la <i>Leptospira</i>	23
Cuadro 2. Comparación de diagnóstico morfológico.	73
Cuadro 3. Comparación de hallazgos histopatológicos encontrados en corteza renal.....	75
Cuadro 4. Comparación de hallazgos histopatológicos encontrados en medula renal.....	76
Cuadro 5. Comparación de hallazgos histopatológicos encontrados en pulmón.....	78
Cuadro 6. Comparación de hallazgos histopatológicos en hígado.	79

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Riñón del cuy con cambios histopatológicos (Caso 1).....	43
Figura 2. Lesiones observadas en glomérulo del cuy (Caso 1).	44
Figura 3. Riñón de cuy con infiltrado mononuclear (Caso 1).	45
Figura 4. Túbulos renales y parénquima pulmonar del cuy (Caso 1).....	46
Figura 5. Lesiones histopatológicas en alveolos y bronquios (Caso 1).....	47
Figura 6. Hallazgos microscópicos en pulmón e hígado del cuy (Caso 1).....	48
Figura 7. Lesiones microscópicas en hígado del cuy (Caso 1).....	49
Figura 8. Parénquima hepático del cuy con lesiones microscópicas (Caso 1).	50
Figura 9. Lesiones histopatológicas en el riñón del cuy (Caso 2).....	52
Figura 10. Diferentes cambios patológicos en glomérulos de tejido renal del cuy (Caso 2).....	53
Figura 11. Hallazgos histopatológicos en riñón del cuy (Caso 2).....	54
Figura 12. Lesiones observadas en pulmón del cuy (Caso 2).	55
Figura 13. Cambios histopatológicos encontrados a nivel pulmonar del cuy (Caso 2).	56
Figura 14. Cambios histopatológicos encontrados en el parénquima pulmonar del cuy (Caso 2).....	57
Figura 15. Lesiones microscópicas en pulmón e hígado del cuy (Caso 2).	58
Figura 16. Lesiones histopatológicas en tejido hepático del cuy (Caso 2).....	59
Figura 17. Alteraciones microscópicas en riñón del cuy (Caso 3).....	62
Figura 18. Alteraciones microscópicas en corteza y medula renal del cuy (Caso 3).	63
Figura 19. Hallazgos microscópicos en riñón del cuy (Caso 3).	64
Figura 20. Hallazgos microscópicos en pulmón de cuy (Caso 3).....	65

Figura 21. Alteraciones microscópicas en parénquima hepático del cuy (Caso 3).....	66
Figura 22. Hallazgos microscópicos en riñón del cuy (Caso 4).	69
Figura 23. Hallazgos microscópicos en pulmón del cuy (Caso 4).....	70
Figura 24. Evidencia de lesiones a nivel de pulmón e hígado del cuy (Caso 4). ..	71
Figura 25. Hallazgos histopatológicos en hígado del cuy (Caso 4).....	72
Figura 26. Tinción de plata en tejido renal.	82

GLOSARIO

Cavia porcellus: pequeño mamífero del orden de los roedores, originario de la zona andina del Perú y otros países de Sur América. Tiene el cuerpo compacto y mide entre 20 a 40 centímetros. También conocido con el nombre de conejillo de indias, curí, cuy o cobayo.

HISTOPATOLOGÍA: rama de la patología que trata el diagnóstico de enfermedades a través del estudio microscópico de los tejidos, observando la estructura tisular y celular en situación patológica para revelar cambios anormales o adversos en un órgano.

HISTOQUÍMICA: es la aplicación de reacciones químicas y bioquímicas en la técnica histológica, con el fin de localizar y determinar de manera microscópica ciertas sustancias o su actividad.

HOSPEDADOR: en biología, el hospedador es un organismo que alberga a otro organismo en su interior o exterior, ya sea en simbiosis de parasito, comensal o mutualista.

INMUNOHISTOQUÍMICA: técnica de inmunotinción que permite demostrar una variedad de antígenos presentes en las células o tejidos utilizando anticuerpos marcados, basándose en la capacidad de afinidad antígeno-anticuerpo que se observa mediante una reacción con sustancias que pueden absorberse, emitir luz o producir coloración. Utilizada ampliamente para el diagnóstico de enfermedades.

LEPTOSPIROSIS: enfermedad infectocontagiosa grave de distribución mundial producida la bacteria patógena del genero *Leptospira*.

PATOGENIA: estudio de los mecanismos por los cuales las causas mórbidas actúan sobre el organismo para producir una enfermedad.

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR): técnica de la biología molecular que permite la amplificación in vitro de forma directa de un fragmento de ADN; o de forma indirecta un fragmento de ARN.

TEJIDO: en biología, los tejidos son aquellos materiales constituidos por un conjunto organizado de células, con sus respectivos orgánulos iguales (o con pocas desigualdades entre células diferenciadas), distribuidas regularmente, con un comportamiento fisiológico coordinado y un origen embrionario común.

TINCIÓN DE PLATA O DE WARTHIN STARRY: tinción que utiliza plata para modificar selectivamente el color o la apariencia de un tejido para revelar detalles extremadamente finos.

ZOONOSIS: enfermedad o infección del animal que es transmitida al humano en condición natural.

INTRODUCCIÓN

“La leptospirosis, es una enfermedad zoonótica significativa en todo el mundo, que afecta a muchas especies animales, causada por la infección con una espiroqueta del genero *Leptospira*”¹. “Esta enfermedad se presenta en zonas tropicales, y sobrevive en regiones húmedas y cálidas, sin embargo no está limitada a ciertos países. Se ha demostrado que esta enfermedad se presenta en estaciones de verano y otoño. La transmisión de esta enfermedad se presenta por contacto directo con orina, tejidos o sangre infectada o también por contacto con aguas contaminadas, ríos y lagos”². La literatura disponible acerca de la especie *Cavia porcellus* en el ámbito pecuario, en su mayoría es referente al área de producción, siendo escasa la información sobre la presencia y transmisión de enfermedades.

El inconveniente de la producción, como lo menciona Caycedo³ se basa en la falta del control sanitario, reproductivo y productivo, del mismo modo, estudios apropiados que permitan construir un registro epidemiológico completo de las enfermedades en la especie *Cavia porcellus* no se han realizado, conociéndose como una limitante para llegar a obtener un producto de alta calidad para el mercado.

Este estudio permite ampliar el conocimiento acerca del comportamiento de la *Leptospira interrogans* en la especie *Cavia porcellus*, describiendo los hallazgos microscópicos encontrados en órganos blanco (hígado, pulmón e hígado) producidos por la infección en condiciones de producción.

¹ GREENE, Craig E, et. al. Leptospirosis. In: Infectious diseases of the dog and cat. 4 ed. Santa Louis: ELSEVIER/SAUNDERS, 2012. 431 p.

² ZAVITSANOU, Assimina and BABATSIKOU, Fotoula. Leptospirosis: Epidemiology and preventive measures, En: Health Science Journal, 2008, vol. 2, Issue 2, p 75 – 82.

³ CAYCEDO VALLEJO, Alberto. El Cuy Historia, Cultura y Futuro Regional, Colombia: Alcaldía Municipal de Pasto, 2004. p. 22. Citado por MORILLO, Felix. Proyecto empresarial para la creación de una producción tecnificada de cuy (*Cavia porcellus*) en el municipio de Pilcuan (Nariño). Tesis de especialización. Colombia: Bogotá D.C. Universidad de La Salle. Facultad de administración de ciencias agropecuarias. 2007. 15 p.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

La literatura disponible acerca de la especie *Cavia porcellus* en el ámbito pecuario, en su mayoría es referente al área de producción, siendo escasa la información sobre la presencia y transmisión de enfermedades.

Según Chauca en 1997 afirma que:

La mortalidad existente en la crianza de cuyes, como consecuencia del desconocimiento de alternativas en el área de salud animal, es lo que limita el desarrollo de la crianza. En los países andinos la cría de cuyes se realiza de manera tradicional en el sistema familiar. Se viene haciendo esfuerzos a fin de mejorar este sistema difundiendo tecnología apropiada para mejorar su producción. A causa de problemas sanitarios se tiene la mayor merma de la producción, por lo que se vienen identificando las causas de mortalidad para tomar medidas de prevención y control⁴.

La cría de cuyes en Colombia se remite casi exclusivamente al departamento de Nariño, haciendo de esto un elemento económico importante de la región, siendo un apoyo del sostenimiento de muchas familias en el sector rural. El inconveniente de la producción, como lo menciona Caycedo⁵ se basa en la falta del control sanitario, reproductivo y productivo, del mismo modo, estudios apropiados que permitan construir un registro epidemiológico completo de las enfermedades en la especie *Cavia porcellus* no se han realizado, conociéndose como una limitante para llegar a obtener un producto de alta calidad para el mercado.

López, et al. Considera que:

La sanidad es la base del manejo de las explotaciones animales y es por eso que requiere de un trato especial cuando se aplica diversas formas de producción animal, además, es claro que la sanidad animal se relaciona, directamente, con la salud pública y, por consiguiente, con las enfermedades que se transmiten del animal al hombre, conocidas como enfermedades zoonóticas⁶.

En vista de que la leptospirosis es una de las enfermedades zoonóticas más importantes a nivel mundial; y que en el municipio de Pasto se ha encontrado la presencia del agente *Leptospira spp* mediante la prueba de reacción de cadena de

⁴ CHAUCA DE ZALDIVAR, Lilia. Sanidad en cuyes. En: Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). 1 ed. Peru: FAO, 1997. 63 p.

⁵ CAYCEDO VALLEJO, Alberto. Op. Cit.

⁶ LÓPEZ DE BURITICA, C; et al. Sanidad. En: Explotación tecnificada de cuyes, Manual de asistencia técnica. Colombia: CORPOICA, 2003. p 32.

polimerasa en tejido renal de cuyes destinados para consumo humano. Es importante establecer en estos individuos la existencia o no de alteraciones microscópicas e histopatológicas, y determinar si son sensibles al desarrollo de la enfermedad, o si se comportan como hospedadores adaptados.

Por lo tanto, la identificación y caracterización de alteraciones o posibles lesiones histopatológicas de *Leptospira spp* en riñón, hígado corazón y pulmón, proporcionaría información de la relación entre el agente y la especie de interés.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existen alteraciones microscópicas generadas por *Leptospira spp* en la especie *Cavia Porcellus* en el municipio de Pasto?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evidenciar si existen alteraciones histopatológicas e histoquímicas generadas por *Leptospira spp.* en la especie *Cavia porcellus* en condiciones naturales, destinados a consumo humano en el municipio de Pasto.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Clasificar las lesiones de acuerdo al tipo de alteración (disturbios microcirculatorios, alteraciones degenerativas, inmunopatología, trastornos inflamatorios y alteraciones proliferativas).
- Determinar el patrón de distribución y grado de severidad de las alteraciones histopatológicas.
- Identificar mediante tinción de plata la presencia del agente (*Leptospira spp.*).
- Realizar registró microfotográfico de las alteraciones microscópicas inducidas por *Leptospira spp.* en la especie *Cavia porcellus*.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 ETIOLOGÍA

“La leptospirosis, es una enfermedad zoonótica significativa en todo el mundo, que afecta a muchas especies animales, causada por la infección con una espiroqueta del genero *Leptospira*”⁷. “Las leptospiras son organismos delgados en espiral, de 0.1 μm por 6-20 μm ”⁸; “son altamente móviles con terminaciones en forma de gancho, y se consideran aerobias obligatorias con una temperatura de crecimiento óptimo de 28 a 30 °C”^{9,10}.

Una de las características particulares de la bacteria, es mencionada por Karen Evangelista y Jenifer Coburn:

Las leptospiras tienen estructuras superficiales que comparten características de ambos grupos de bacterias; tanto Gram positivas como Gram negativas. La doble membrana y la presencia de lipopolisacáridos son características de las Gram Negativas, mientras que la estrecha asociación de la membrana citoplasmática frente a la pared celular de mureína es una reminiscencia de la arquitectura desarrollada en las Gram positivas¹¹.

⁷ GREENE, Craig E, et. al. Op Cit.

⁸ LEFEBVRE, Rance B. Spiral-Curved Organisms V: Leptospira. In: MCVEY, S.; KENNEDY, M. and CHENGAPPA, M.M. Veterinary Microbiology. 3 ed. New Delhi: Jhon Wiley & Sons, 2013. 179 p.

⁹ BHARTI, Ajay, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. In: The lancet infectious diseases, December, 2003, vol. 3, no, p 757-771.

¹⁰ ADLER, Ben and DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. In: Veterinary microbiology, January, 2010, vol. 140, no. 3-4, p 287-296.

¹¹ EVANGELISTA, Karen and COBURN, Jenifer. Leptospira as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. In: Future microbial, September, 2010, vol. 5, no. 9, p 1413-1425.

4.2 TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN

Cuadro 1. Taxonomía de la *Leptospira*.

Reino	Bacteria
Filo o División	Bacteria
Clase	Schizomycetes
Orden	Spirochaetales
Familia	Spirochaeeaceae
Genero	Leptospira

Fuente: INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM. *Leptospira* [En línea]. 1996, rev. January 16, 2015 [Citado 16-Ene-2015]. Disponible en internet: http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=503

“El género *Leptospira* fue anteriormente clasificada en dos especies, *L. interrogans* (patógena) y *L. biflexa* (saprofita)”¹²; “se diferenciaron debido a que esta última crece a una temperatura de 13° C y en presencia de 8-azaguanina (225 mg/ml); y por el fracaso para formar células esféricas en NaCl. Ambas especies son divididas en numerosas serovariedades (serovares), definidos por la prueba de aglutinación después de la absorción cruzada con antígenos homólogos”¹³. “Las serovariedades antigénicamente relacionadas se reúnen en serogrupos a los fines de clasificación”¹⁴.

“Sin embargo las especies de *Leptospira* son ahora clasificadas por la homologación del ADN (genoespecies). Actualmente, se han podido reconocer 20 especies de esta bacteria que se han categorizado en tres grupos: patógenas, saprófitas y organismos de patogenicidad incierta (intermedias)”¹⁵. “Teniendo 14 especies patógenas e intermedias; y 6 especies saprófitas”¹⁶. “Del grupo de las patógenas se han identificado más de 260 serovares y del grupo de las saprófitas, más de 60 y se presume que existen nuevas especies adicionales”¹⁷. “Los

¹² MARKEY, Bryan, et al. The spirochaetes. In: Clinical veterinary microbiology. 2 ed. Edinburgh: MOSBY/ELSEVIER, 2013. 381 p.

¹³ LEVETT, Paul. Leptospirosis. In: Clinical Microbiology reviews, April, 2001, vol. 14, no. 2, p 296-326.s

¹⁴ WINN, Washington, et al. Infecciones producidas por espiroquetas. En: Koneman diagnóstico microbiológico. 6 ed. Madrid: Editorial Medica Panamericana, 2006. 1094 p.

¹⁵ QUINN, P.J., et al. Spirochaetes. In: Veterinary microbiology and microbial disease. 2 ed. UK: Wiley-Blackwell, 2011. 478 p.

¹⁶ ROMERO-VIVAS, Claudia, et. al. Molecular serovar characterization of *Leptospira* isolates from animals and wáter in Colombia. In: Biomédica, 2013, vol. 33, no. 1, p 179-194.

¹⁷ ADLER and DE LA PEÑA MOCTEZUMA, Op. Cit.

serogrupos y serovares no corresponden con las genopecies, y cepas dentro del mismo serogrupo o serovar pueden ser encontradas en múltiples especies”¹⁸.

4.3 EPIDEMIOLOGÍA

“La leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial. Es capaz de sobrevivir durante meses en medios húmedos, cálidos (20-37°C), en aguas superficiales abundantes y suelos con pH entre 6-8. Es muy sensible a la desecación lo cual determina que exista una mayor posibilidad del contagio durante los meses lluviosos”¹⁹.

“Esta enfermedad se presenta en zonas tropicales, y sobrevive en regiones húmedas y cálidas, sin embargo no está limitada a ciertos países. Se ha demostrado que esta enfermedad se presenta en estaciones de verano y otoño. La transmisión de esta enfermedad se presenta por contacto directo con orina, tejidos o sangre infectada o también por contacto con aguas contaminadas, ríos y lagos”²⁰.

“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. Se reporta que se encuentra distribuida a lo largo de Alemania en animales como musarañas, ratones de campo, topes, y castores a lo largo de Europa”²¹. “Algunos estudios previos realizados en el continente americano han señalado la importancia de estos reservorios predominantemente *Rattus norvegicus* en la transmisión de la leptospirosis urbana”²².

“Algunas especies de animales actúan como hospederos adaptados para la *Leptospira* patógena, que desarrollan formas agudas y crónicas de la enfermedad y excretan a su vez el microorganismo a través de las mucosas y orina

¹⁸ LEFEBVRE, Op. Cit.

¹⁹ RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, German. Estado actual de la leptospirosis, En: Revista MVZ-Córdoba, 2000, vol. 5, no. 1, p 61-63.

²⁰ ZAVITSANOU, Assimina and BABATSIKOU, Fotoula. Leptospirosis: Epidemiology and preventive measures, En: Health Science Journal, 2008, vol. 2, Issue 2, p 75 – 82.

²¹ MAYER-SCHOLL, Anne, et al. *Leptospira* spp. in Rodents and shrews in Germany. En: International Journal of Environmental Research and Public Health, 2014, vol. 11, no. 8, p 7568-7569.

²² AGUDELO FLÓREZ, P; et al. Evidencia serológica de circulación de *Leptospira spp* en *Rattus norvegicus* naturalmente expuesto en una zona urbana colombiana. En: Revista salud pública, 2010, vol. 6, no. 12, p 990-999.

(leptospiuria) en forma permanente o intermitente, lo que constituye una fuente potencial de infección inter e intra específica. Dentro de este grupo se incluyen a los porcinos, caninos, bovinos, y caprinos²³.

“Los reservorios que tienen relevancia epidemiológica son los perros, porcinos, equinos, cabras, conejos, murciélagos, bovinos y roedores, siendo de mayor importancia los dos últimos, debido a que aportan un medio alcalino en la orina, considerando que es un factor de supervivencia para la bacteria. En contraposición el humano posee una orina acida, donde el microorganismo no sobrevive por mucho tiempo²⁴. “Otros autores comparten que los pequeños mamíferos se comportan como reservorios y juegan un papel importante en la transmisión de la enfermedad²⁵”.

“La leptospirosis ha sido bien descrita en Australia y Nueva Zelanda como una enfermedad ocupacional que afecta la vida de los ganaderos y los trabajadores en plantas de beneficio, sin embargo la prevalencia actual no se conoce con precisión en la mayor parte del mundo²⁶”.

“Otro factor que favorece el riesgo de presentación de la enfermedad es la inadecuada eliminación de residuos orgánicos e inorgánicos, lo que incrementa la presencia de roedores. La alta presencia de roedores constituye un factor de riesgo de infección por *Leptospira spp.* Al igual que el mal manejo de las excretas, que se convierten en fuente de infección al ser acumuladas²⁷”.

“El reporte de un brote epidémico en la región Caribe colombiana con un total de 47 casos confirmados y mortalidad de 17 %, junto a otros reportes de positividad del 11,5 % en Medellín, 23,3 % en Cali y 12,5 % en la región de Urabá, han confirmado la presencia de leptospirosis humana en la población de zonas urbanas, en las cuales es necesario conocer la frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira spp* en reservorios como los roedores, para establecer evidencias objetivas de su papel como fuente potencial de infección en una zona en

²³ Ibíd.

²⁴ BELLO PIERUBUCCINI, Solmara y RODRIGUEZ VILLAMARIN, Flor. Manual de *Leptospira spp.* 1 ed. Colombia: Instituto Nacional de Salud, 2011. p 3-7.

²⁵ ORTIZ RESTREPO, Celeny, et. al. Evidencia de *Leptospira* en riñones de roedores urbanos y rurales de tres municipios de Urabá Antioqueño, Colombia: Microbiología e Inmunología. En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2011, vol. 24, no. 3. p 460.

²⁶ ZUNINO M, Enna y PIZARRO P, Rolando, Leptospirosis. Puesta al Día, En: Rev Chil Infect, 2007, vol. 24, no. 3, p 220-226.

²⁷ OCHOA, Jesús; SANCHEZ, Antonio y RUIZ, Iván. Epidemiología de la Leptospirosis en una Zona Andina de Producción Pecuaria. En: Revista de la Asociación Colombiana de Infectología. Junio, 2001, vol. 5, No. 2, p 1-15.

particular”²⁸. “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”²⁹.

“En el 2011 en el departamento de Nariño, se reportó que Pasto es uno de los municipios con más casos de leptospirosis en humanos con un número igual a 10 casos a diferencia de otros municipios como Tumaco y El Charco que tiene un número igual a 5 y 4 casos anuales respectivamente, también hay evidencia de un número menor en otros municipios como es en el caso de Ancuya, Buesaco, Cartago, Ipiales, Tangua, la Unión, entre otros”³⁰.

4.4 TRANSMISIÓN

La transmisión ocurre por contacto directo o indirecto con orina de animales infectados, ya que pueden contaminar ríos, arroyos y aguas superficiales; casi todos los mamíferos pueden servir como portadores de leptospirosis, aunque, hay otros órganos que pueden servir como fuente de infección, además existe la posibilidad de una transmisión intrauterina. En la mayoría de los casos de leptospirosis humana, las ratas son las encargadas de transmitir la enfermedad excretando altas cantidades de *Leptospira* en su orina.

“La *Leptospira* entra al cuerpo por cortes o contacto con la piel y membranas mucosas como la nasal, bucal y ocular; las manifestaciones clínicas pueden presentarse desde el primer día hasta 4 semanas después de su exposición. En algunos casos se reporta que pueden presentarse 9 meses después de su exposición”³¹.

“Algunos estudios han investigado la prevalencia de *Leptospira* en roedores teniendo en cuenta sus hábitats variables. Se ha sugerido que la *Leptospira* circula en ambientes húmedos sin embargo ciertos estudios trastornan ese concepto estableciendo que dicha bacteria se encuentra también en áreas secas. Se ha asumido que existen dos formas de transmisión entre roedores, transmisión directa entre individuos, o por medio del medio ambiente exterior. La ruta de

²⁸ AGUDELO FLÓREZ, P, et al. Op cit.

²⁹ ACHA PEDRO Y SZYFRES, BORIS. Leptospirosis. En: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3 ed. Washington, DC.: Organización Panamericana de la Salud, 2001. 175-184 p.

³⁰ INSTITUTO DEPARTAMENTAL DE SALUD, Informe Gerencial Trimestral Consolidado para el nivel Nacional/ Nariño (IDSN). Versión 01. Colombia (25 de noviembre 2010).

³¹ EVANGELISTA, Karen and COBURN, Jenifer. Leptospira as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. In: Future microbial, September, 2010, vol. 5, no. 9, p 1413-1425.

transmisión entre roedores es desconocida, sin embargo se sugiere que la transmisión directa puede explicar la circulación de *Leptospira* en hábitats secos³². “Se puede establecer que la contaminación en roedores está establecida por el hábitat donde se encuentran y no por la especie del roedor”³³.

Pérez, Et al afirma que:

La transmisión, infección y porte de *Leptospira* entre roedores está influenciada por las condiciones meteorológicas. Las estaciones cálidas y lluviosas aumentan la abundancia y prevalencia de *Leptospira* en roedores³⁴.

4.5 PATOGÉNESIS

“El microorganismo penetra a través de la piel reblandecida por el agua, excoriaciones o mucosas, y alcanza rápidamente el torrente sanguíneo”³⁵, “alterando el endotelio de los capilares resultando en una vasculitis la que juega un papel importante en las manifestaciones de la enfermedad, así puede diseminarse a todos los órganos, incluyendo líquido cefalorraquídeo (LCR) y humor acuoso; su movimiento en tirabuzón y la producción de hialuranidasa, pueden explicar la penetración a estos sitios. En la primera semana, la *Leptospira* se puede encontrar en sangre y LCR, sin ocasionar síntomas neurológicos”³⁶.

“El periodo de incubación es de 7 a 26 días, con un promedio de 12 días”³⁷, “y después de que el número de leptospiras en la sangre y los tejidos alcanza un nivel crítico debido a la acción de la toxina, aparecen las lesiones y los síntomas consiguientes. Los riñones y el hígado son los órganos más afectados, aunque cualquier tejido puede estar comprometido”³⁸.

“Cuando los anticuerpos se forman, las leptospiras pueden ser eliminadas de todos los sitios en el hospedador con excepción de los ojos, túbulos renales

³² COSSON, Jean-Francois, et al. Epidemiology of *Leptospira* transmitted by rodents in Southeast Asia. In: PLOS Neglected Tropical Diseases, June, 2014, Vol. 8, Issue. 6 , p 1-10.

³³ Ibíd.

³⁴ Ibíd.

³⁵ CÉSPEDES Z, Manuel. Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Reemergente En: Rev Perú Med Exp Salud Publica, 2005, vol. 22, no. 4, p 290-307.

³⁶ Ibíd.

³⁷ Ibíd.

³⁸ RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, German, Op. Cit.

proximales y posiblemente del cerebro donde persisten por semanas o meses. La respuesta inmunológica es efectiva en la eliminación del organismo pero también puede producir reacciones inflamatorias sistémicas”³⁹.

“La lesión primaria, es el daño al endotelio de los vasos sanguíneos pequeños que conducen a isquemia localizada en los órganos, lo que resulta en la necrosis tubular renal, daño hepatocelular y pulmonar, meningitis, miositis y placentitis”⁴⁰.

“Los hallazgos histopatológicos se asocian a las lesiones ocasionadas por un choque endotóxico. La lesión dominante es una vasculitis con compromiso multisistémico donde los riñones y el hígado son los órganos más comprometidos. En los humanos que presentan el síndrome de Weil, se encuentran hemorragias generalizadas que comprometen músculos esqueléticos, riñones, pulmones, bazo, glándulas suprarrenales”⁴¹.

“Dentro de las complicaciones está la disfunción hepática que se manifiesta por la disminución de la excreción de la bilirrubina como alteración más frecuente, disminución de los niveles de albúmina sérica, incremento de los niveles de inmunoglobulinas y disminución en la producción de los factores dependientes de la vitamina K”⁴².

“Después de la primera semana, aparecen los anticuerpos en sangre y coinciden con el desarrollo de meningitis, sin encontrarse *Leptospira* en el LCR, lo que sugiere daño inmunológico. La *Leptospira* puede persistir por semanas en el humor acuoso y ocasionalmente causa uveítis crónica o recurrente. Los elevados niveles de factor de necrosis tumoral alfa (FNT α) encontrados en pacientes con leptospirosis mortal, lo que contrasta con los niveles normales de esta citoquina, en pacientes de buen pronóstico, sugiriendo el desempeño del FNT α en el desarrollo de la enfermedad”⁴³.

“La insuficiencia renal aguda por necrosis tubular, es causada por efecto directo de la *Leptospira* sobre el tejido renal, la hipoxia o el depósito de complejos antígeno-anticuerpo en los glomérulos. Las lesiones renales parecen iniciarse dentro de los glomérulos durante la migración de las leptospiras, luego surgen las alteraciones túbulo intersticiales causadas también, por la migración dentro de los

³⁹ Ibíd.

⁴⁰ WEESE, J. Scott and FULFORD, Martha B. Bacterial diseases. In: Companion animal zoonoses. USA: Wiley-Blackwell, 2011. 157-164 p.

⁴¹ RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, German, Op. Cit.

⁴² Ibíd.

⁴³ Ibíd.

capilares peri-tubulares para el intersticio y túbulos, responsabilizándose por el compromiso renal que puede variar de simple disminución de la función glomerular hasta insuficiencia renal. En el riñón, las anomalías de la función renal pueden ser profundas y desproporcionadas con respecto a los cambios histológicos observados en el mismo. El compromiso renal puede manifestarse en una amplia gama de grados que incluye desde simples alteraciones del sedimento urinario hasta cuadros gravísimos de insuficiencia renal aguda”⁴⁴.

“La insuficiencia renal es primariamente el resultado del daño tisular y es habitual encontrar leptospiras en la luz tubular, la causa principal de la lesión tubular parece ser la hipoxemia o algún efecto tóxico directo de las leptospiras. Las alteraciones inflamatorias en el riñón pueden observarse en los estadios más tardíos del desenvolvimiento de la lesión renal y en un caso se asociaron con inmunocomplejos circulantes y depósitos de componentes del complemento y cuerpos electrodensos en los glomérulos sugestivos de glomerulonefritis por inmunocomplejos. La hipovolemia y la hipotensión causadas por la pérdida de volumen intravascular como resultado de lesión endotelial, pueden contribuir al desarrollo de la insuficiencia renal”⁴⁵.

“En los músculos, las alteraciones varían desde inclusiones vacuolares en las miofibrillas e infiltrado moderado de polimorfonucleares, acompañado de elevación importante de la enzima creatinfosfoquinasa (CPK)”⁴⁶.

“Se ha demostrado que la cepa de *Leptospira* más virulenta para hámsters es *Leptospira interrogans*. Además, el serovar Canicola puede causar daños asociados a hemorragia pulmonar”⁴⁷.

4.6 SIGNOS CLÍNICOS.

“La leptospirosis está causada principalmente por *Leptospira icterohemorrhagica*, que usualmente es de curso asintomático. Las ratas sirven como reservorio para la infección en humanos”⁴⁸, “además se ha reportado que los conejos pueden adquirir la enfermedad por el contacto con roedores salvajes, hospederos de la

⁴⁴ Ibíd.

⁴⁵ Ibíd.

⁴⁶ CÉSPEDES Z. MANUEL Op. Cit,

⁴⁷ SILVA, Everton F. Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in hamster model. In: Vaccine, 2008, vol. 26, no. 31, p 3892-3896.

⁴⁸ WESCHE, Petra. Rodents: Clinical pathology. In: KEEBLE, Emma and MEREDITH Anna. BSAVA Manual of Rodents and Ferrets. England: BSAVA, 2009. 48 p.

bacteria⁴⁹, “y los gatos pueden reaccionar serológicamente a las especies de *Leptospira*, aunque posean una resistencia remarcable a la enfermedad⁵⁰. Muchos animales silvestres, incluyendo los roedores, están perfectamente “adaptados a las leptospiras y no muestran síntomas o lesiones”⁵¹.

“Posterior al periodo de incubación, aparecen los síntomas clínicos cuyas manifestaciones pueden ser subclínicas anictéricas leves o incluso severas⁵², “lo que depende de la edad e inmunidad del hospedero, virulencia del serovar, y el medio ambiente en el que se encuentra el organismo”⁵³.

“Los primeros síntomas aparecen representados por fiebre, posteriormente cuando la enfermedad es severa se pueden apreciar signos clínicos como ictericia, falla renal, sangrado y hemorragia pulmonar⁵⁴. “En infecciones agudas, los síntomas tempranos pueden incluir pirexia, temblores, dolor muscular, vomito, deshidratación, signos de coagulopatía, colapso vascular que a menudo conllevan a la muerte antes de que se desarrollen signos renales o hepáticos”⁵⁵.

“En otras especies animales, la fase de leptospiuria es permanente, sin presentarse en ellos sintomatología clínica evidente. Por esta razón estos animales son considerados reservorios o huéspedes de mantenimiento de la bacteria”⁵⁶. “En roedores se ha descrito signos tales como presencia de hemorragia por los orificios nasales, postración e ictericia cutánea”⁵⁷. También se

⁴⁹ MEREDITH, Anna and REDROBE, Sharon. BSAVA Manual of Exotic Pets. 4 ed. England: BSAVA, 2002. 84 p.

⁵⁰ LITTLE, Susan E. The Cat: Clinical Medicine and Management. Canada: Saunders Elsevier, 2012. 958 p.

⁵¹ KO, Albert I.; GOARANT, Cyrille and PICARDEAU Mathieu. *Leptospira* the Dawn of Molecular Genetics Era for an Emerging Zoonotic Pathogen. In: Nat Rev Microbiol, 2009, vol. 7, no. 10, p 736–747.

⁵² RODRÍGUEZ MARTÍNEZ GERMAN, Op. Cit.

⁵³ WEESE, J. Scott and FULFORD, Martha B. Op. Cit.

⁵⁴ KO, Albert I.; GOARANT, Cyrille and PICARDEAU Mathieu. Op. Cit.

⁵⁵ WEESE, J. Scott and FULFORD, Martha B. Op. Cit.

⁵⁶ AGUDELO FLORES, P, et al. Evidencia serológica de circulación de *Leptospira spp* en *Rattus norvegicus* naturalmente expuestos en una zona urbana de Colombia. En: Rev. Salud Pública, 2010, vol. 12, no. 6, p 990-999.

⁵⁷ ROSARIO, Luis, et al. Estudio anatomopatológico de aislados de *Leptospira spp.*, provenientes de Nicaragua en *Mesocricetus auratus* como biomodelo. En: Revista MVZ Córdoba, Mayo-Agosto, 2013, vol. 18, no. 2, p 3484-3491.

ha descrito en un estudio experimental realizado por Delgado, et al.⁵⁸ en cuyes que los signos presentados fueron decaimiento, inapetencia, ictericia e hiperemia conjuntival.

4.7 DIAGNÓSTICO

“Los signos clínicos, junto con una historia sugestiva a la exposición a orina contaminada, puede sugerir de leptospirosis aguda”⁵⁹.

“El diagnóstico de la enfermedad mediante laboratorio es primordial debido a que el cuadro clínico no es específico, ya sea en humanos o animales, además, en regiones endémicas, la existencia de infecciones similares puede causar confusión en el diagnóstico”⁶⁰. “En los animales se emplean los mismos procedimientos diagnósticos que en el hombre”⁶¹.

En un estudio experimental en el 2009, realizado por Lourdault, et al.⁶², mencionan que los cuyes infectados exhibieron niveles normales de aspartato amino transferasa, bilirrubina, urea, creatinina y fosfatasa alcalina en los primeros 5 días post-infección comparados con animales de control. Dentro de los 6 a 7 días, la función renal de los animales infectados exhibió niveles elevados de urea y creatinina, al igual que las demás enzimas evaluadas.

“El uso del laboratorio para el diagnóstico definitivo de leptospirosis puede ser complejo e implica pruebas que se dividen en dos grupos. Uno de los grupos está diseñado para detectar los anticuerpos anti-leptospiras; y el otro está diseñado para poner en evidencia las leptospiras, antígenos o ácidos nucleicos de las mismas en tejidos o en fluidos corporales”⁶³.

⁵⁸ DELGADO, Fernando, et al. Adaptación de un protocolo de inmunohistoquímica para la detección de *Leptospira* spp. en muestras de tejido fijado en formaldehído. En: Revista cubana de medicina tropical, Abril, 2007, vol. 59, no. 1, p 1-8.

⁵⁹ QUINN, P.J., et al. Spirochaetes. In: Veterinary microbiology and microbial disease. 2 ed. UK: Wiley-Blackwell, 2011. 481 p.

⁶⁰ VEERAPPA, Suman and PERWEZ, Khalid. Leptospirosis diagnosis: competency of various laboratory tests. In: Journal of clinical diagnostic research, January, 2014, vol. 8, no. 1, p 199-202.

⁶¹ ACHA, Pedro y SZYFRES, Boris. Leptospirosis. En: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3 ed. Washington, DC.: Organización Panamericana de la Salud, 2001. 181 p.

⁶² LOURDAULT, Kristel; AVIAT, Florence and PICARDEAU, Mathieu. Use of quantitative real-time PCR for studying the dissemination of *Leptospira interrogans* in the guinea pig infection model of leptospirosis. In: Journal of medical microbiology, May, 2009, vol. 58, pt. 5, p 648-655.

⁶³ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. Leptospirosis. En: Manual de las pruebas diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres 2013. Vol. 1. OIE. 2008. p 1.

4.7.1 MAT (Prueba de Microaglutinación o Aglutinación Microscópica). “El MAT es la prueba Gold Standard para el diagnóstico de leptospirosis y es el método más ampliamente usado para la detección de anticuerpos IgG y IgM en suero de animales”⁶⁴. “Esta prueba se realiza incubando el suero del paciente con varios serovares de *Leptospira*. Los títulos de MAT se obtienen analizando varias diluciones del suero con el serovar positivo. El serovar que reacciona con el suero del paciente es sugestivo de estar infectado”⁶⁵.

“Tiene la ventaja de ser específico para el diagnóstico por el serovar, o al menos por el serogrupo que desarrolla los anticuerpos, pero no puede diferenciar si estos anticuerpos son resultado de una infección o de la aplicación de una vacuna”⁶⁶. “Al igual que otras pruebas serológicas, para diagnosticar una infección individual, se requiere estudiar dos muestras pareadas de 15 - 20 días de intervalo entre la primera y la segunda, y, si se observa que se presentó una seroconversión, se considera de valor diagnóstico un cambio en los títulos de, al menos, cuatro veces de los títulos iniciales”⁶⁷. “Un solo título superior a 1:200 o serie de títulos superiores a 1:100 sugiere de leptospirosis, pero se debe tener en cuenta que no es diagnóstico”⁶⁸. “Para obtener una sensibilidad óptima deben emplearse antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos que existen en la región en la que se encuentran los animales a evaluar”⁶⁹.

“Esta prueba presenta el inconveniente de que es laboriosa y requiere el mantenimiento de cultivos vivos de leptospiras para su realización”⁷⁰. “Además de

⁶⁴ KHALILI, Mohammad, et al. Seroprevalence of bovine leptospiral antibodies by microscopic agglutination test in Southeast of Iran. In: Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, May, 2014, vol. 4, no. 5, p 354-357.

⁶⁵ CHIRATHAWOM, Chintana, et al. Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. In: Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, May, 2014, vol. 4, suppl. 1, p S162-S164.

⁶⁶ ADLER, Ben and DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. In: Veterinary microbiology, January, 2010, vol. 140, no. 3-4, p 287-296.

⁶⁷ MEDRANO G., Catalina; DÍAZ R., Cesar A. y DALMAU B., Ernesto A. Diagnóstico de leptospirosis canina por medio de las técnicas Dot-ELISA y MAT en perros con enfermedad renal en Bogotá. En: Revista de Medicina Veterinaria, Enero-Junio, 2011, no. 21, p 133-145.

⁶⁸ VEERAPPA and PERWEZ, Op. Cit.

⁶⁹ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL, Op. Cit. p 4.

⁷⁰ TERUSZKIN B., Ilana; VITAL-BRAZIL, Juliana and PEREIRA, Martha. Leptospirosis diagnosis by immunocapture polymerase chain reaction: a new tool for early diagnosis and epidemiologic surveillance. In: Diagnostic microbiology and infectious disease, September, 2012, vol. 74, no, p 11-15.

se debe tener el microscopio de campo oscuro para la observación de la aglutinación de la bacteria”⁷¹.

4.7.2 Microscopia de Campo oscuro. “Las muestras obtenidas de fluidos corporales pueden ser examinadas por microscopia de campo oscuro, pero es una técnica con baja sensibilidad ya que aproximadamente 10^4 organismos/ml deben estar presentes en la muestra para que una *Leptospira* sea visible por campo”⁷². “Sangre, orina, líquido cerebroespinal o líquido de diálisis pueden ser usados, pero esta técnica debe ser limitada a la evaluación solo en orina, puesto que, los otros fluidos contienen artefactos similares a la *Leptospira*”^{73,74}.

4.7.3 Cultivo. Lomar, et. al y Markey, et. al. Comparten que:

El cultivo de sangre, orina o líquido cerebro espinal es una técnica altamente especializada, que requiere tiempos de incubación prolongados y es realizado por pocos laboratorios para muestras de veterinaria. Se lleva a cabo en medios apropiados para el crecimiento del organismo, tales como el medio semisólido de Fletcher o el medio líquido de Stuart con adición de suero de conejo. También, puede usarse el medio EMJH (Ellinghausen, McCullough, Johnson and Harris) y el medio con albumina Tween 80^{75,76}.

“Un crecimiento óptimo de la *Leptospira* se observa a temperaturas entre 28 a 30° C en medios suplementados con ácidos grasos de cadena larga, vitamina B1 y B12, y sales de amonio”⁷⁷. “Puede usarse inhibidores selectivos (5-fluorouracilo,

⁷¹ MUSSO, Didier and LA SCOLA, Bernard. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. In: Journal of microbiology, immunology and infection, August, 2013, vol. 43, no. 4, p 245-252.

⁷² MARKEY, Bryan, et al. The spirochaetes. In: Clinical veterinary microbiology. 2 ed. Edinburgh: MOSBY/ELSEVIER, 2013. 385 p.

⁷³ LEFEBVRE, Rance B. Spiral-Curved Organisms V: Leptospira. In: MCVEY, S.; KENNEDY, M. and CHENGAPPA, M.M. Veterinary Microbiology. 3 ed. New Delhi: Jhon Wiley & Sons, 2013. 182 p.

⁷⁴ LEVETT, Paul. Leptospirosis. In: Clinical Microbiology reviews, April, 2001, vol. 14, no. 2, p 296-326.

⁷⁵ LOMAR, A.V.; DIAMENT, D. and TORRES, J.R. Leptospirosis in Latin America. In: Infectious disease clinics of North America, March, 2000, vol. 14, no. 1, p 23-39.

⁷⁶ MARKEY, et al., Op. Cit. p 386.

⁷⁷ EVANGELISTA, Karen and COBURN, Jenifer. Leptospira as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. In: Future microbial, September, 2010, vol. 5, no. 9, p 1413-1425.

neomicina y cicloheximida) con los medios para prevenir la contaminación con otros organismos”⁷⁸.

“Las leptospiras pueden ser aisladas de muestras de sangre y líquido cerebro espinal durante los primeros 7 a 10 días de la enfermedad, y de la orina durante la segunda y tercera semana de enfermedad”⁷⁹. “Si se practica una necropsia (de un animal sacrificado o muerto), se recomienda hacer cultivo del riñón. El examen de varias muestras de tejido de un mismo individuo no es siempre fácil de realizar en la práctica veterinaria, pero en animales domésticos no interesa tanto el diagnóstico individual como el del rebaño”⁸⁰.

4.7.4 PCR (Reacción en cadena de la polimerasa). “Entre las técnicas de diagnóstico fundamentadas en la detección de ADN de *Leptospira*, la PCR se ha utilizado cada vez más para el diagnóstico de la enfermedad en fluidos y órganos de diversas especies animales”⁸¹.

“Su ventaja reside en la capacidad para obtener un diagnóstico definitivo durante la etapa aguda de la enfermedad antes de que los anticuerpos sean detectables”⁸². “Se han descrito diferentes juegos de cebadores para la realización de ensayos de la PCR, con algunos cebadores específicos para identificar el género *Leptospira* y otros diseñados para identificar solamente las especies patógenas”⁸³.

Por ejemplo, en un estudio realizado por Ahmed, et al.⁸⁴ en el 2012, donde se evalúa la sensibilidad y especificada de una PCR múltiple, se utilizó dos sets de primers o cebadores, el primero amplifica el gen rARN 16s y el segundo amplifica el gen LipL 32; el gen LipL32 es una lipoproteína importante catalogado como un factor de virulencia que hace parte de la membrana exterior exclusiva de las leptospiras patógenas. Al terminar el estudio los autores concluyen que al usar

⁷⁸ LEFEBVRE, Op. Cit.

⁷⁹ BHARTI, Ajay, et. al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. In: The lancet infectious diseases, December, 2003, vol. 3, no, p 757-771.

⁸⁰ ACHA y SZYFRES, Op. Cit.

⁸¹ BEZERRA, Ana Lys, et al. Serology, polymerase chain reaction and histopathology for leptospirosis in samples collected at slaughter from dairy caows of Parnaiba region, state of Piauí, Brazil. In: Pesquisa veterinária brasileira, October, 2011, vol. 31, no. 10, p 859-866.

⁸² MUSSO and LA SCOLA, Op. Cit.

⁸³ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL, Op. Cit. p 3.

⁸⁴ AHMED, Siti, et al. Rapid diagnosis of leptospirosis by multiplex PCR. In: The Malasyan journal of medical science, July-September, 2012, vol. 19, no. 3, p 9-16.

estos dos primers se aumenta la especificidad y sensibilidad de amplificación de ADN genómico.

“El ensayo de PCR presenta mayor sensibilidad en comparación con la detección de *Leptospira* mediante cultivo”⁸⁵. “Este tipo de pruebas ofrecen resultados reproductibles, de fácil y exacta interpretación que permite disminuir los problemas asociados con la transferencia de tecnología y la reproductibilidad de pruebas entre laboratorios de zonas endémicas”⁸⁶.

“Una limitación del diagnóstico por PCR de la leptospirosis, es el defecto de la mayoría de los protocolos de esta técnica para identificar el serovar. Esto no es significativo para el tratamiento de paciente, pero tiene un gran valor en la epidemiología y la salud pública”⁸⁷, “otra limitación potencial, es su incapacidad para distinguir entre leptospiras viables y no viables, siendo esto importante para la determinación de la inmunidad conferida por vacunas”⁸⁸.

4.7.5 Histopatología. “La histopatología de rutina puede aportar mucho al diagnóstico de la enfermedad. La observación de lesiones compatibles refuerza la sospecha clínica de leptospirosis, pero por causa de los procesos auto líticos no siempre se puede realizar el estudio”⁸⁹.

En un estudio realizado en el 2012, por Jorge, et al.⁹⁰ donde se tomó al hámster como modelo experimental de virulencia, se pudo observar los siguientes hallazgos histopatológicos como características del desarrollo de una fase aguda de la enfermedad: Infiltración linfocítica en las venas centrolobulillares del hígado;

⁸⁵ BOONSILP, Siriphan, et al. Molecular detection and speciation of pathogenic *Leptospira* spp. in blood from patients with culture-negative leptospirosis. In: BCM Infectious diseases, December, 2011, vol. 11, no, p 338-346.

⁸⁶ MORENO, Natali y AGUDELO-FLÓREZ, Piedad. Aplicación de las pruebas de PCR convencional simple y multiple para la identificación de aislamientos de *Leptospira* spp. en Colombia. En: Revista peruana de medicina experimental y salud pública, 2010, vol. 27, no. 4, p 548-556.

⁸⁷ ZUNINO, Enna y PIZARRO, Rolando. Leptospirosis. Puesta al día. En: Revista chilena de infectología, Junio, 2007, vol. 24, no. 3, p 220-226.

⁸⁸ CHAGAS-JUNIOR, Aduzar, et al. Detection and quantification of *Leptospira interrogans* in hamster and rat kidney samples: Immunofluorescent imprints versus real-time PCR. In: PLOS ONE, February, 2012, vol. 7, Iss. 2, p 1-5.

⁸⁹ DELGADO, Fernando, et al. Op. Cit.

⁹⁰ JORGE, Sérgio, et al. *Leptospira borgpetersenii* from free-living White-eared oposum (*Didelphis albiventris*): First isolation in Brazil. In: Acta Tropica, November, 2012, vol. 124, no. 2, p 147-151.

focos hemorrágicos a nivel alveolar en pulmón; infiltrado linfocítico en tejido renal, hepático y pulmonar; picnosis en las células de los túbulos renales.

Un estudio experimental más detallado en hámsters, realizado por Rosario, et al.⁹¹ en el 2013, describe lesiones en hígado, demostrando una congestión grave y desorganización de los cordones hepáticos con focos hemorrágicos y necróticos en los estados más avanzados. Se destaca la presencia de linfocitos dada por su morfología no granular y núcleo redondo en este tipo de infección; y de neutrófilos disgregados por todo el tejido.

Complementario a lo anterior, Merien, et al.⁹² reporta en un estudio experimental desarrollado en cuyes en el año 1998. Que, una fase de edema se desarrolla inmediatamente después de la infiltración inflamatoria 24 - 48 horas post-infección (PI) en los tejidos. Hemorragias focales se evidencian inicialmente en los pulmones a las 24 horas PI. En el hígado, además de la apoptosis en los hepatocitos, aparece en conjunto con infiltración linfocítica de los tractos portales a las 48 horas PI, y próximo a esto, desarrollaban zonas hemorrágicas.

Yang, et al.⁹³ en el 2006, reportan que la hemorragia alveolar aparece como un foco pequeño a las 24 horas PI, como incremento de la severidad a las 96 horas PI se desarrollan áreas agrupadas de zonas hemorrágicas. Se observa un moderado a ligero infiltrado inflamatorio y edema dentro septo alveolar. Los hallazgos encontrados son resultado de un estudio experimental en cuyes.

De acuerdo a Nally, et al.:

La infección en los riñones se caracteriza por una necrosis de las células tubulares con apoptosis ocasionalmente. Aumento de la mitosis celular, indicativa de una regeneración tubular. A veces, la inflamación aguda es presente dentro y alrededor de los túbulos renales. Se encuentra también, una moderada a marcada infiltración de histiocitos. Sin embargo, el glomérulo no evidencia cambios patológicos con frecuencia⁹⁴.

⁹¹ ROSARIO, Luis, et al. Estudio anatomopatológico de aislados de *Leptospira spp.*, provenientes de Nicaragua en *Mesocricetus auratus* como biomodelo. En: Revista MVZ Córdoba, Mayo-Agosto, 2013, vol. 18, no. 2, p 3484-3491.

⁹² MERIEN, Fabrice, et al. In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. In: FEMS Microbiology letters, December, 1998, vol. 169, no. 1, p 95-102.

⁹³ YANG, Hong-Liang, et al. Thrombocytopenia in the experimental leptospirosis of guinea pig is not related to disseminated intravascular coagulation. In: BMC Infectious diseases, February, 2006, vol. 6, no. 19, p 1-9

⁹⁴ NALLY, Jarlath E., et al. Alveolar septal deposition of immunoglobulin and complement parallels pulmonary hemorrhage in a guinea pig model of severe pulmonary leptospirosis. In: American journal of pathology, March, 2004, vol. 163, no. 4, p 115-1127.

En contraste en las ratas se las considera reservorios de la enfermedad, desarrollan un estado crónico a subclínico de la infección, se ha podido comprobar en un estudio realizado por Tucunduva, et al.⁹⁵ (2007), que en condiciones experimentales y naturales, los hallazgos histopatológicos asociados a *Leptospira* en estos animales es la nefritis intersticial. Este hallazgo, es reportado igualmente por Agudelo-Flórez, et al.⁹⁶ (2013), cuando realizaron un estudio en ratas con infección natural, describiendo esta nefritis intersticial, como un infiltrado inflamatorio con predominancia de células linfoplasmocitarias e histiocitos que varía entre leve, moderada y severa. En casos severos se observó un compromiso focal, particularmente de la zona perivascular, afectando los vasos de pequeño a mediano tamaño de la corteza renal, sin embargo, esto no solamente se puede atribuir a la leptospiras, debido a que las ratas están expuestas a otros agentes que pueden desarrollar nefritis intersticial.

4.7.6 Histoquímica. Las leptospiras se observaron en los túbulos renales con la tinción Warthin-Starry, reportado en un estudio experimental en cuyes por Delgado, et al.⁹⁷. La presencia del agente en la totalidad de los órganos resulta ser la evidencia inequívoca de la circulación e invasividad de las leptospiras en los animales infectados.

“La cinética de la diseminación de las leptospiras fue estudiada en las ratas, infectándolas experimentalmente por vía peritoneal, el estudio reveló que el pico máximo de las leptospiras en todos los tejidos, basado en la tinción de plata, fue observado en el día 5 PI, sin embargo, después de los 7 días PI. las leptospiras no son detectables en ningún tejido excepto en el riñón”⁹⁸.

4.7.7 Inmunohistoquímica. “El concepto fundamental detrás de la Inmunohistoquímica (IHC) es la demostración de antígenos dentro de secciones de tejidos por medio de anticuerpos específicos. Una vez la unión antígeno-anticuerpo se produce, se demuestra con una reacción de tinción histoquímica visible por microscopía de luz o fluorocromos con luz ultravioleta”⁹⁹.

⁹⁵ TUCUNDUVA DE FARIA, M., et al. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. In: Journal of comparative pathology, December, 2007, vol. 137, no. 4, p 231-238.

⁹⁶ AGUDELO-FLÓREZ, Piedad, et al. Histopathological kidney alterations in rats naturally infected with *Leptospira*. In: Biomédica, September, 2013, vol. 33, supl. 1, p 82-88.

⁹⁷ DELGADO, Op. Cit.

⁹⁸ ATHANAZIO, Daniel, et al. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. In: Acta tropical, February, 2008, vol. 105, no. 2, p 176-180.

⁹⁹ RAMOS-VARA, J. A. Technical aspect of immunohistochemistry. In: Veterinary pathology, July, 2005, vol. 42, no. 4, p 405-426.

“Esta técnica combina elementos inmunológicos, histológicos y bioquímicos que permiten detectar un antígeno y, ubicarlo histológicamente en una muestra determinada”¹⁰⁰. “La expresión antigénica no solo se detecta en tejido patológico, pero las asociaciones entre la presencia del antígeno y un tipo de células específicas o lesiones histológicas pueden ser evaluadas con IHC”¹⁰¹.

“Esta prueba ha demostrado ser un método de diagnóstico altamente específico y sensible, que es una herramienta especialmente ventajosa para el diagnóstico de enfermedades infecciosas”¹⁰².

¹⁰⁰ DELGADO, Op. Cit.

¹⁰¹ WEBSTER, Joshua, et al. Effects of prolonged formalin fixation on diagnostic immunohistochemistry in domestic animals. In: Journal of histochemistry & cytochemistry, August, 2009, vol. 57, no. 8, p 753-761.

¹⁰² RAMOS-VARA, J. A. Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. In: Journal of veterinary diagnostic investigation, July, 2008, vol. 20, no. 4, p 393-413.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 ÁREA DE ESTUDIO

La presente investigación se realizó en muestras de bloques de parafina tomados en establecimientos destinados al beneficio (sacrificio y preparación) de los cuyes (*Cavia Porcellus*) designados para el consumo humano en el municipio de Pasto, que fueron positivos a la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa para *Leptospira spp.*

5.2 TAMAÑO DE MUESTRA

Para la realización de este estudio se tomaron los bloques de parafina correspondientes a los individuos positivos a la reacción en cadena de la polimerasa para *Leptospira spp.*

5.3 MATERIALES Y EQUIPOS

- Recipientes de almacenamiento y transporte de tejidos para histopatología
- Cajas para transporte de láminas.
- Microscopio óptico
- Cámara de microfotografía

5.4 PROCESAMIENTO

Los bloques de parafina se enviaron a la Corporación Patología Veterinaria **Corpavet s.a (Bogotá DC)**; se les realizó el procedimiento técnico para la coloración de hematoxilina-eosina y coloración diferencial Warthin Starry para determinar la presencia del agente.

5.5 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO

Se realizó la evaluación microscópica en la sección de cátedra y servicio de patología de la Universidad de Nariño con el fin de hacer la descripción de los cambios patológicos generados por *Leptospira spp.* en *Cavia porcellus* encontrados en cada tejido (riñón, pulmón, hígado). El análisis descriptivo seguirá los siguientes criterios: identificación histológica del tejido; clasificación de las lesiones observadas (disturbios microcirculatorios, alteraciones degenerativas, inmunopatología, trastornos inflamatorios y alteraciones proliferativas); patrón de distribución y grado de severidad de cada lesión.

5.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

Al estudio se le aplicara una estadística descriptiva, evaluando los cambios patológicos encontrados en cada muestra.

5.7 REGISTRO FOTOGRÁFICO

A los cambios histopatológicos producidos por *Leptospira spp.* en cada órgano en estudio (pulmón, hígado, corazón y riñón) de la especie *Cavia porcellus* se les realizara un registro fotográfico, Utilizando un microscopio *Nikon Eclipse E600* adaptado a una cámara digital *Nikon (digital camera Dxm 1200)* empleando el software *Nikon Act 1* en aumentos: 40x, 100x y 400x.

5.8 IMPLICACIONES ÉTICAS

En el presente estudio se utilizaron, láminas histopatológicas, bloques de parafina y tejidos fijados en formol bufferado. Por lo tanto no se emplearon animales vivos, por tal razón no es necesaria la aprobación del comité de bioética.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se realizó un análisis detallado de los hallazgos histopatológicos que se podrían encontrar en los tejidos de los 4 cuyes positivos a PCR para *Leptospira spp.* Para lo cual se evaluó riñón, pulmón e hígado, que a continuación se presenta la descripción de las lesiones para cada caso.

6.1 DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 1

6.1.1 Riñón. Microscópicamente se evidenciaron severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos en corteza y medula, con patrón de distribución multifocal. Corteza y médula: corpúsculo renal con múltiples áreas con moderada disminución del espacio de Bowman, presencia de material eosinofílico homogéneo compatible con proteína, moderado aumento de celularidad del epitelio glomerular. No obstante, se observan algunos focos en los cuales los glomérulos presentan aspecto retraído, moderado aumento en el espacio de Bowman, y áreas de obsolescencia glomerular. Túbulos renales con moderado cambios degenerativos en el epitelio tubular, células con cambio hidrópico y focos con cambios asociados a muerte celular (núcleos en picnosis, cariorexix, y cariolisis), presencia de material eosinofílico homogéneo intratubular compatible con proteína y focos con escasos cilindros hialinos. Presencia de focos de leve infiltrado inflamatorios mononuclear compuesto principalmente por linfocitos y células plasmáticas localizado en espacio intersticial y periglomerular de corteza y médula, focos con moderado aplanamiento del epitelio tubular y leve Ectasia de los mismos y escasos focos de coloración basofílica asociados a depósitos de mineral. Pelvis renal: moderados cambios degenerativos en epitelio transicional, presencia de abundante cantidad detritos celulares (células inflamatorias: linfocitos, macrófagos, eritrocitos y células epiteliales).

• **Diagnostico morfológico:** moderada glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria.

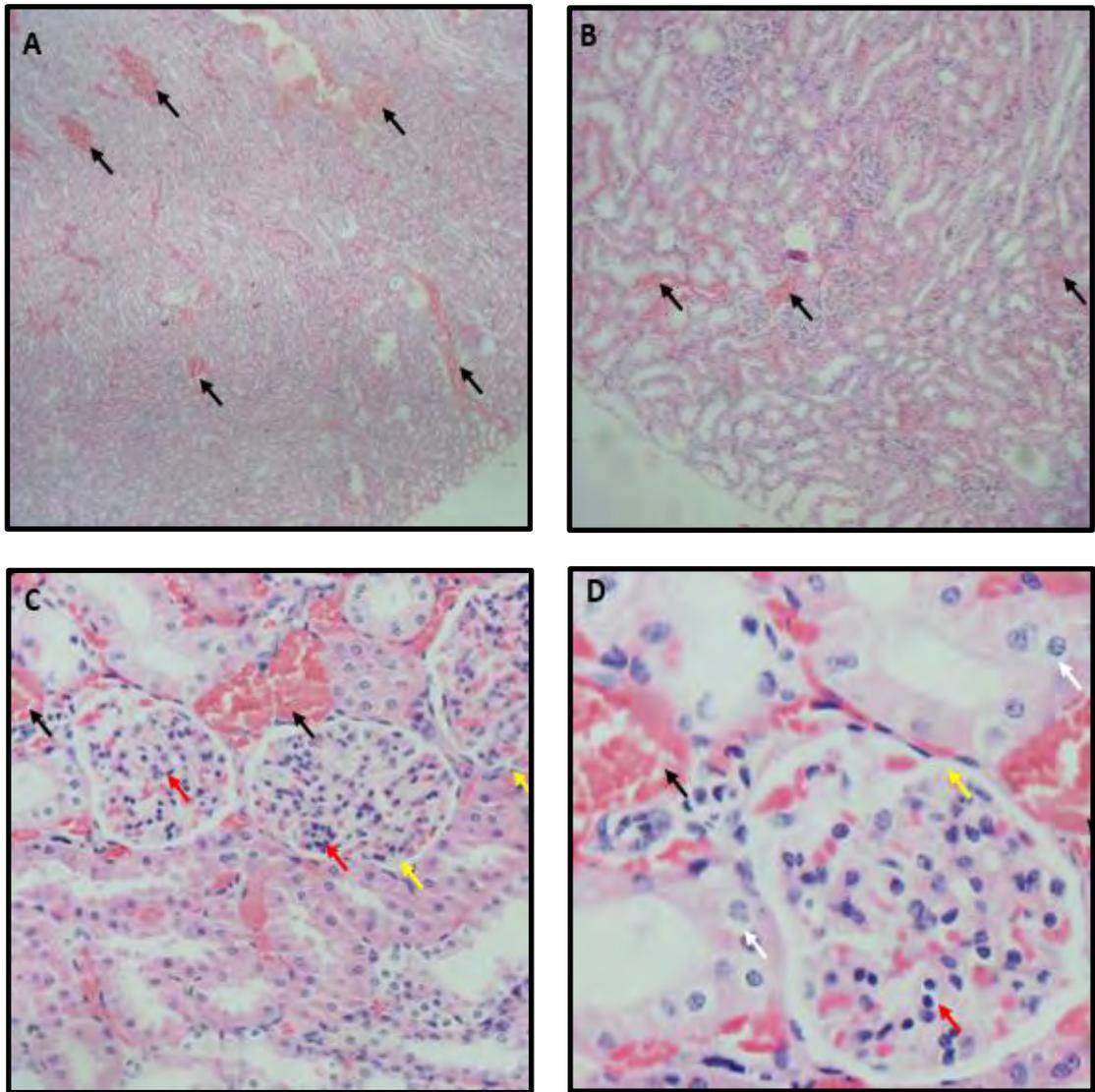
6.1.2 Pulmón. Con cambios microcirculatorios, focos de congestión, hemorragia, enlodamiento, discrasia sanguínea, edema y áreas de secuestro leucocitario mixto con patrón de distribución multifocal. Bronquio: epitelio bronquial con leves cambios degenerativos (cambio hidrópico), presencia de detritos celulares y moco en el espacio bronquial. Bronquiolo: similares cambios a los descritos en bronquio pero de menor severidad. Parénquima pulmonar: presencia de membranas hialinas, con múltiples focos de infiltrado inflamatorio mononuclear compuesto por linfocitos, macrófagos e histiocitos con un patrón de distribución multifocal. Se evidencian estructuras de color pardo de aspecto puntiforme libres y fagocitadas. Adicionalmente se evidencian áreas de leve infiltrado inflamatorio intersticial compuesto por linfocitos y macrófagos. Finalmente se evidenció un foco de metaplasia ósea con formación de osteoide.

- **Diagnostico morfológico:** severa neumonía granulomatosa multifocal.

6.1.3 Hígado. Moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión, enlodamiento, discrasia sanguínea, secuestro leucocitario mixto y microtrombosis centrolobulillar. Con múltiples focos con pérdida de la arquitectura de los cordones de los hepatocitos, presencia de hepatocitos de aspecto tumefacto con cambio hidrópico y cambios compatibles con degeneración grasa. Núcleos con cambios asociados a muerte celular (picnosis, cariorrexis y cariólisis), escasos focos de necrosis de coagulación distribuidos al azar, presencia de hepatocitos binucleados, moderada hiperplasia de canalículos biliares; algunos de estos de aspecto ectásico. Moderada reactividad de las células de Kuffer, escasos focos de infiltrado inflamatorio linfocítica con distribución multifocal.

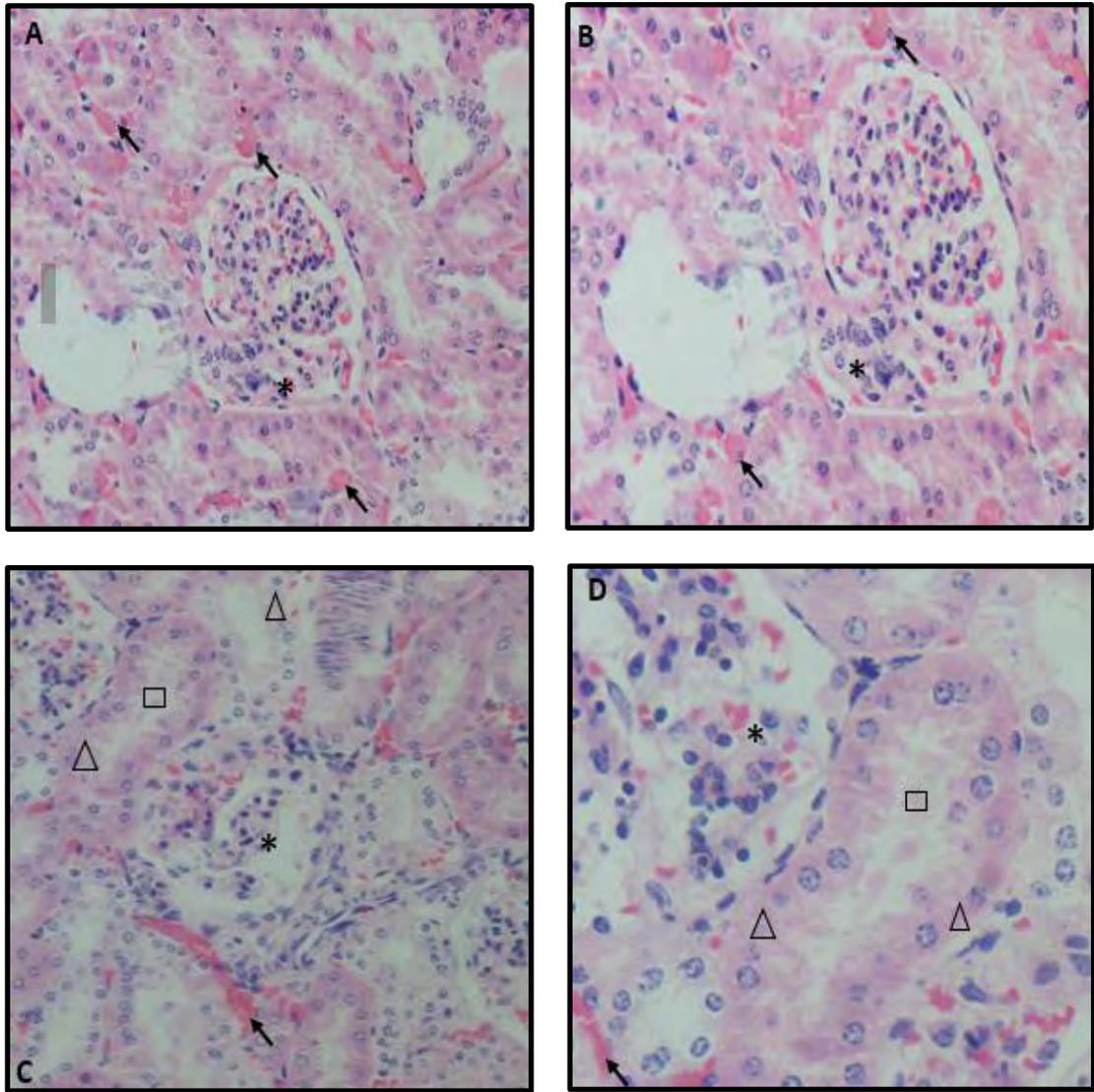
- **Diagnostico morfológico:** severa hepatitis intersticial linfocítica multifocal.

Figura 1. Riñón del cuy con cambios histopatológicos (Caso 1).



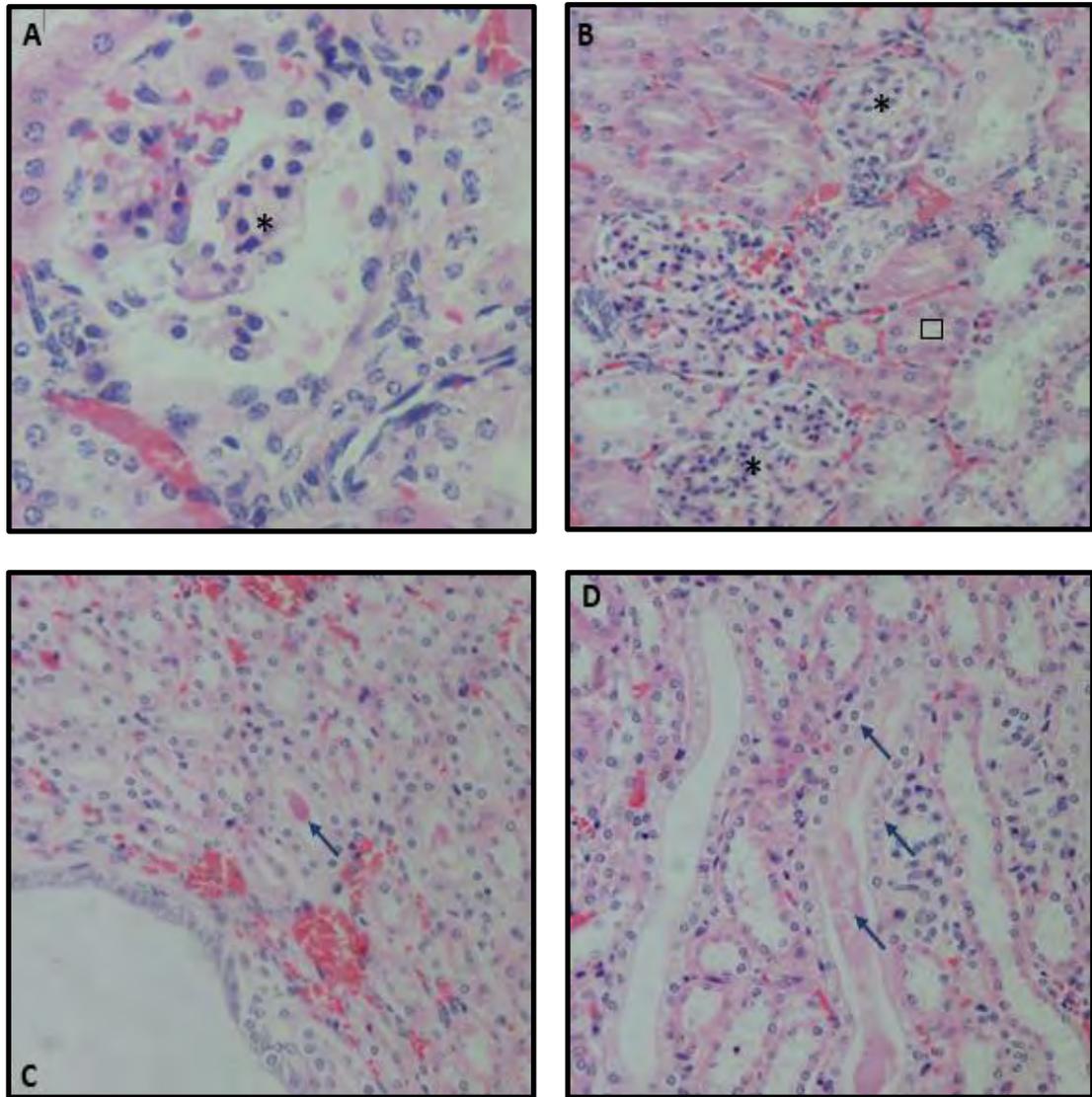
A y B: Riñón *Cavia Porcellus* H/E 4X y 10X, nótese severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al azar (Flecha negras. C y D: Riñón *Cavia porcellus* 10X y 40X H/E. Nótese los múltiples focos de congestión hemorragia distribuidos al azar (flechas negras), áreas con moderada disminución del espacio de Bowman (flechas amarillas), glomérulo renal de aspecto tumefacto endotelio con cambios degenerativos (flechas rojas), epitelio tubular con cambios degenerativos (flechas blancas).

Figura 2. Lesiones observadas en glomérulo del cuy (Caso 1).



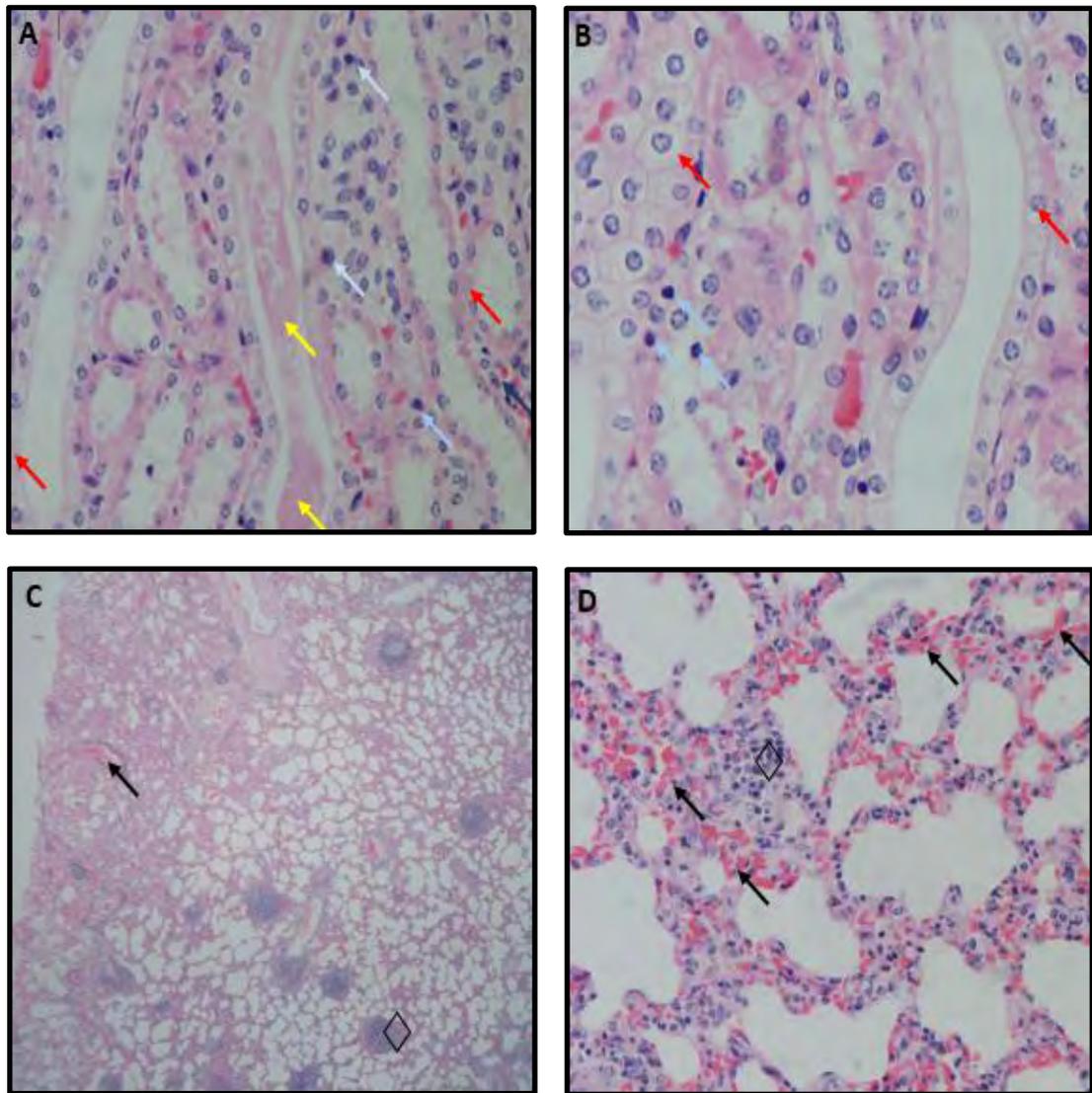
A y B: Riñón *Cavia porcellus* H/E 4X y 10X, nótese severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al azar (Flechas negras). C y D: Riñón *Cavia porcellus* 10X y 40X H/E. Nótese focos con severa retracción glomerular (asterisco), endotelio con cambios degenerativos (triángulo), epitelio tubular con cambios degenerativo, presencia de material proteináceo en espacio de Bowman y túbulo contorneado (cuadro).

Figura 3. Riñón de cuy con infiltrado mononuclear (Caso 1).



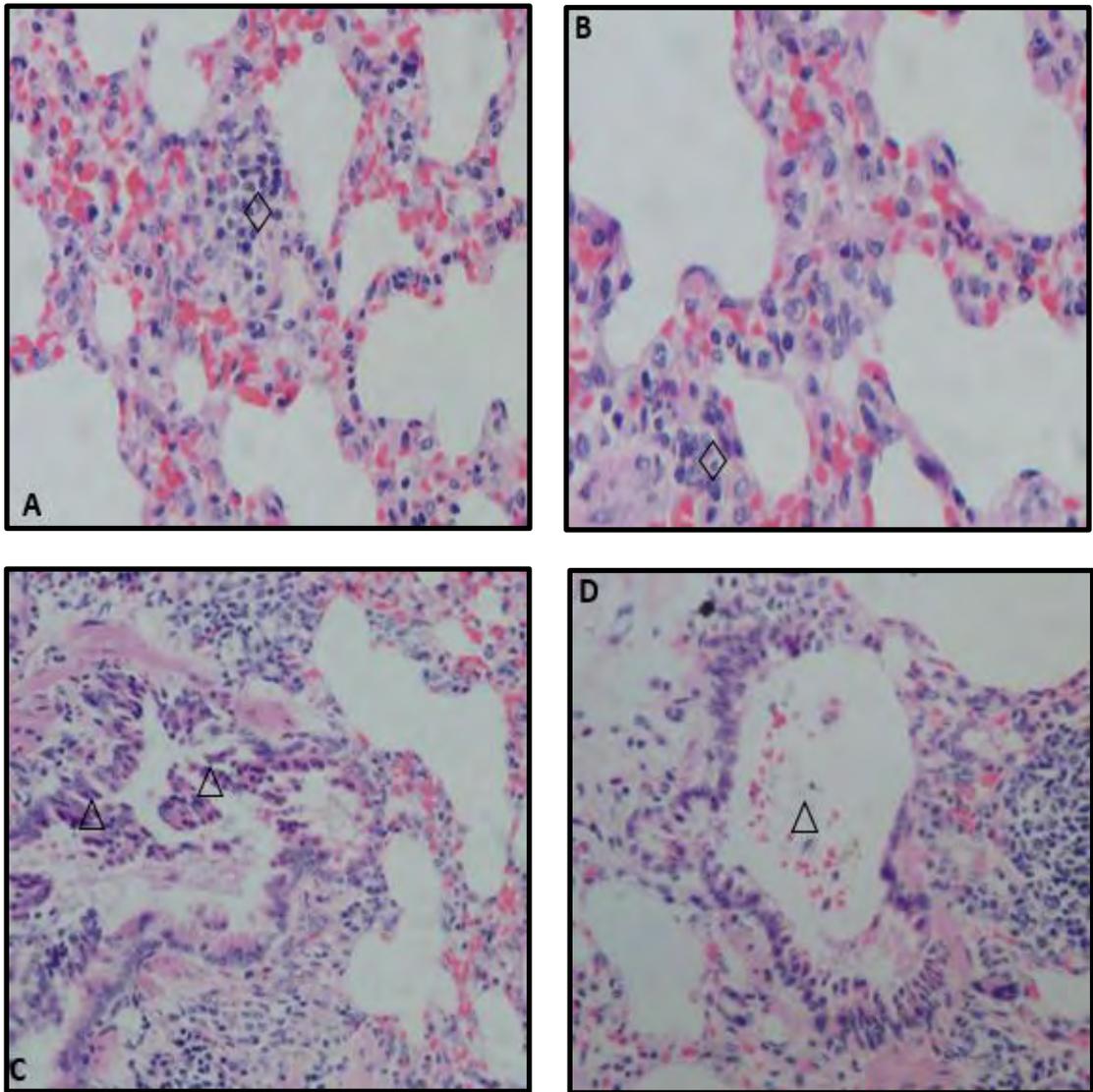
A y B: Riñón *Cavia porcellus* H/E 40X y 10X. Nótese severa retracción glomerular (asterisco), presencia de proteinuria en espacio de Bowman y túbulos contorneados (cuadro). C y D: Médula renal *Cavia porcellus* 10X H/E. Epitelio tubular con cambios degenerativos, presencia de cilindros hialinos túbulos contorneados (flechas azules).

Figura 4. Túbulos renales y parénquima pulmonar del cuy (Caso 1).



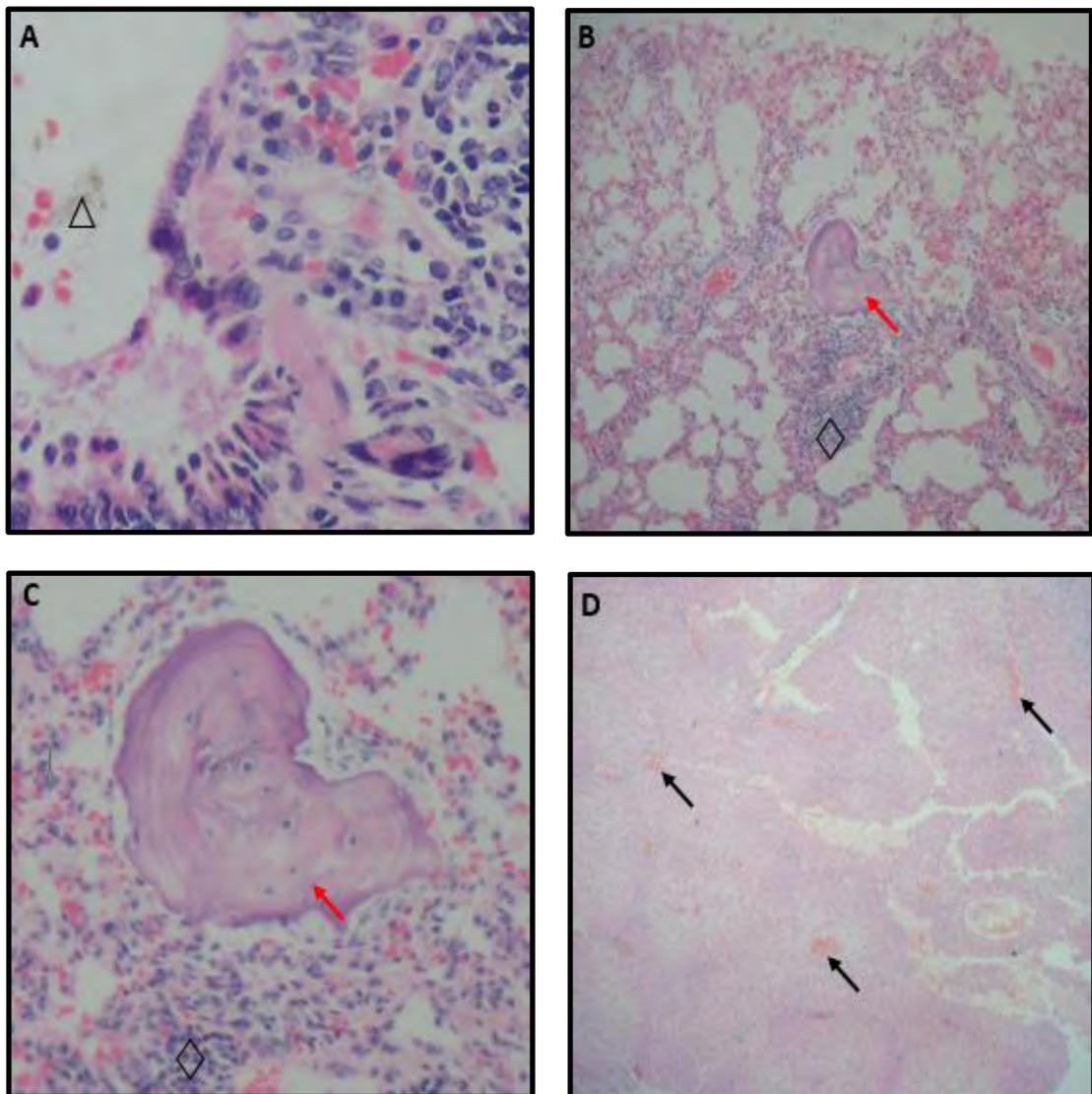
A y B: Médula renal *Cavia porcellus* H/E 40X. Presencia de proteinuria (flechas amarillas), infiltrado inflamatorio linfocítico (flechas azules) y cambios degenerativos en el epitelio tubular (flechas rojas). C: Pulmón *Cavia porcellus* 4X H/E. Moderada neumonía intersticial. D: Pulmón *Cavia porcellus* 10X, H/E. Nótese los moderados cambios microcirculatorios, focos de congestión y hemorragia (flechas negras) moderada neumonía mononuclear intersticial (rombo).

Figura 5. Lesiones histopatológicas en alveolos y bronquios (Caso 1).



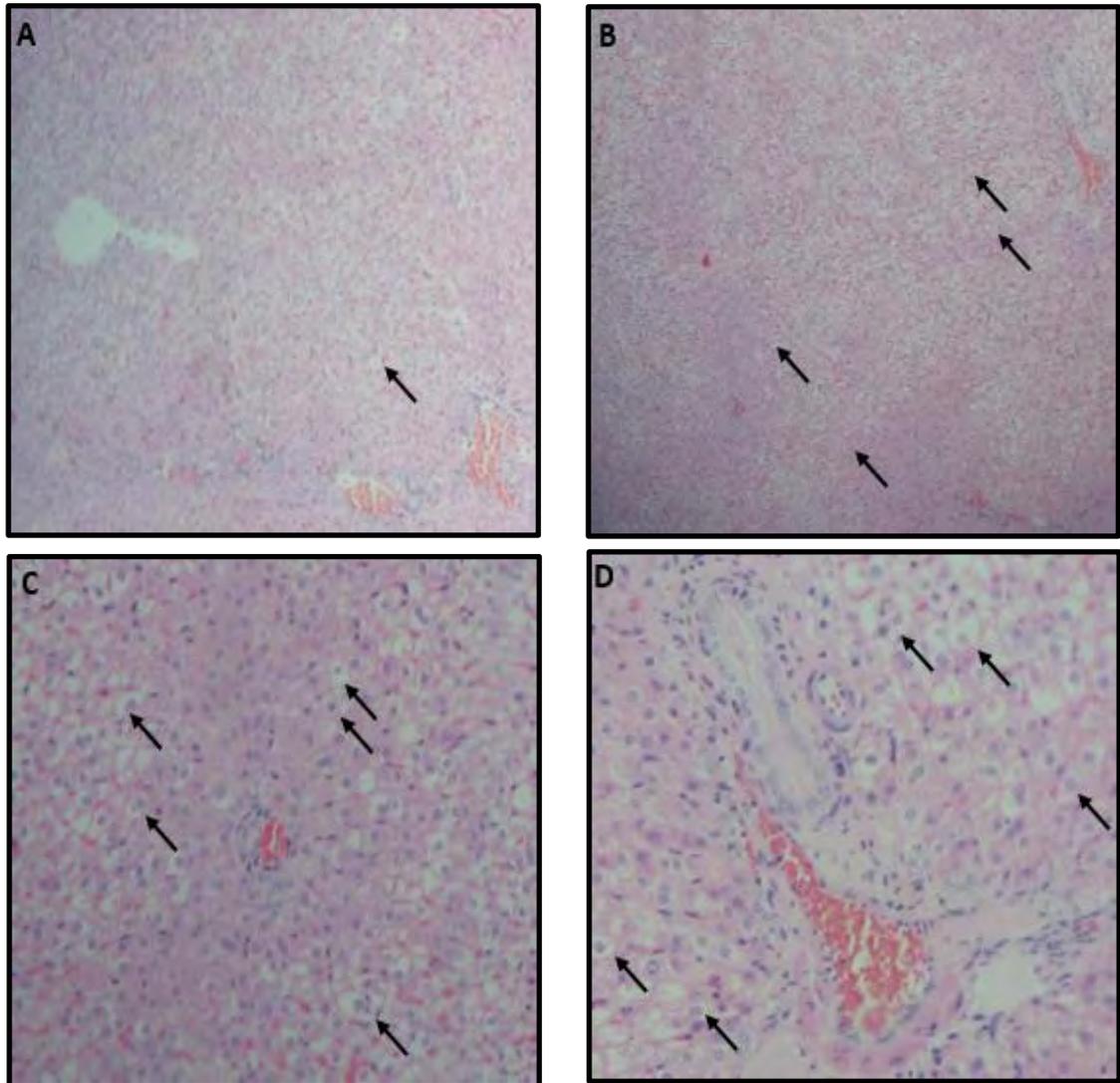
A y B: Pulmón *Cavia porcellus* 4X H/E. Moderada neumonía intersticial linfocítica (rombo). C y D: Pulmón y bronquiolo *Cavia porcellus* 10X, H/E. Nótese presencia de moderada cantidad de detritos celulares y moco en el lumen (triángulo).

Figura 6. Hallazgos microscópicos en pulmón e hígado del cuy (Caso 1).



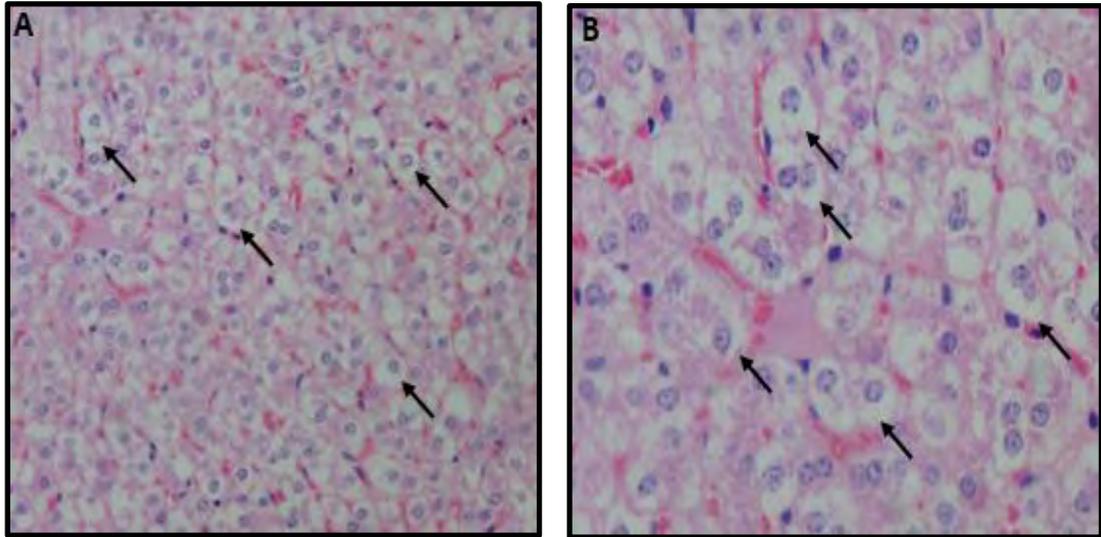
A: Bronquiolo *Cavia porcellus* H/E 40X. Nótese presencia de moderada cantidad de detritos celulares y moco en el lumen (triángulo) B (10X) y C (40X): Pulmón *Cavia porcellus* H/E. Neumonía intersticial mononuclear (rombo), nótese presencia de osteoide (flecha roja). D: Hígado *Cavia porcellus* H/E 4X. Cambios microcirculatorios moderados (flechas negras).

Figura 7. Lesiones microscópicas en hígado del cuy (Caso 1).



A (4X), B (4X), C (10X) y D (40X): Hígado *Cavia porcellus* H/E. Se evidencia pérdida de la arquitectura de los cordones de hepatocitos, hepatocitos de aspecto tumefacto y con cambio hidrópico (flechas negras).

Figura 8. Parénquima hepático del cuy con lesiones microscópicas (Caso 1).



A (10X) y B (40X): Hígado *Cavia porcellus* H/E. Perdida de la arquitectura de los cordones de hepatocitos, hepatocitos de aspecto tumefacto y con severo cambio hidrópico (flechas).

6.2 DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 2

6.2.1 Riñón. Microscópicamente se evidenció severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia en corteza y medula, con patrón de distribución multifocal. Corpúsculo renal con múltiples áreas con moderada disminución del espacio de Bowman, presencia de material eosinofílico homogéneo en el espacio de Bowman (compatible con proteína). Se observa un aumento de celularidad del epitelio glomerular; sin embargo se observan algunos focos en los cuales se aprecia glomerulos de aspecto retraído, con moderado aumento en el espacio de Bowman, y algunas áreas en las cuales se evidencia obsolescencia glomerular. Moderado cambios degenerativos en el epitelio tubular, células con cambio hidrópico y focos con cambios asociados a muerte celular (núcleos en picnosis, cariorrexis, y cariólisis). Presencia de material eosinofílico homogéneo intratubular (proteinuria), y cilindros hialinos, presencia de focos de leve infiltrado inflamatorios mononuclear compuesto principalmente por linfocitos y células plasmáticas localizado en espacio intersticial y periglomerular. Medula con moderados cambios degenerativos en el epitelio tubular, células con cambio hidrópico y focos con cambios asociados a muerte celular (núcleos en picnosis, cariorrexis, y cariólisis). Pelvis renal: moderados cambios degenerativos en epitelio transicional, presencia de moderada cantidad detritos celulares (células inflamatorias: linfocitos, macrófagos, eritrocitos y células epiteliales).

- **Diagnostico morfológico:** severa glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria.

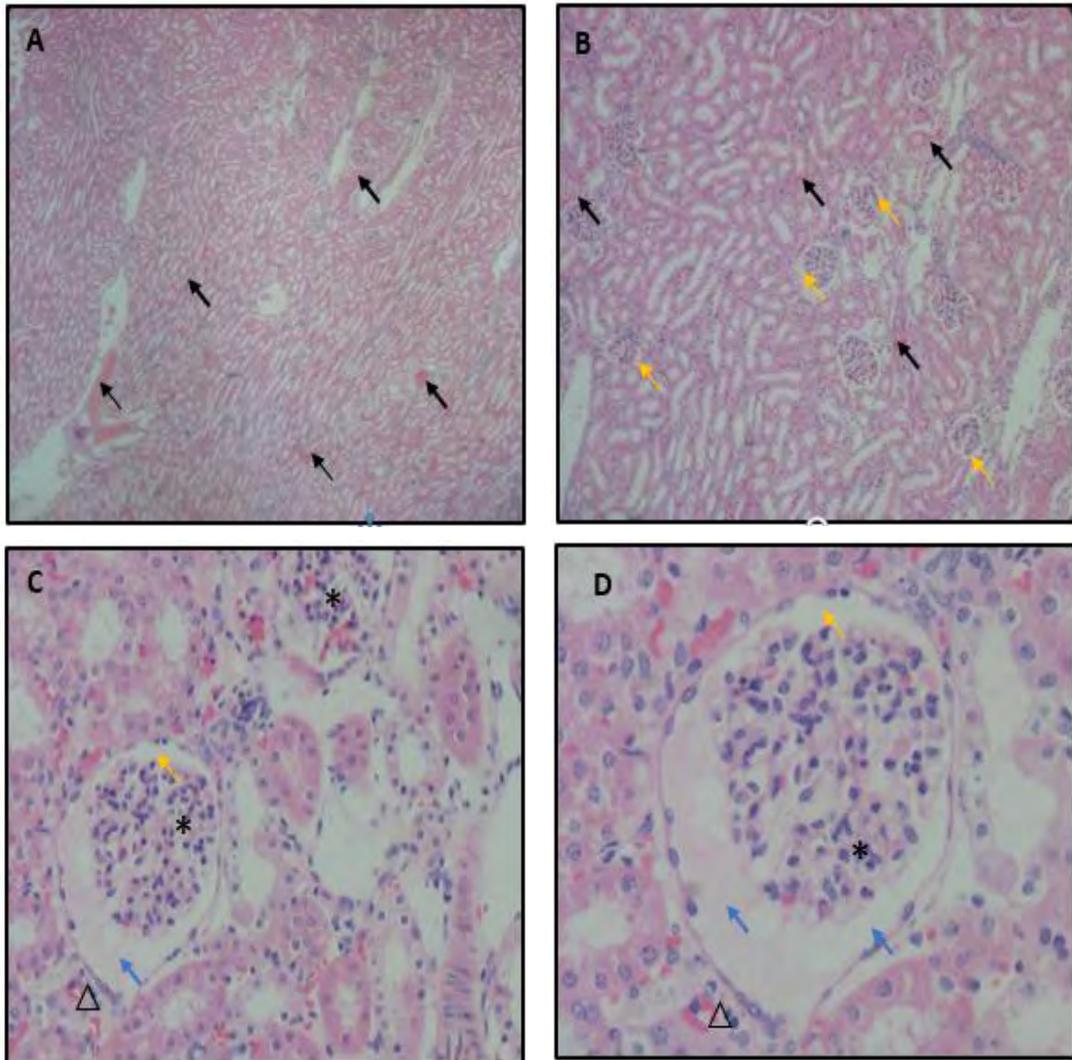
6.2.2 Pulmón. Con severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión, hemorragia, enlodamiento, discrasia sanguínea, edema con patrón de distribución difuso; se observa secuestro leucocitario mononuclear. Bronquio y bronquiolos: Lumen con gran cantidad de detritos celulares, moco y estructuras compatibles con sincitios; (mucosa) se evidencia focos de hiperplasia del epitelio de vías respiratorias, moderada hiperplasia de las células caliciformes, focos con cambios asociados a muerte celular (picnosis, cariólisis, cariorrexis). Parénquima funcional: Se evidencia moderado infiltrado inflamatorio mononucleares principalmente linfocitos, escasos macrófagos, evidencia presencia de células de falla cardíaca, áreas de eritrofagocitosis y abundantes pigmentos derivados de la hemoglobina libre y dentro del citoplasma de algunos macrófagos. Leve hiperplasia del BALT (tejido linfoide asociado a bronquio y bronquiolos). Adicionalmente se evidencia presencia de membranas hialinas.

- **Diagnóstico morfológico:** moderada neumonía intersticial linfocítica. (Cambios histopatológicos asociados a un proceso de hemólisis)

6.2.3 Hígado. Microscópicamente se evidencian moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión, enlodamiento, discrasia sanguínea, secuestro leucocitario mixtos y microtrombosis centrolobulillar. Múltiples focos con pérdida de la arquitectura de los cordones de los hepatocitos, presencia de hepatocitos de aspecto tumefacto con cambio hidrópico, y focos con cambios asociados a muerte celular (picnosis, cariorrexis, cariólisis), (hepatocitos binucleados), presencia de moderada hiperplasia de canalículos biliares, moderada reactividad de la Células de kuffer, múltiples focos de infiltrado inflamatorio linfocítica con distribución periportal y leve proliferación de tejido conectivo periportal.

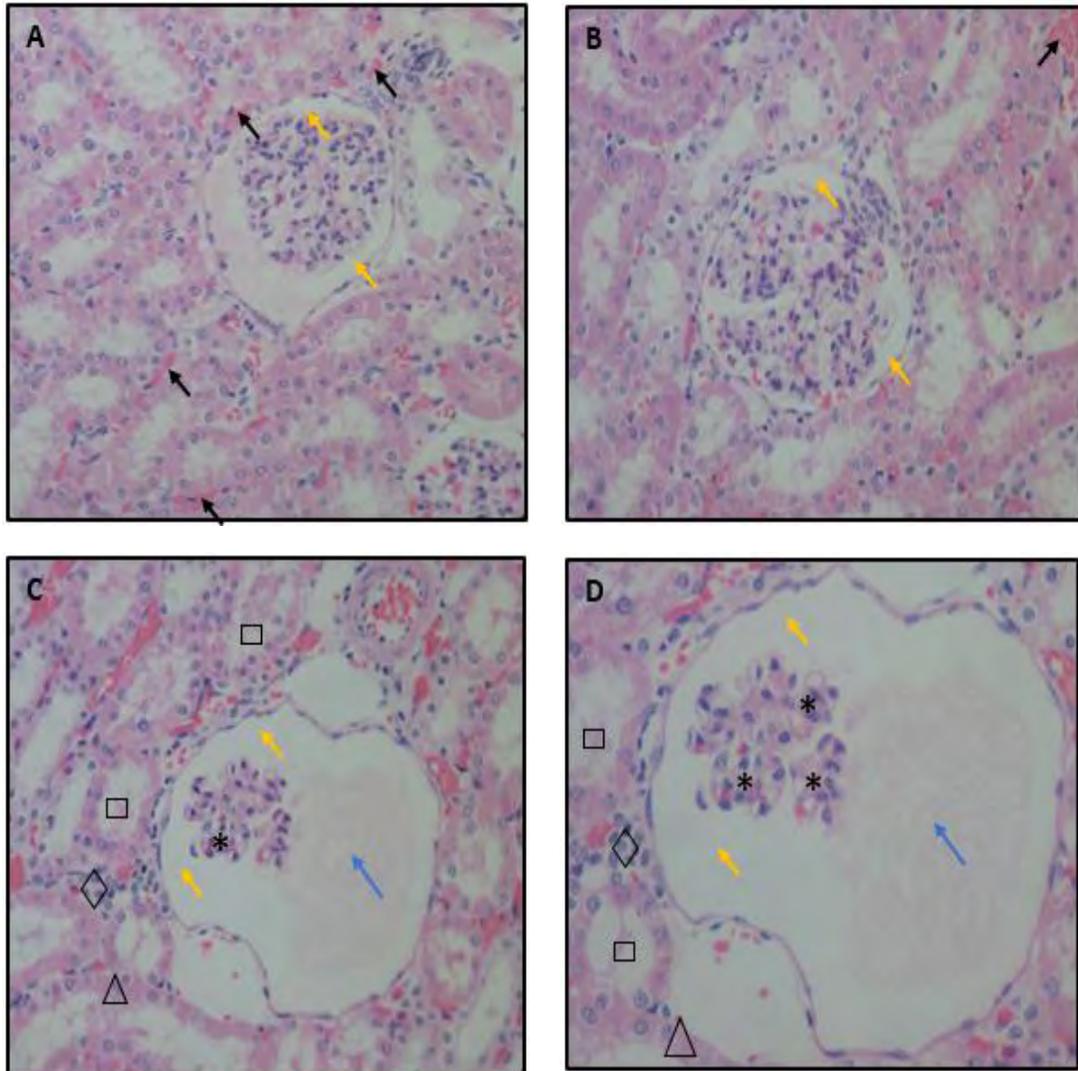
- **Diagnostico morfológico:** severa hepatitis linfocítica periportal.

Figura 9. Lesiones histopatológicas en el riñón del cuy (Caso 2).



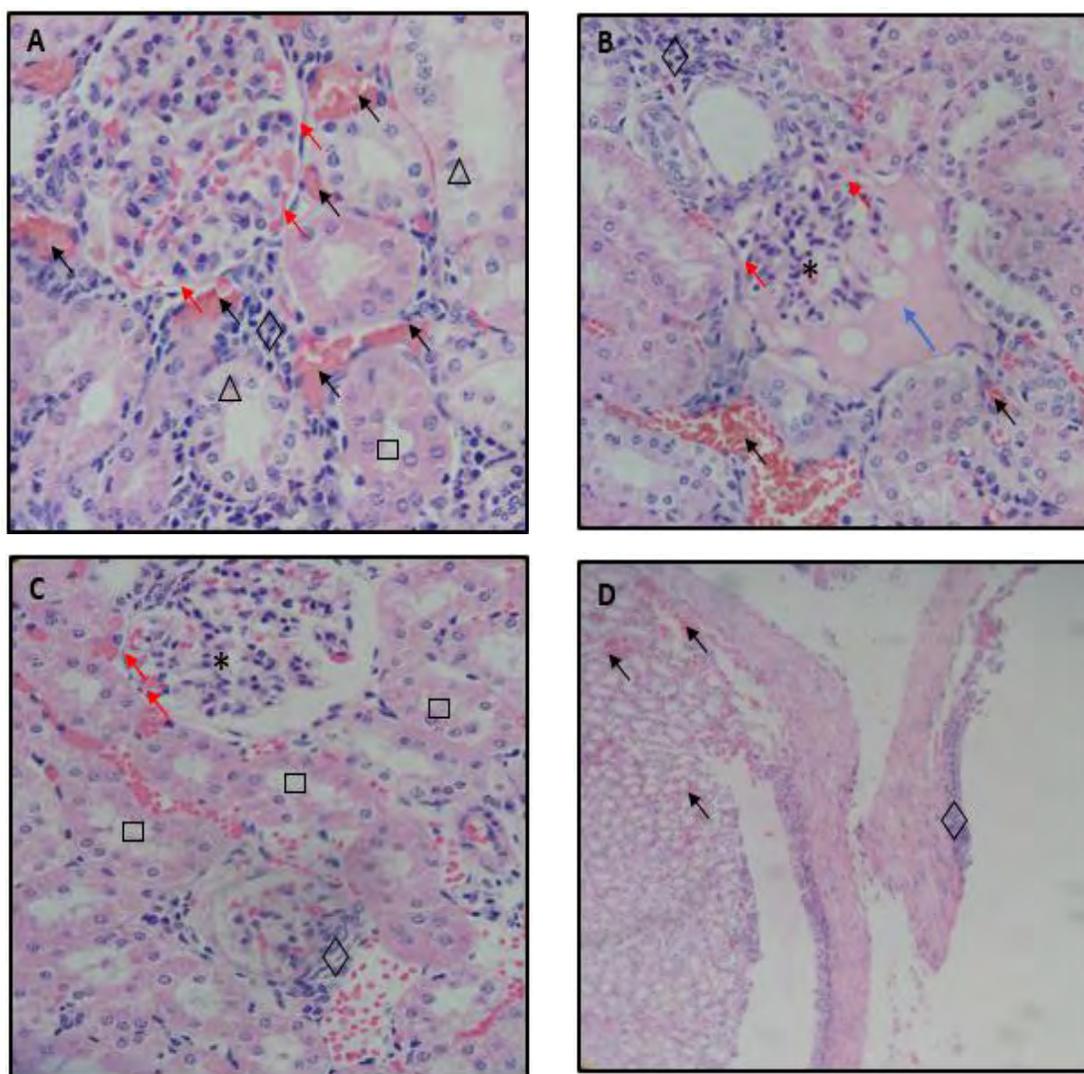
A: Riñón *Cavia Porcellus* H/E 4X, nótese moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al azar (Flechas negras). B: Riñón *Cavia porcellus* 10X H/E; nótese focos con moderado aumento del espacio de Bowman (flechas amarillas). C y D: Riñón *Cavia porcellus* 40X H/E. Nótese severo aumento del espacio de Bowman (Flechas amarillas), áreas con severa retracción glomerular (asterisco), presencia de material proteináceo en espacio de Bowman (flechas azules). Se evidencia moderado cambio hidrópico y cambios asociados a muerte celular, núcleos de aspecto picnótico, en cariólisis y cariórrexis (triángulo).

Figura 10. Diferentes cambios patológicos en glomérulos de tejido renal del cuy (Caso 2).



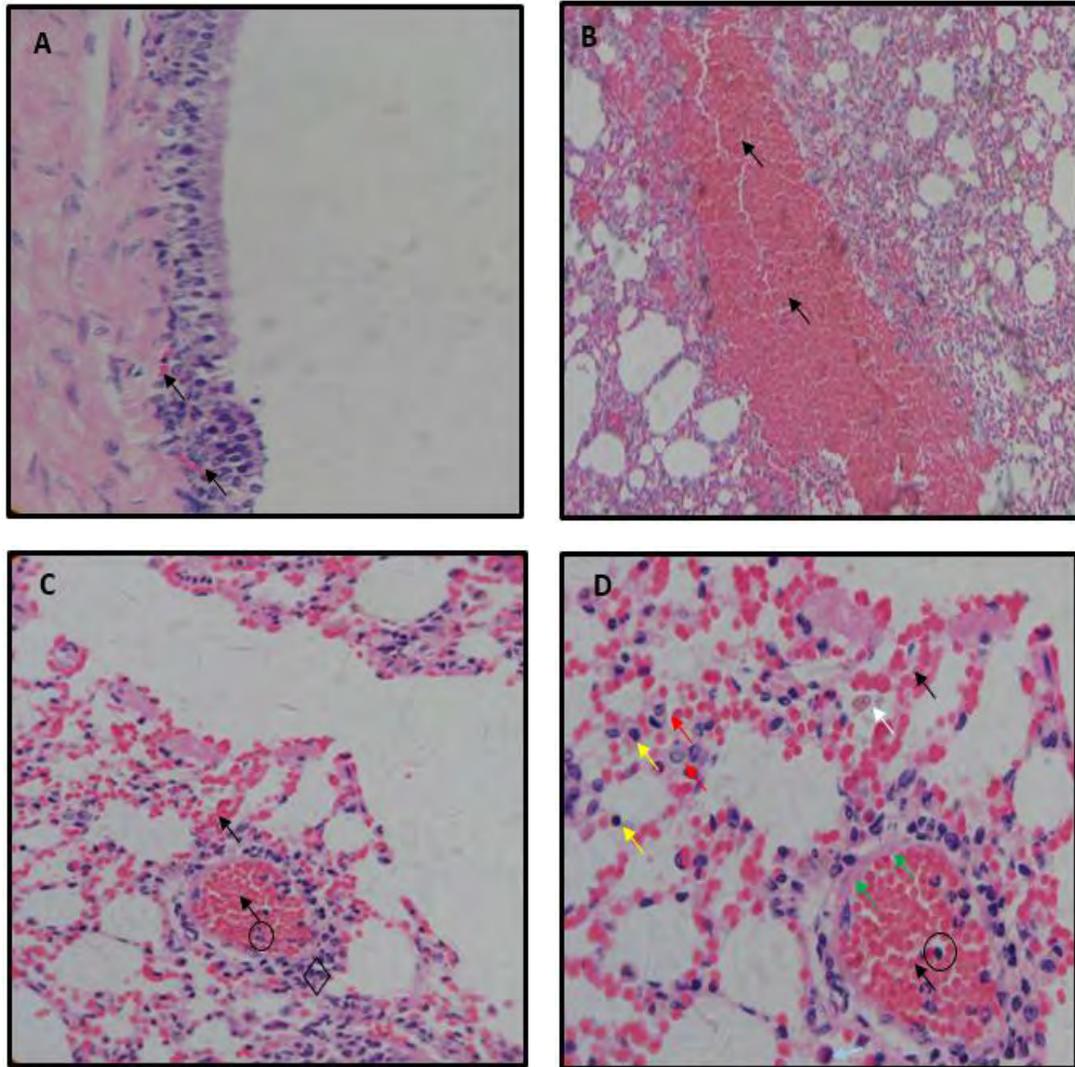
A y B: Riñón *Cavia porcellus* H/E 10X, nótese moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al azar (Flechas negras), áreas con aumento en el espacio de Bowman (flechas amarillas) y leve infiltrado inflamatorio linfocítico en espacio intersticial. C y D: Riñón *Cavia porcellus* H/E. 40X; focos con aumento severo del espacio de Bowman. (Flechas blancas), áreas de severa retracción glomerular (asterisco), presencia de material proteináceo en espacio de Bowman (flechas azules). Se evidencian moderado cambio hidrópico y cambios asociados a muerte celular, Núcleos de aspecto picnotico, en cariólisis y cariorrexis (triángulo), proteinuria (cuadro) y presencia de infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario en el espacio intersticial (rombo).

Figura 11. Hallazgos histopatológicos en riñón del cuy (Caso 2).



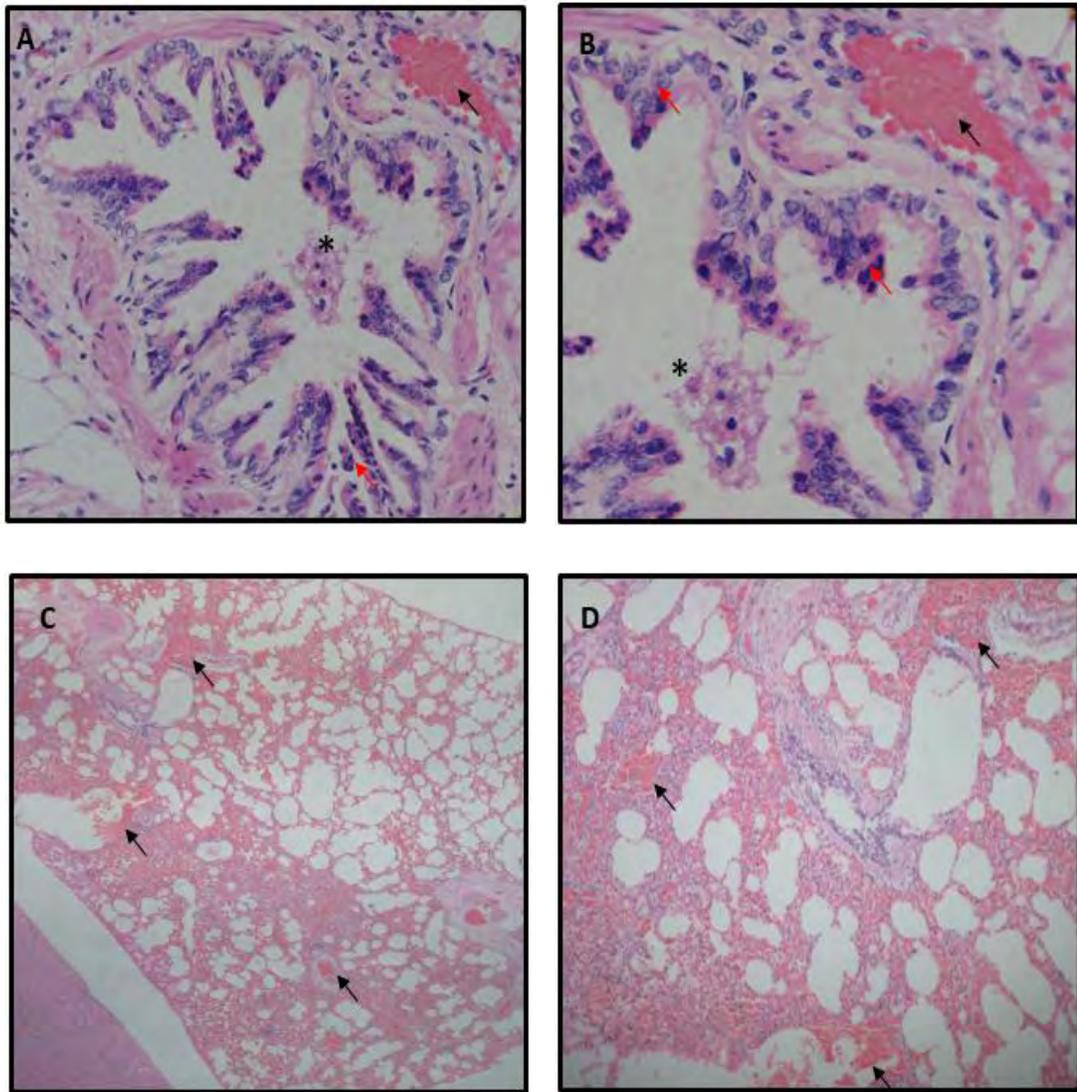
A y B: corteza renal, *Cavia Porcellus* H/E 40X, nótese severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al azar (Flechas negras), áreas con severa disminución en el espacio de Bowman (flechas rojas), severo infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario en espacio intersticial (rombo). C y D: Riñón *Cavia porcellus* 40X H/E (corteza renal C, pelvis renal D). Focos con severa disminución del espacio de Bowman. (Flechas rojas), áreas de severa retracción glomerular (asterisco), proteinuria (cuadro). Se evidencian moderado cambio hidrópico (triángulo) y presencia de infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario en el espacio intersticial (rombo).

Figura 12. Lesiones observadas en pulmón del cuy (Caso 2).



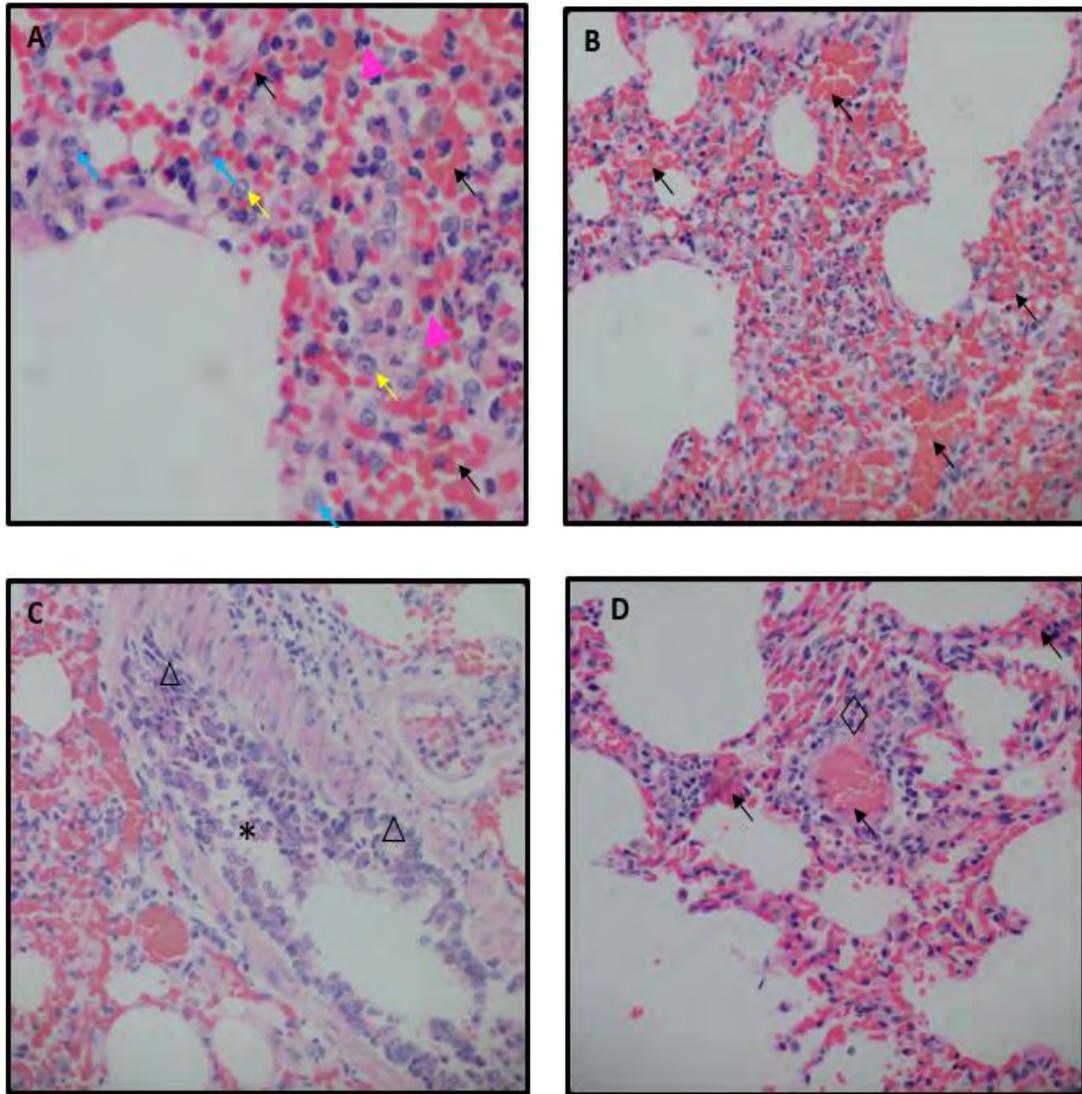
A: Pelvis renal *cavia Porcellus* H/E 40X se evidencian leves cambios microcirculatorios. **B (4X), C y D (10X):** Pulmón de *Cavia Porcellus*. Nótese los severos cambios microcirculatorios, múltiples y extensas áreas de congestión, hemorragia (flechas negras), presencia de membranas hialinas (flechas verdes), secuestro leucocitario (círculos) y severo infiltrado predominantemente de tipo mononuclear (linfocitos (flechas amarillas), macrófagos (flechas rojas) y escasas células plasmáticas (flechas azules)) en espacio intersticial y células de falla cardiaca (flecha blanca).

Figura 13. Cambios histopatológicos encontrados a nivel pulmonar del cuy (Caso 2).



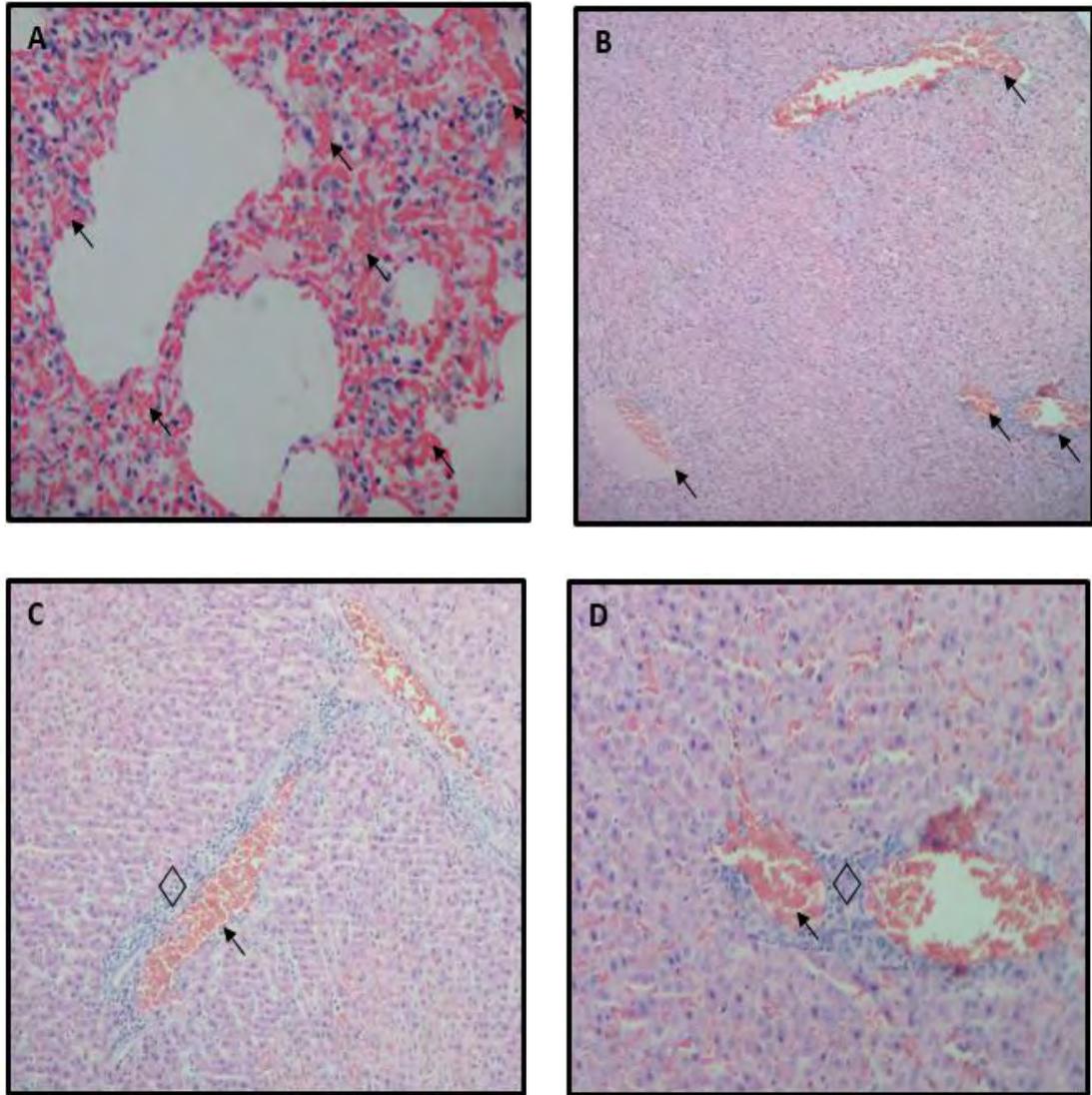
A y B: Bronquiolo *Cavia porcellus* 40X H/E. Nótese los moderados cambios microcirculatorios, (flechas negras), lumen con moderada cantidad de moco y detritos celulares (asterisco), epitelio respiratorio con moderados cambios asociados a muerte celular del epitelio respiratorio (núcleos des aspecto picnótico, en cariorrexis,) (flechas rojas). **C y D:** Pulmón *Cavia porcellus* 10X nótese los severos cambios microcirculatorios múltiples y extensas áreas de hemorragia.

Figura 14. Cambios histopatológicos encontrados en el parénquima pulmonar del cuy (Caso 2).



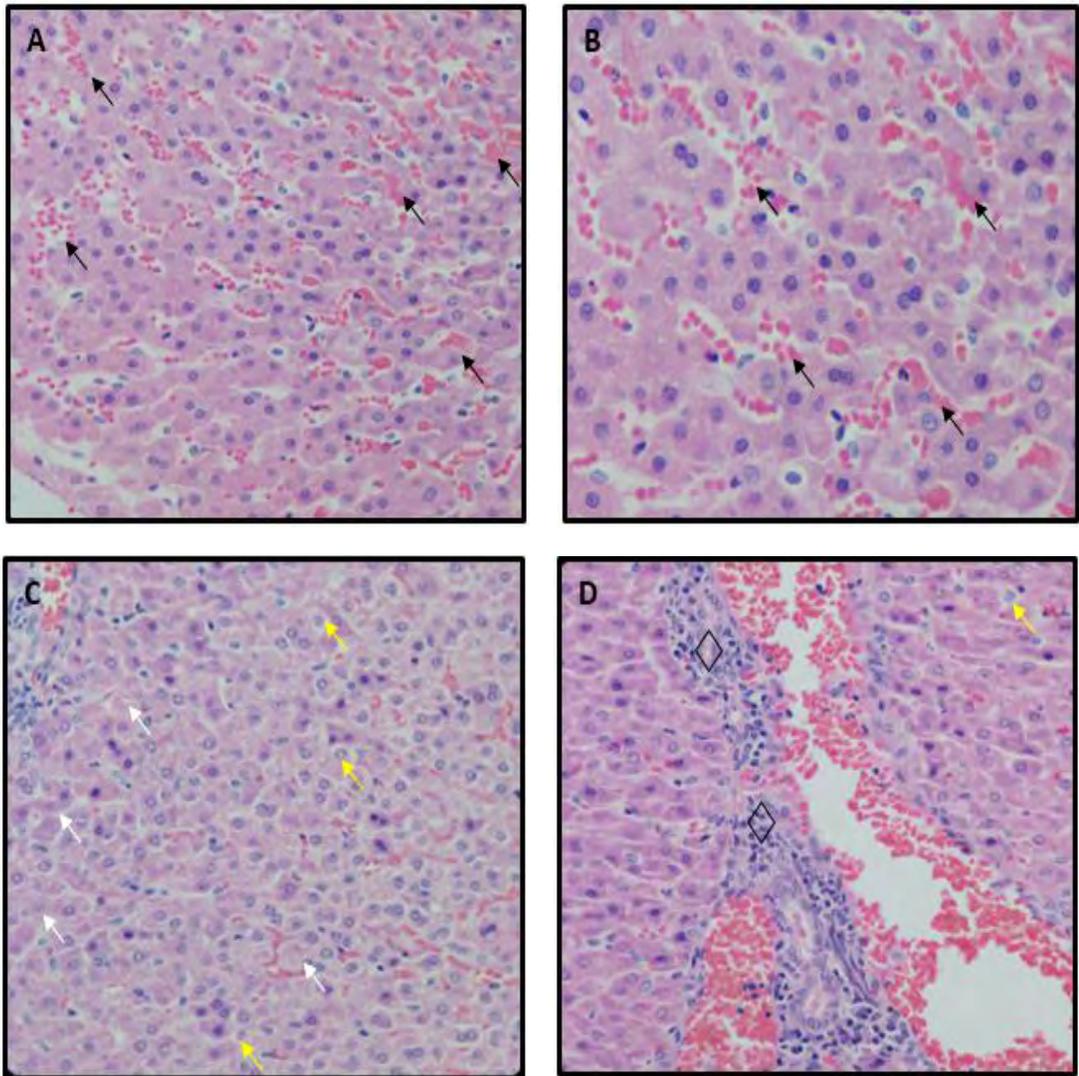
A y B: Pulmón *Cavia Porcellus* 40X H/E. Nótese los severos cambios microcirculatorios múltiples y extensas áreas hemorrágicas, (flechas negras), presencia de infiltrado inflamatorio intersticial predominantemente mononuclear conformado por linfocitos (flechas violetas), células plasmáticas, macrófagos (flechas amarillas) y escasos PMNs heterófilos de aspecto hipersegmentado (flechas azules). **C:** Bronquiolo de *Cavia Porcellus* 40X H/E. Nótese lumen con moderada cantidad de moco y detritos celulares (asterisco), epitelio respiratorio con moderados cambios asociados a muerte celular del epitelio respiratorio (núcleos de aspecto picnótico, en cariorrexis,) (triángulo). **D:** Pulmón *Cavia Porcellus* 10X H/E. Nótese los severos cambios microcirculatorios múltiples y extensas áreas de hemorragia asociados a la presencia de infiltrado inflamatorio intersticial (rombo).

Figura 15. Lesiones microscópicas en pulmón e hígado del cuy (Caso 2).



A: Parénquima pulmonar *Cavia porcellus*, H/E 10X, nótese los severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia con distribución difusa (flechas negras). **B (4X), C (10X), y D (40X):** Hígado *Cavia porcellus* H/E. Nótese los moderados cambios microcirculatorios focos de congestión centrolobulillar (flechas negras), hemorragia y discrasia sanguínea (flechas blancas). Se evidencia focos de infiltrado mononuclear periportal (rombo).

Figura 16. Lesiones histopatológicas en tejido hepático del cuy (Caso 2).



A y B: Hígado *Cavia porcellus* 10X, y 40X H/E. Nótese los moderados cambios microcirculatorios focos de congestión (flechas negras). **C:** hígado *Cavia porcellus* 10X H/E, nótese pérdida de arquitectura de cordones de hepatocitos, necrosis de hepatocitos (flechas blancas), tumefacción y cambio hidrópico (flechas amarillas). **D:** Hígado *Cavia porcellus* 40X H/E. Se evidencia focos de infiltrado mononuclear periportal (rombo).

6.3 DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 3

6.3.1 Riñón. Microscópicamente se observan moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión de hemorragia en corteza y medula, con patrón de distribución multifocal. Corteza: (corpúsculo renal) se observa múltiples áreas con moderada disminución del espacio de Bowman, presencia de material eosinofílico homogéneo en el espacio de Bowman (compatible con proteína). Se observa un aumento de celularidad del epitelio glomerular. No obstante se observan algunos focos en los cuales se aprecia glomérulos de aspecto retraído, con moderado aumento en el espacio de Bowman, y áreas en las cuales se evidencia obsolescencia glomerular. Epitelio tubular con moderados cambios degenerativos, células con cambio hidrópico y focos con cambios asociados a muerte celular (núcleos en picnosis, cariorrexis, y cariólisis), focos de Necrosis tubular aguda. Presencia de material eosinofílico homogéneo intratubular (proteinuria), y cilindros hialinos escasos, presencia de focos de infiltrado inflamatorios mononuclear compuesto principalmente por linfocitos y escasas células plasmáticas localizado en espacio intersticial y periglomerular. Leve proliferación de tejido conectivo en el espacio intersticial. Medula con moderados cambios degenerativos en el epitelio tubular, células con cambio hidrópico y focos con cambios asociados a muerte celular (núcleos en picnosis, cariorrexis, y cariólisis). Pelvis renal: aparentemente normal.

• **Diagnostico morfológico:** moderada glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria.

6.3.2 Pulmón. Microscópicamente se evidencian moderados cambios microcirculatorios con focos de congestión hemorragia enlodamiento, discrasia sanguínea, edema con patrón de distribución difuso y focos de secuestro leucocitario mixto. Bronquio: Lumen con moderada cantidad de detritos celulares, y moco; (mucosa) aparentemente normal. (submucosa) aparentemente normal, (muscular) aparentemente normal. Bronquiolo con moderado desprendimiento del epitelio, moderada cantidad de moco y detritos celulares en el lumen. Parénquima funcional con moderado infiltrado inflamatorio, por células mononucleares principalmente en el espacio intersticial, escasos macrófagos, presencia de membranas hialinas y estructuras basofílica de aspecto puntiforme localizados en el citoplasma de algunos macrófagos.

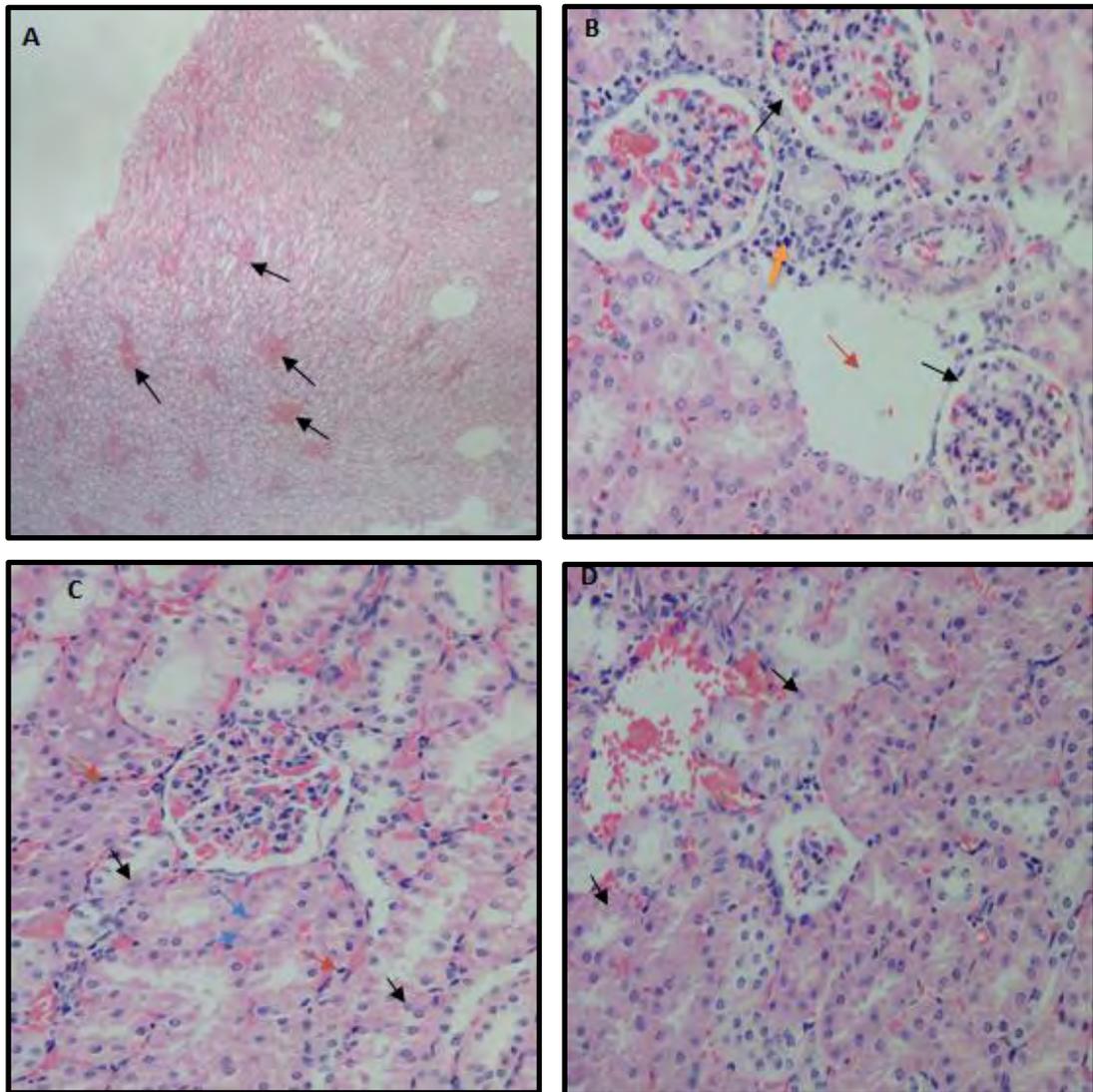
• **Diagnostico morfológico:** Las alteraciones se catalogaron como una moderada neumonía intersticial linfocítica.

6.3.3 Hígado. Microscópicamente se evidenció moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión, enlodamiento, discrasia sanguínea, edema, secuestro leucocitario mixto, microtrombosis centrolobulillar, y perilobulillar. Se evidenciaron múltiples focos con pérdida de la arquitectura de los

cordones de los hepatocitos, presencia de hepatocitos de aspecto tumefacto con cambio hidrónico, núcleos con cambios asociados a muerte celular (picnosis, cariorrhexis, kariolisis), (hepatocitos binucleares). Moderada reactividad de las células de Kuffer, focos de infiltrado inflamatorio linfocítica con distribución periportal.

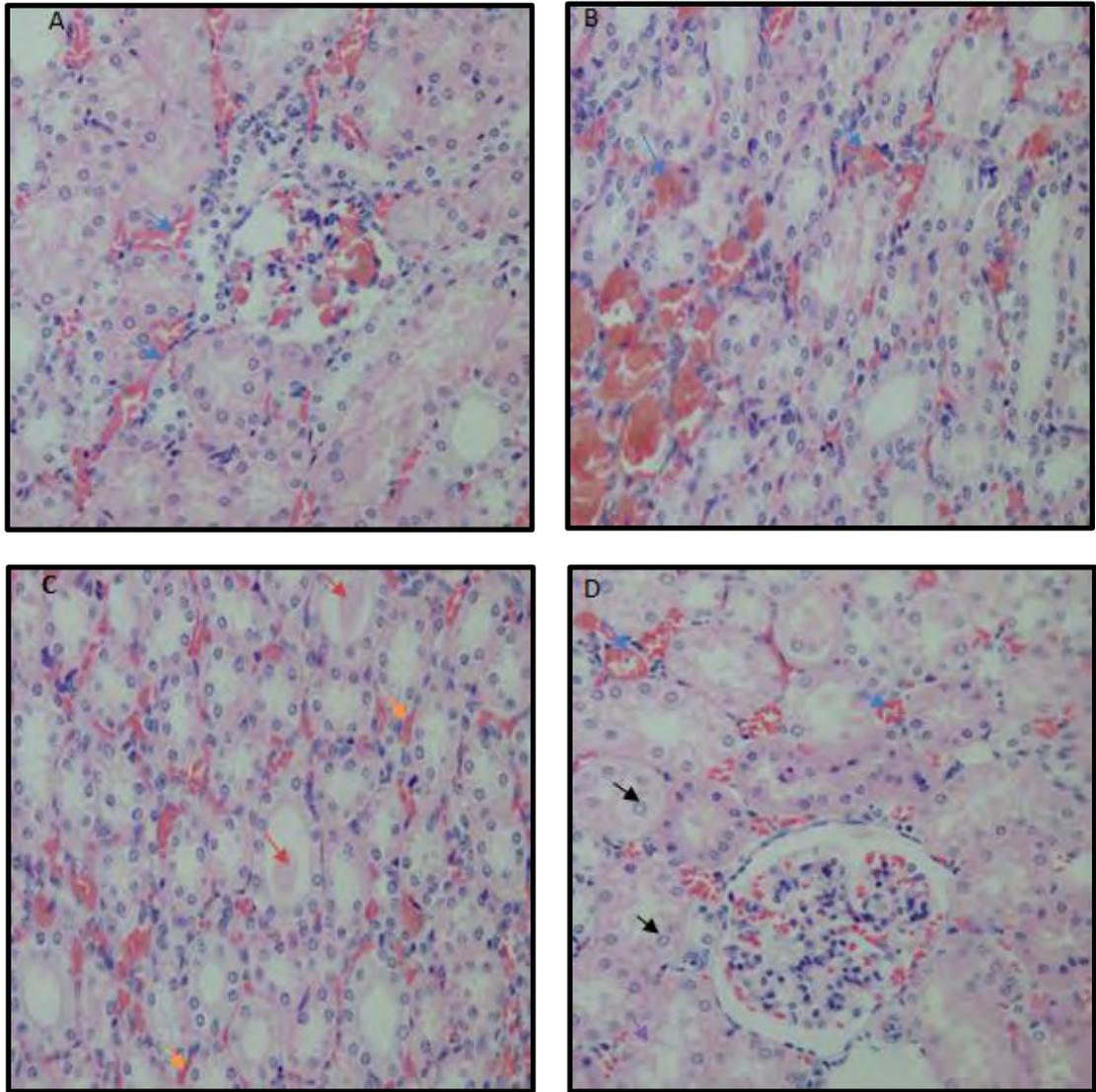
- **Diagnostico morfológico:** Las alteraciones microscópicas fueron catalogadas como una moderada hepatitis periportal linfocítica.

Figura 17. Alteraciones microscópicas en riñón del cuy (Caso 3).



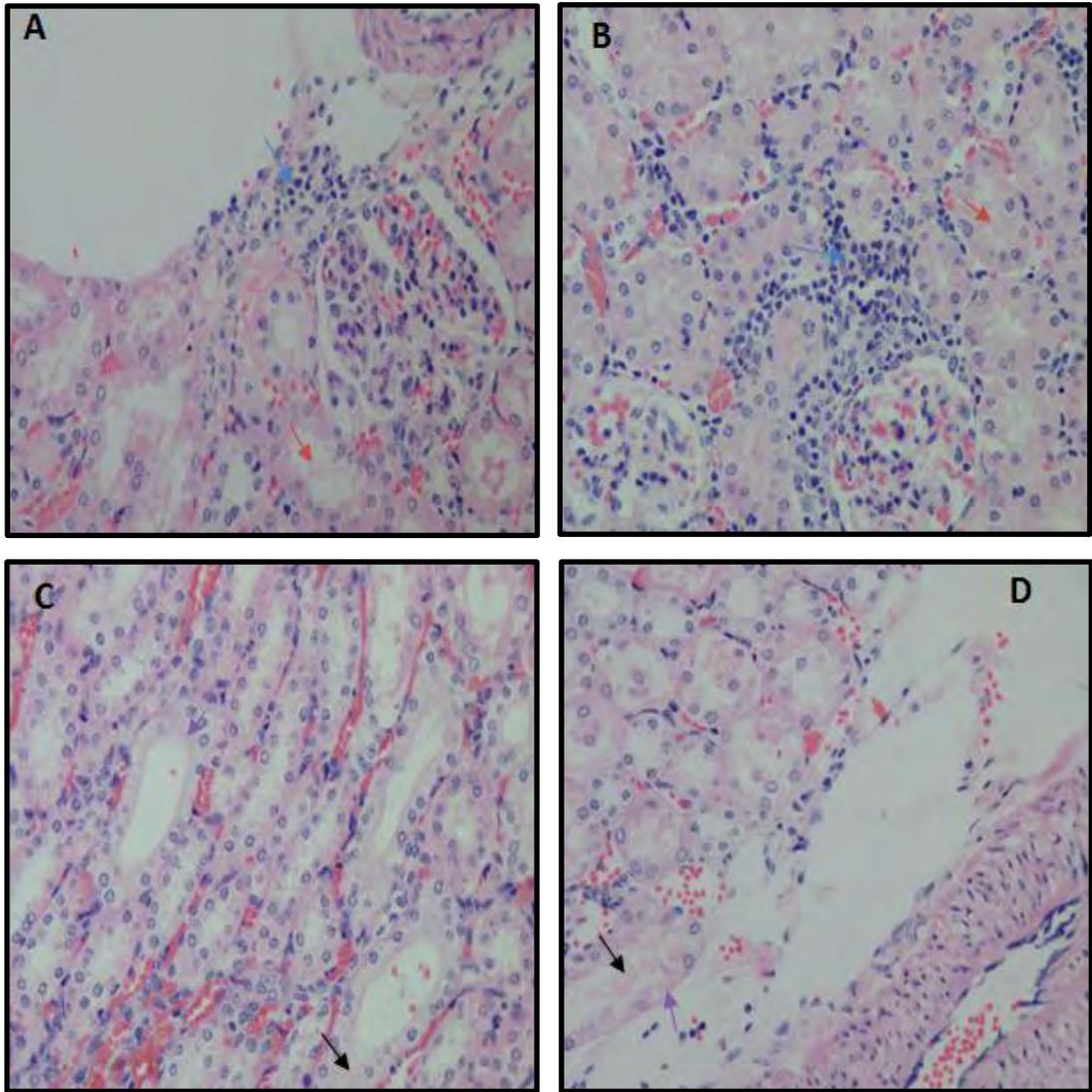
A: riñón *Cavia Porcellus* H/E 4X, nótese moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al aza (Flechas negras), B: Riñón *Cavia porcellus* 10X H/E nótese focos con moderada disminución del espacio de Bowman (flechas negras), áreas de opsolescencia glomerular (flecha roja) e infiltrado inflamatorio intersticial (flecha amarilla). C y D Riñón *Cavia porcellus* 40X H/E. Se evidencian cambios hidrópicos y cambios asociados a muerte celular en el epitelio tubular (flechas azules), Núcleos de aspecto picnotico (flechas rojas), en cariólisis y cariórrexis (flechas negras).

Figura 18. Alteraciones microscópicas en corteza y medula renal del cuy (Caso 3).



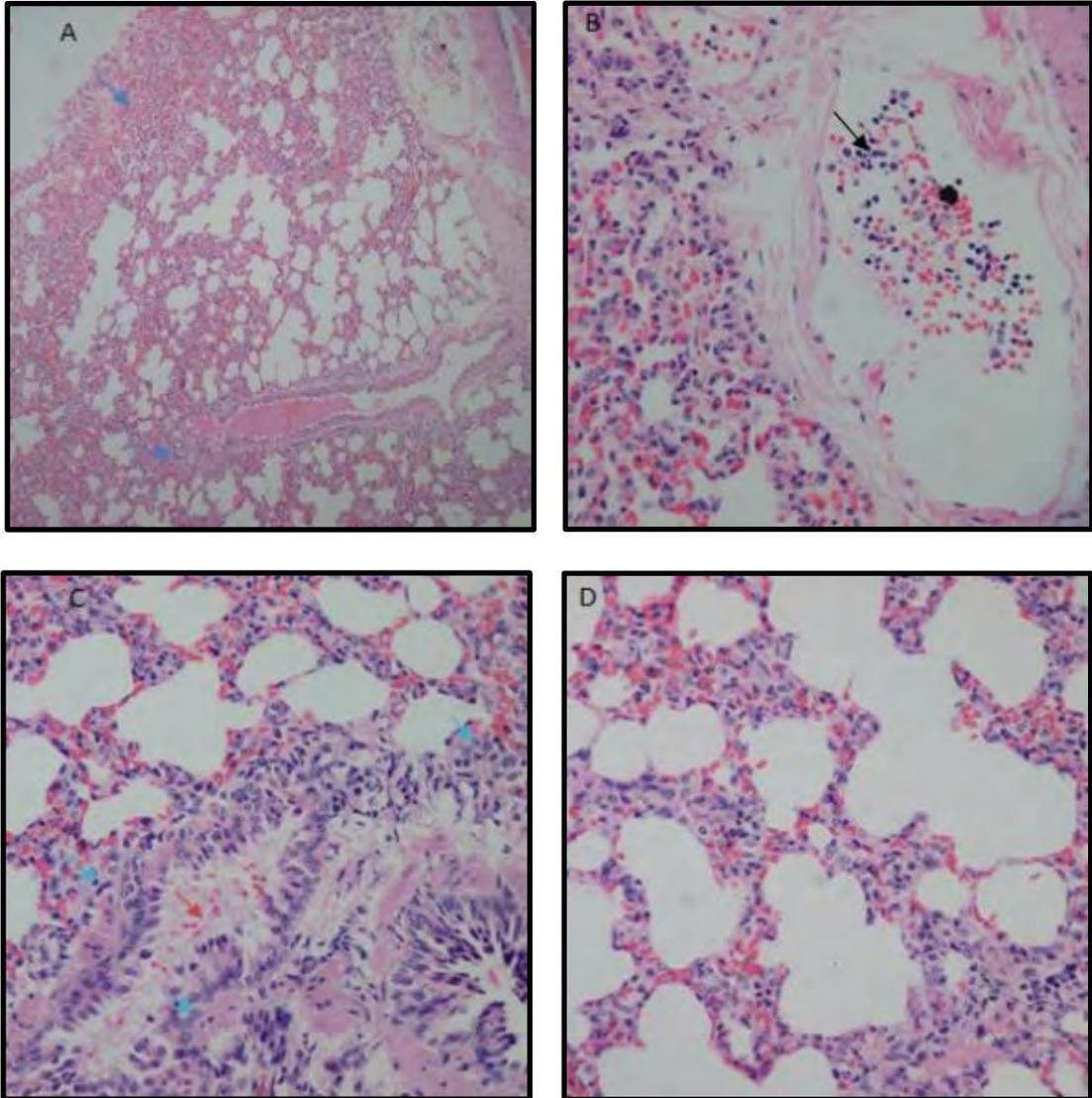
A, B y D: medula renal *Cavia porcellus* H/E 10X, nótese los cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al azar (Flechas azules), cambio hidrópico del epitelio renal (flechas negras) y cilindruvia (flechas amarillas). C: Riñón *Cavia porcellus* 40X H/E nótese proteinuria (flechas rojas) y cambios asociados a muerte celular en el epitelio tubular (flecha morada).

Figura 19. Hallazgos microscópicos en riñón del cuy (Caso 3).



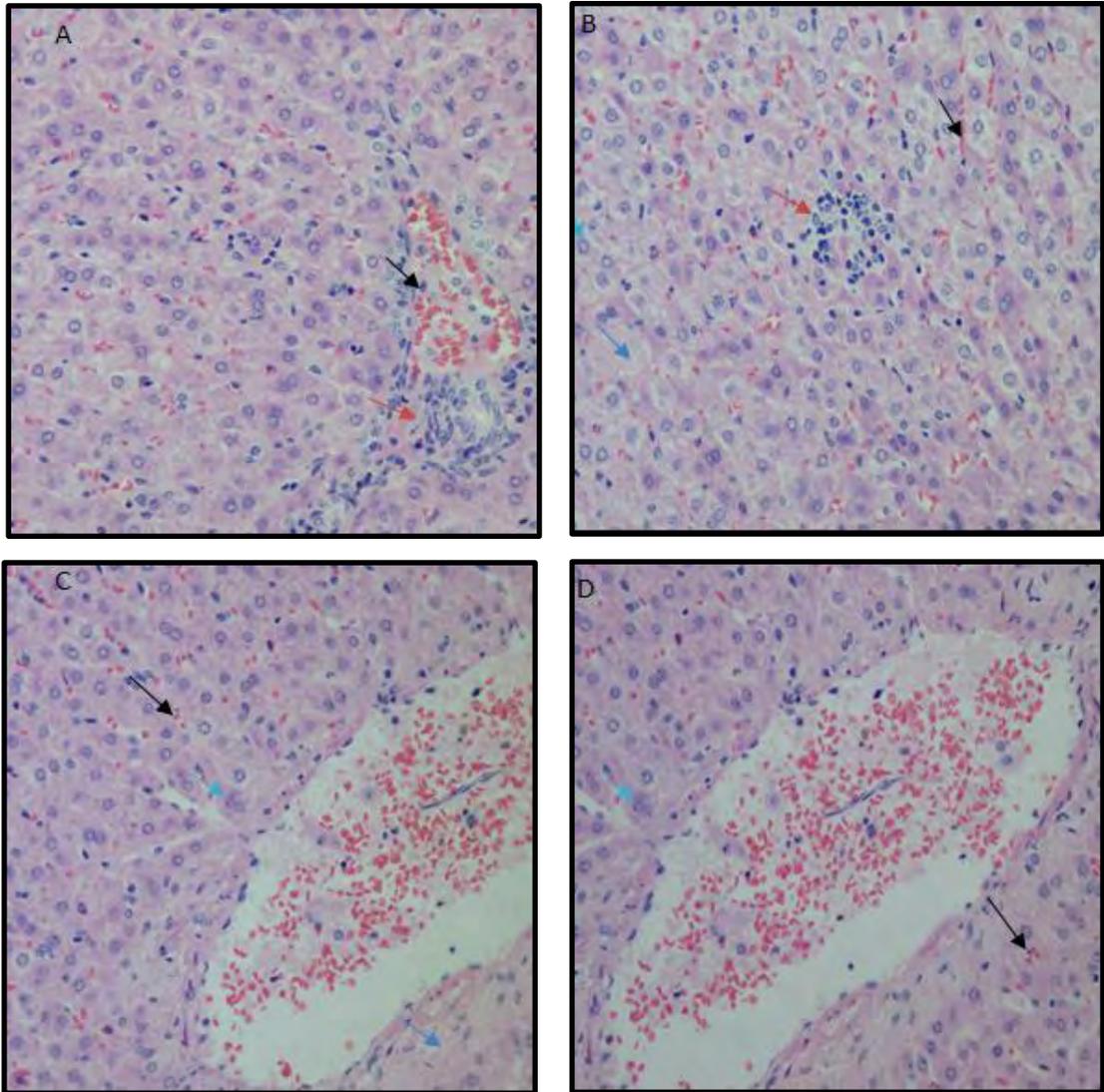
A y B: Corteza renal *Cavia porcellus* H/E 10X, nótese infiltrado linfoplasmocitario en espacio intersticial (Flechas azules), y proteinuria (flechas rojas). C y D Corteza renal *Cavia porcellus* 40X H/E nótese proteinuria (cabeza de flecha) y cambio hidrópico del epitelio (flechas moradas).

Figura 20. Hallazgos microscópicos en pulmón de cuy (Caso 3).



A y B Pulmón *Cavia porcellus* H/E 4X nótese neumonía intersticial (flechas azules), secuestro leucocitario (flecha negra). C y D: pulmón de *Cavia porcellus* 40x H/E. bronquiolo con gran cantidad de moco y detritos celulares (flecha roja), e infiltrado inflamatorio mononuclear (linfocitos, macrófagos y plasmáticas) en espacio intersticial (flechas azul claro).

Figura 21. Alteraciones microscópicas en parénquima hepático del cuy (Caso 3).



A, B, C y D Hígado *Cavia porcellus* 10X H/E. Nótese los moderados cambios microcirculatorios focos de congestión (flechas negras), pérdida de organización de cordones de hepatocitos, focos de infiltrado mononuclear linfocítico multifocal (flechas rojas), hepatocitos de aspecto tumefacto y con cambio hidrópico (flechas azul claro).

6.4 DESCRIPCIÓN HISTOPATOLÓGICA CASO 4

6.4.1 Riñón. Se observan moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión de hemorragia en corteza y medula, con patrón de distribución multifocal. Corteza: (corpúsculo renal) se observa múltiples áreas con moderada disminución del espacio de Bowman, presencia de material eosinofílico homogéneo en el espacio de Bowman (compatible con proteína). Se observa un aumento de celularidad del epitelio glomerular, glomeruloesclerosis. No obstante se observan algunos focos en donde los glomérulos presentan un aspecto retraído, con moderado aumento en el espacio de Bowman, y algunas áreas en las cuales se evidencia obsolescencia glomerular. Epitelio tubular con moderados cambios degenerativos, células con cambio hidrópico y focos con cambios asociados a muerte celular (núcleos en picnosis, cariorexix, y cariolisis). Escasos focos de necrosis tubular aguda, presencia de material eosinofílico homogéneo intratubular compatible con proteína y escasos cilindros hialinos, presencia de múltiples focos de severo infiltrado inflamatorios mononuclear compuesto principalmente por linfocitos, escasos macrófagos y células plasmáticas localizado en espacio intersticial y periglomerular. Medula con moderados cambios degenerativos en el epitelio tubular, células con cambio hidrópico y focos con cambios asociados a muerte celular (núcleos en picnosis, cariorexix, y cariolisis). Pelvis renal: moderados cambios degenerativos en epitelio transicional, presencia de moderada cantidad de detritos celulares (células inflamatorias (linfocitos, macrófagos, eritrocitos y células epiteliales). Material eosinofílico homogéneo compatible con proteína.

- **Diagnostico morfológico:** Las lesiones microscópicas fueron catalogadas como una severa glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria.

6.4.2 Pulmón. Microscópicas moderados cambios microcirculatorios, focos de congestión hemorragia enlodamiento, discrasia sanguínea y secuestro leucocitario con patrón de distribución difuso. Bronquio: Lumen con moderada cantidad de detritos celulares, y moco. Bronquiolo con moderado desprendimiento del epitelio, moderada cantidad de moco y detritos celulares en el lumen. Parénquima funcional con moderado infiltrado inflamatorio intersticial, predominante por células mononucleares principalmente linfocitos, escasos macrófagos y presencia de membranas hialina.

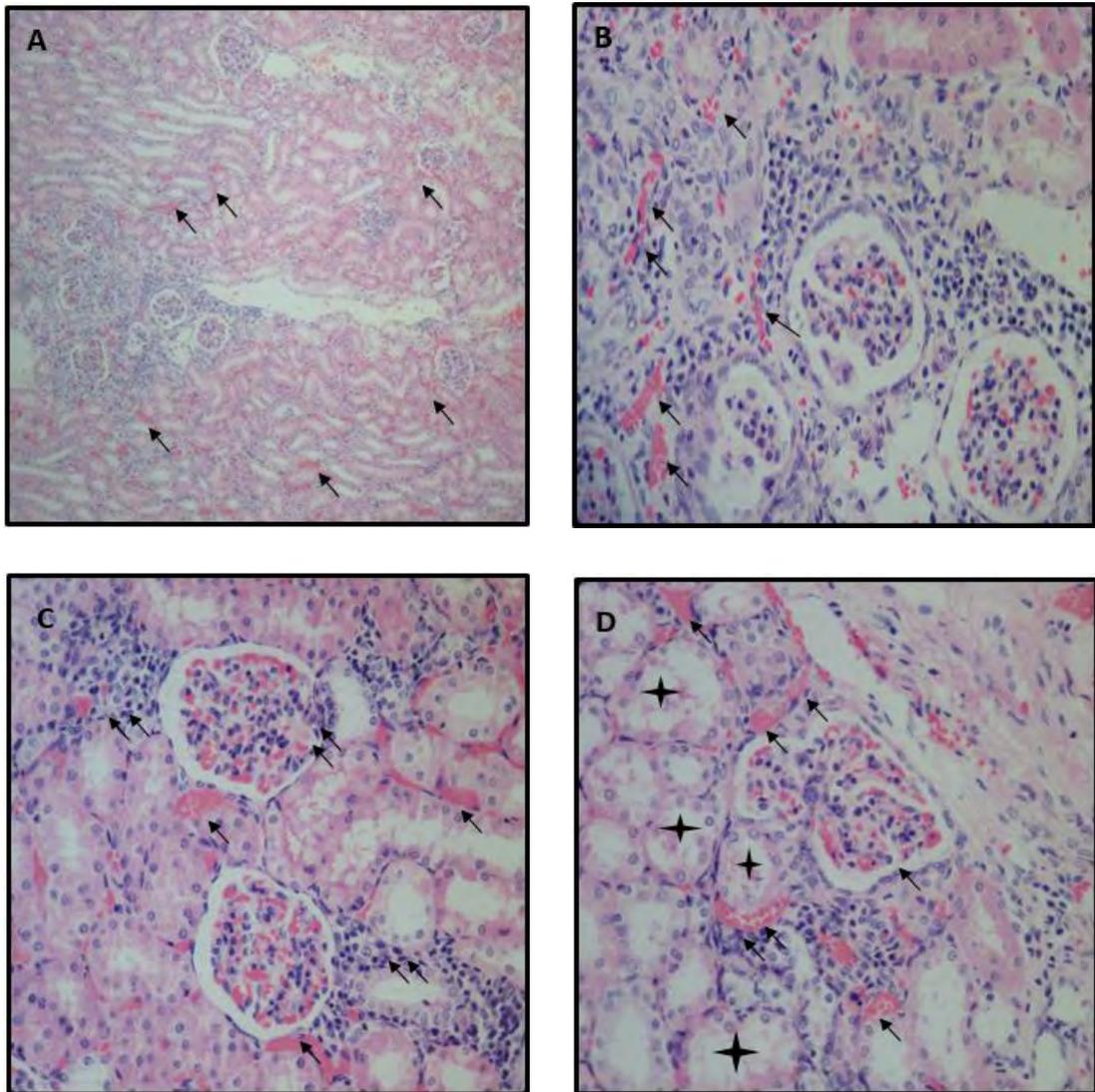
- **Diagnóstico morfológico:** moderada neumonía intersticial linfocítica.

6.4.3 Hígado. Con moderados cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión, enlodamiento, discrasia sanguínea, edema centrolubulillar y periportal, secuestro leucocitario mixto, microtrombosis. Se evidencia múltiples focos con pérdida de la arquitectura de los cordones de los hepatocitos, presencia de

hepatocitos de aspecto tumefacto con cambio hidrópico, núcleos con cambios asociados a muerte celular (picnosis, cariorrexis, cariólisis), (hepatocitos binucleares), moderada reactividad de las células de Kuffer, múltiples focos de infiltrado inflamatorio linfocítica con distribución periportal. Leve hiperplasia de canalículos biliares. Leve proliferación de tejido conectivo.

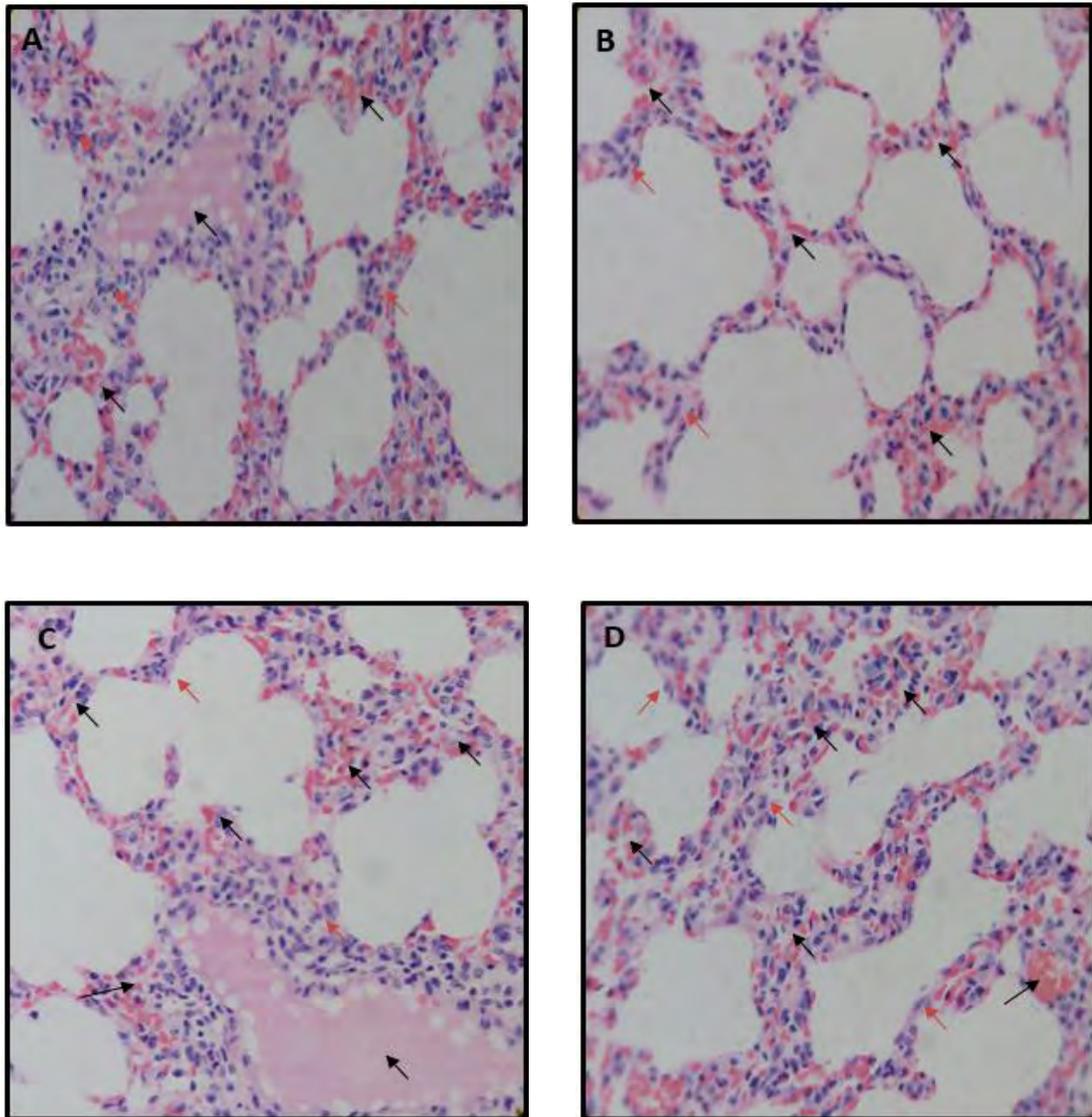
- **Diagnostico morfológico:** severa hepatitis periportal linfocítica.

Figura 22. Hallazgos microscópicos en riñón del cuy (Caso 4).



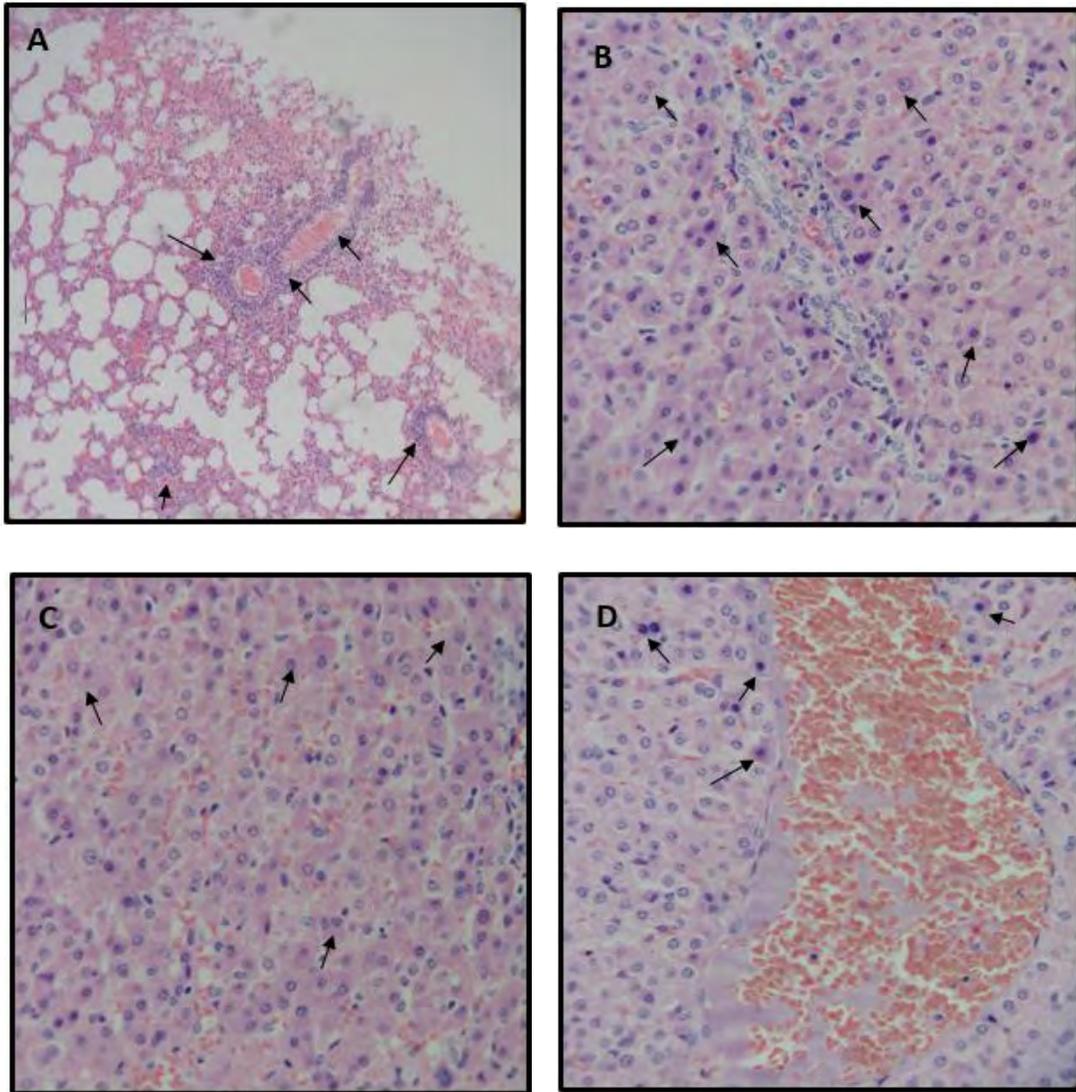
A, B, C y D: corteza renal, *Cavia porcellus* H/E 4X, 10X, 10X, 10X. nótese severos cambios microcirculatorios, múltiples focos de congestión y hemorragia distribuidos al azar (Flechas), áreas con severa disminución en el espacio de Bowman (cabeza de flecha), severo infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario en espacio intersticial, cambio hidrópico del epitelio tubular y cambios asociados a muerte celular (cabeza de flecha) y proteinuria (asterisco).

Figura 23. Hallazgos microscópicos en pulmón del cuy (Caso 4).



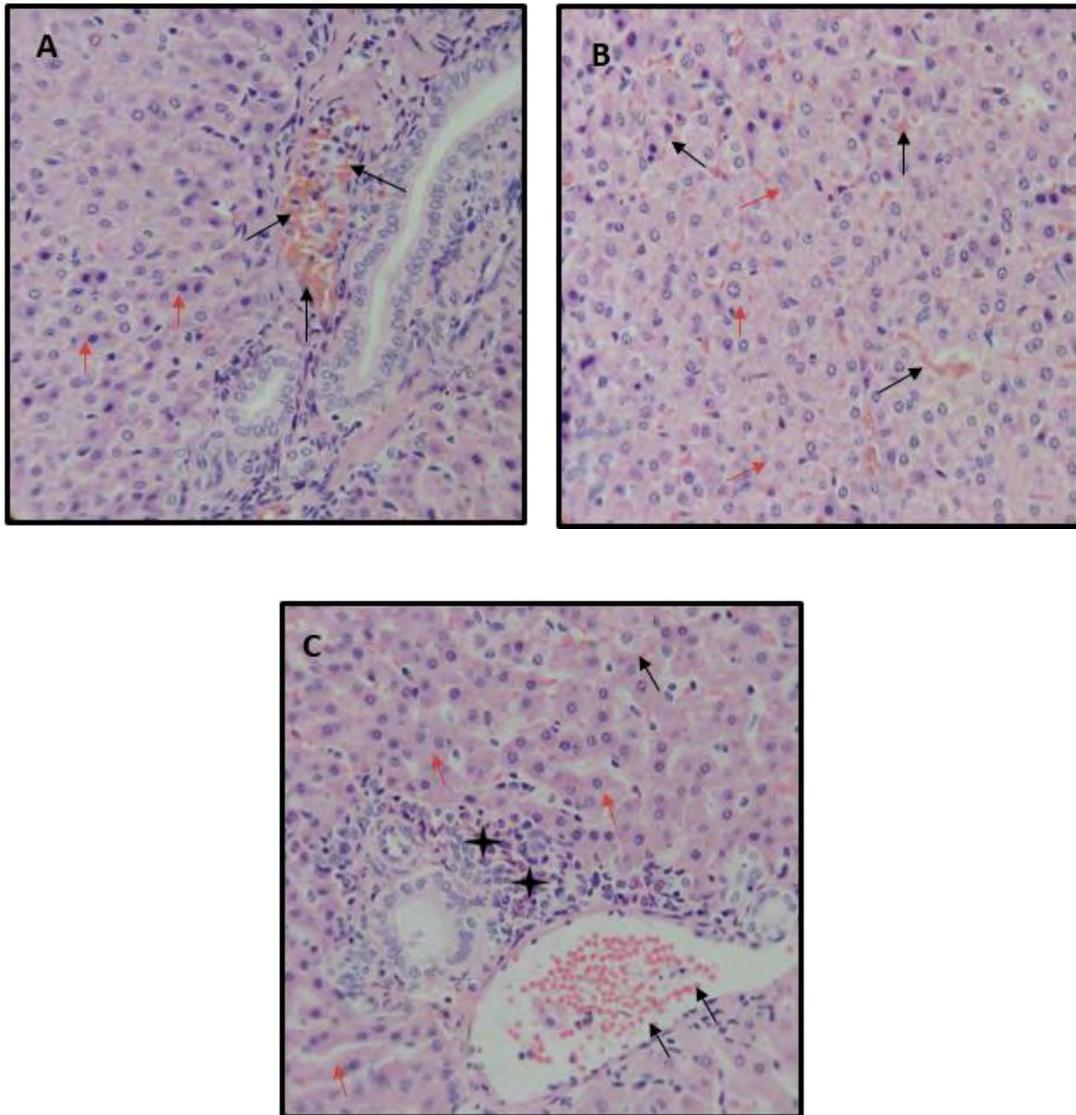
A B, C y D. Pulmón de *Cavia porcellus* 4x C y 10X Dy E. nótese los severos cambios microcirculatorios , múltiples y extensas áreas de congestión , hemorragia (flechas), áreas de edema pulmonar (flechas) e infiltrado predominantemente de tipo mononuclear (linfocitos, macrófagos, escasas plasmáticas y heterófilos) en espacio intersticial.

Figura 24. Evidencia de lesiones a nivel de pulmón e hígado del cuy (Caso 4).



A: Pulmón de *Cavia porcellus* 4X. neumonía intersticial. B, C y D. hígado *Cavia porcellus* H/E 10X. Hepatocitos con cambios degenerativos, cambio hidrópico (flechas) cambios asociados a muerte celular (cabeza de flecha). Lesiones asociadas a *Leptospira interrogans*.

Figura 25. Hallazgos histopatológicos en hígado del cuy (Caso 4).



A, B y C Hígado *Cavia porcellus* 10X, H/E. Nótese los moderados cambios microcirculatorios focos de congestión (flechas), pérdida de la arquitectura de los cordones de hepatocitos, hepatocitos con cambio hidrópico (cabezas de flechas), necrosis de hepatocitos, focos de infiltrado linfocítico perilobulillar (asterisco).

Los hallazgos histopatológicos encontrados en el estudio, demuestran la existencia de lesiones en los animales positivos a *Leptospira interrogans* por PCR, siendo el primer reporte a nivel del departamento de Nariño que evidencia de leptospirosis en cuyes para abasto.

Se encontró que la totalidad de los casos de estudio comparten el mismo diagnóstico morfológico microscópico en riñón (glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria), tres de los cuatro comparten el mismo diagnóstico morfológico para pulmón (neumonía intersticial linfocítica), y dos de cuatro casos comparten el mismo diagnóstico para hígado (hepatitis periportal linfocítica). El grado de severidad de las lesiones predomina de moderada a severa. Estos hallazgos podrían suponer la evidencia patologías concomitantes que posiblemente padecían estos individuos antes del sacrificio. La comparación de los diagnósticos se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Comparación de diagnóstico morfológico.

CASO	TEJIDO	DIAGNOSTICO	SEVERIDAD
1	Riñón	Glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria	Moderada
	Pulmón	Neumonía granulomatosa multifocal	Severa
	Hígado	Hepatitis intersticial multifocal	Severa
2	Riñón	Glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria	Severa
	Pulmón	Neumonía intersticial linfocítica	Moderada
	Hígado	hepatitis periportal linfocítica	Severa
3	Riñón	Glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria	Moderada
	Pulmón	Neumonía intersticial linfocítica	Moderada
	Hígado	hepatitis periportal linfocítica	Moderada
4	Riñón	glomerulonefritis intersticial linfoplasmocitaria	Severa
	Pulmón	Neumonía intersticial linfocítica	Moderada
	Hígado	hepatitis periportal linfocítica	Severa

Los hallazgos encontrados en el estudio, evidenciaron una glomerulonefritis con infiltrado linfoplasmocitario a nivel intersticial, con material proteináceo y cilindros hialinos, siendo similar a lo que reportan Delgado, et al¹⁰³ en un estudio experimental en cuyes en el año 2007, denotando una glomerulopatía con

¹⁰³ DELGADO, Fernando; et al. Adaptación de un protocolo de Inmunohistoquímica para la detección de *Leptospira spp.* en muestras de tejido fijado en formaldehído. En: Rev Cubana med trop, 2007, vol. 59, no. 1, p 1 - 9.

depósito proteináceo, hemorragias e infiltrado leucocitario en los glomérulos y necrosis multifocal de epitelio tubular con infiltración hialina intracelular e extracelular como lesiones ocasionadas en una fase aguda de la enfermedad. De igual manera las lesiones concuerdan con lo reportado por Agudelo, et al¹⁰⁴, en donde se realizó un estudio en ratas capturadas en una zona de mercado de la ciudad de Medellín en el año 2013, reportando la existencia de una nefritis intersticial como único hallazgo que se atribuye a las leptospiras, los autores describen en el parénquimas renal la presencia de infiltrado inflamatorio con predominancia de células linfoplasmocíticas e histiocitos que varían de leve, modera a severo. Estas lesiones coinciden con lo reportado por Tucunduva de Faria, et al.¹⁰⁵ en un estudio realizado en el 2007 en ratas sometidas a infección natural y experimental por *Leptospira*; los autores concluyen que la única lesión atribuible a la infección con el agente es la nefritis intersticial y es un hallazgo que se desarrolla alrededor de un mes o mayor. La comparación de los hallazgos histopatológicos para riñón se encuentran en los cuadros 3 y 4.

La opsolescencia glomerular, el aplanamiento y ectasia de los túbulos renales es indicativo de un cambio crónico de una patología existente en el individuo; el cual podría ser atribuido al agente infeccioso.

En pulmón, la neumonía intersticial encontrada en la mayoría de los casos es un hallazgo que se comparte con Delgado, et al¹⁰⁶, en un estudio experimental en cuyes, los cuales anuncian la lesión pulmonar de forma aguda acompañada con degeneración fibrinoide en las arterias; sin embargo las lesiones no pueden ser solo debidas a la presencia de *Leptospira*, sino que también se atribuye la suma de otros factores involucrados en estos casos, como lo es los factores medioambientales, nutricionales, de manejo y la existencia de otras infecciones concomitantes (bacterianas, virales o parasitarias). Siendo afecciones de naturaleza multifactoriales las encontradas en este estudio.

¹⁰⁴ AGUDELO FLÓREZ, Piedad, et al. Histopathological kidney alterations in rats naturally infected with *Leptospira*. In: Biomédica, September, 2013, vol. 33, supl. 1, p 82-88

¹⁰⁵ TUCUNDUVA DE FARIA, M., et al. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. In: Journal of comparative pathology, December, 2007, vol. 137, no. 4, p 231-238.

¹⁰⁶ DELGADO, Fernando; et al. Op. Cit.

Cuadro 3. Comparación de hallazgos histopatológicos encontrados en corteza renal.

CASO		1	2	3	4
HALLAZGOS					
Cambios Micro-Circulatorios	Congestión	+++	+++	++	++
	Discrasia				
	Hemorragia	+++	+++	++	++
	Enlodamiento				
	Micro Trombosis				
Cambios Degenerativos	Aumento o Disminución EB*	++	++	++	++
	Material Proteínico EB	+	+	+	+
	Opsolescencia Glomerular	+	+	+	+
Cambios Asociados a Muerte Celular	Picnocitosis, Cariolisis, Cariorrexis	++	++		
Cambios Inflamatorios	Celularidad	Linfocitos, Plasmáticas	Linfocitos, Plasmáticas	Linfocitos, escasos plasmáticas	Linfocitos, Escasos macrófagos, Plasmáticas
	Localización	Espacio Intersticial	Espacio Intersticial; Periglomerular	Espacio Intersticial; Periglomerular	Espacio Intersticial; Periglomerular
	Severidad	+	+		+++
Otras Alteraciones		Cambios proliferativos en epitelio glomerular*		Cambios proliferativos en epitelio glomerular*	Cambios proliferativos en epitelio glomerular,* Glomeruloesclerosis

+: Leve. ++: Moderado; +++: Severo. *Espacio de Bowman. ** Confirmar hallazgos mediante inmunofluorescencia o PAS.

Cuadro 4. Comparación de hallazgos histopatológicos encontrados en medula renal

HALLAZGOS		CASOS			
		1	2	3	4
Cambios Micro-Circulatorios	Congestión	+++	+++	++	++
	Discrasia				
	Hemorragia	+++	+++	++	++
	Enlodamiento				
	Micro Trombosis				
Cambios Degenerativos	Cambio Hidrópico	++	++	++	++
	Proteinuria	++	++	++	++
	Cilindros Hialinos	+	+	+	+
	Aplanamiento y/o Ectasia del epitelio tubular	++			
	Tejido conectivo			+ Intersticial	
Cambios Asociados a Muerte Celular	Picnocitosis, Cariolisis, Cariorrexis	++		++	++
	Necrosis tubular			+	+
Cambios Inflamatorios	Celularidad	Linfocitos, Plasmáticas	Linfocitos, Plasmáticas	Linfocitos, escasos plasmáticas	Linfocitos, Escasos macrófagos, Plasmáticas
	Localización	Espacio Intersticial	Espacio Intersticial; Periglomerular	Espacio Intersticial; Periglomerular	Espacio Intersticial Periglomerular
	Severidad	+	+		+++
Otras alteraciones		Deposito mineral			

+: Leve. ++: Moderado; +++: Severo. *Espacio de Bowman.

Correlacionado los patrones neumónicos y las vías de entrada de los agentes patógenos para los casos en estudio, se asocia que la mayoría de lesiones sean probablemente debido a agentes afines cuya puerta de ingreso es la vía respiratoria la cuales no son objetivo de este estudio; por ende las lesiones microscópicas encontradas en pulmón resultan ser inespecíficas para el diagnóstico de *Leptospira* en cuyes.

El componente inflamatorio observado en estos casos indica la participación de la respuesta celular y humoral del sistema inmunológico, indicando un proceso crónico debido a la existencia de cantidades reconocibles de células mononucleares tanto macrófagos como linfocitos.

Los cambios microcirculatorios severos pueden ser evidencia de una fase aguda de una enfermedad como lo es reportado por Nally, et al.¹⁰⁷ pero no debe descartarse que estas lesiones también son producidas por el estrés generado a la hora del sacrificio. En uno de los casos se evidencio la presencia asociados a cronicidad; tales como la hiperplasia del epitelio de las vías respiratorias.

“La gran cantidad de detritos celulares, moco descrita en el lumen de las vías respiratorias, pueden ser explicadas en parte debido a que él cuy tiene mayor desarrollo musculo peribronquial que genera mayor capacidad de contracción que predispone a bronquitis, y mayor número de células calciformes que producen gran cantidad de moco”^{108,109}. La comparación de los hallazgos histopatológicos encontrados en los cuatro casos se encuentran en el cuadro 5.

¹⁰⁷ NALLY, Jarlath E., et al. Alveolar septal deposition of immunoglobulin and complement parallels pulmonary hemorrhage in a guinea pig model of severe pulmonary leptospirosis. In: American journal of pathology, March, 2004, vol. 163, no. 4, p 115-1127.

¹⁰⁸ SUCKOW, Mark A., STEVENS, Karla A., WILSON, Ronald P. En: The Laboratory Rabbit, Guinea pig, Hamster, and other Rodents. USA. 2012 p 587-588

¹⁰⁹ PERCY, Dean H and BARTHOLD, Stephen W. En: Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits, Third Edition, USA. 2007. p 218

Cuadro 5. Comparación de hallazgos histopatológicos encontrados en pulmón.

CASOS		1	2	3	4
HALLAZGOS Cambios Micro- Circulatorios	Congestión	+	+++	++	++
	Discrasia	+	+++	++	++
	Hemorragia		+++	++	++
	Enlodamiento	+	+++	++	++
	Micro Trombosis				
	Edema	+	+++		
	Membranas hialinas	+		+	+
	Células falla cardiaca		+		
	Eritrofagocitosis		+		
	Pigmentos hemoglobina		+++		
Cambios Degenerativo s	Cambio Hidrópico	+			
	Detritos celulares y moco en el lumen	+	+++	++	++
	Hiperplasia del epitelio		++		
	Desprendimient o del epitelio			+ Bronquiolo	++ Bronquiolo
Cambios Asociados a Muerte Celular	Picnocitosis, Cariolisis Cariorrhexis		+		
	Sincitos		+		
Cambios Inflamatorios	Celularidad	Linfocitos, Macrófagos	Linfocitos, escasos macrófagos	Escasos macrófagos	Linfocitos, Escasos macrófagos
	Localización	Intersticial	intersticial	Intersticial	
	Severidad	+	++	++	
Otras alteraciones		Secuestro leucocitario mixto; Estructuras de color pardo puntiforme fagocitadas; Metaplasia ósea	Secuestro leucocitario mononuclear ; Hiperplasia de la células caliciformes;	Secuestro leucocitario mixto; Estructuras basofílicas puntiforme en citoplasma macrófagos	Secuestro leucocitario

+: Leve. ++: Moderado; +++: Severo. *Espacio de Bowman.

Para los hallazgos encontrados en el tejido hepático son similares a lo reportados por Nally, et al.¹¹⁰ en un estudio experimental en cuyes, donde mencionan la evidencia de pérdida de la arquitectura celular de los hepatocitos de forma focal hasta difusa, aumento de la actividad mitótica e incremento de los hepatocitos binucleados. No obstante según Rosas, et al.¹¹¹ en 2010, los hepatocitos binucleados en los cuyes son normales, pero en este estudio no se determina que porcentaje se es considerado normal. La comparación de los hallazgos histopatológicos encontrados en el hígado de los casos en estudio se presentan en el cuadro 6.

Cuadro 6. Comparación de hallazgos histopatológicos en hígado.

CASOS		1	2	3	4	
HALLAZGOS	Cambios Micro-Circulatorios	Congestión	++	++	++	++
		Discrasia	++	++	++	++
		Hemorragia				
		Enlodamiento	++	++	++	++
		Micro Trombosis	++	++	++ Centrolubolillar; Perilobulillar	++
	Edema			++	++ Centrolubolillar; Perilobulillar	
Cambios Degenerativos	Perdida arquitectura Hepatocitos	+ Multifocal	+ Multifocal	+ Multifocal	+ Multifocal	
	Cambio hidrópico	+	+	+	+	
	Hiperplasia de conductos biliares	++	++		+	
	Degeneración grasa	+				
	Tejido conectivo		+		+	
Cambios Asociados a Muerte Celular	Picnocitosis, Cariolisis Cariorrexis	+	+	+	+	
Cambios	Celularidad	Linfocito,	Linfocito,	Linfocito;	Linfocitos,	

¹¹⁰ NALLY, Jarlath E., et al. Op Cit.

¹¹¹ ROSAS C, Carlos; VASQUEZ, P y DEL SOL, Mariano. Descripción histológica e histoquímica del hígado de cobayo (*Cavia porcellus*). En: Int. J. Morphol., 2010, vol. 28, no. 1, p 151-156.

Inflamatorios		Células de Kufer	Células de Kufer	Células de Kufer	Células de Kufer
	Localización	Multifocal	periportal	Periportal	Periportal
	Severidad	+	++	++	
Otras alteraciones		Necrosis de coagulación al azar	Secuestro leucocitari o mixto		

+: Leve. ++: Moderado; +++: Severo. *Espacio de Bowman.

Los hallazgos microscópicos observados en este estudio, pueden ser de ayuda para un diagnóstico presuntivo de leptospirosis en cuyes de abasto en futuras investigaciones, sin embargo para tener un diagnóstico certero se debe complementar con pruebas que sean más específicas.

La variación en la severidad de las lesiones presentadas en los casos podría explicarse a una dependencia directa a las características de la serovariedades involucradas, dosis infectiva del agente, estado inmunitario y características intrínsecas del hospedador, además de las condiciones medioambientales en las que se ven expuestos el agente y el hospedador.

Para entender un poco mejor la patogenia de las lesiones, Adler y de la Peña-Moctezuma mencionan:

Es importante tener en cuenta que un pequeño número de leptospiras (de 1 a 10) puede causar una infección fatal en animales, una vez dentro del cuerpo los agentes se propagan rápidamente hacia todos los órganos. La vasculitis es la lesión característica encontrada en la leptospirosis, generando una fuga de líquidos y células, que finalmente llevan a una hemorragia severa. La lesión tisular es caracterizada por la presencia de un daño celular significativo en la presencia de pocos microorganismos, que sugiere la participación de factores tóxicos ya sea de la espiroqueta o del hospedador, asociados con fenómenos de adherencia bacteriana en las células¹¹².

El cuy tomado como animal de experimentación como lo menciona Padilla, et al.¹¹³ “ha sido muy valiosos para el estudio de una variedad de enfermedades bacterianas de los humanos”. “Esta especie comparte similitudes con el humano con respecto a la respuesta hormonal e inmunológica, fisiología pulmonar, respuesta a corticoesteroides, necesidad de una fuente exógena de vitamina C, y

¹¹² ADLER, B and DE LA PEÑA-MOCTEZUMA. Leptospira. In: Pathogenesis of bacterial infections animals. 3 ed. USA: Blackwell publishing, 2008. 391 p.

¹¹³ PADILLA-CARLIN, D; et al. The guinea pig as a model infectious diseases. In: The American Association for Laboratory Animal Science, 2008, vol. 58, no. 4, p 324-340.

demostración de una reacción de tipo retardado después de la exposición a una infección (por ejemplo, tuberculosis)”¹¹⁴.

“Los roedores de laboratorio (gazapos y hamsters) son susceptibles a un limitado número de cepas virulentas de leptospiras. En adición, las leptospiras patogénicas son cultivadas en medios que no asemejan a las condiciones en vivo, y la virulencia es perdida gradualmente después de algunos pasajes”¹¹⁵.

Las ratas son el mayor reservorio natural de la leptospirosis pero relativamente son resistentes a la infección, a pesar de la importancia de la rata en la transmisión de la enfermedad, existen pocos reportes enfocados a la evaluación de la patología en esta especie¹¹⁶

6.5 TINCIÓN DE PLATA (WARTHIN STARRY)

En cuanto, a los resultados encontrados por la técnica de Warthin Starry, fue posible identificar el agente en un solo caso de los estudiados, se puede anunciar que, la técnica no tuvo un buen valor diagnóstico para los animales positivos a PCR, por lo que se recomienda para la especie *Cavia porcellus*, realizar pruebas más específicas que permitan relacionar la interacción del agente y el hospedador como PCR e inmunohistoquímica.

“La técnica de inmunohistoquímica tiene la ventaja respecto a la observación de lesiones microscópicas, y posibilitar la detección de antígenos específicos en el sitio de la lesión, es decir, ver la lesión y el potencial del agente causal, y respecto a la Warthin Starry, hacer más sencilla la observación del antígeno”¹¹⁷.

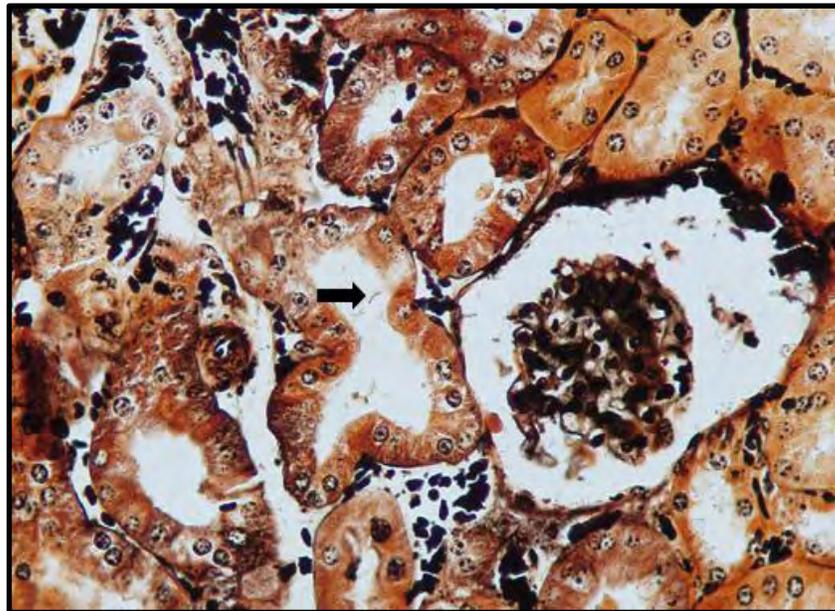
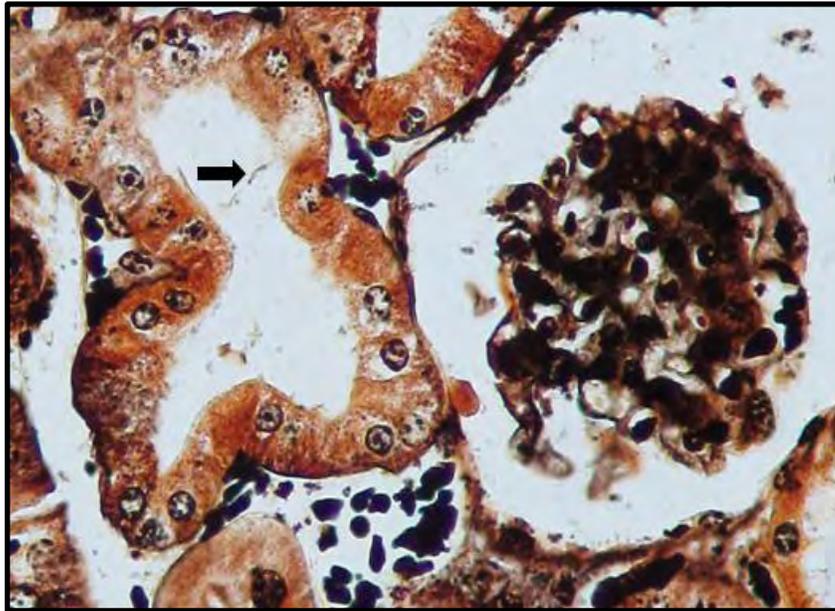
¹¹⁴ Ibid

¹¹⁵ MERIEN, Fabrice, et al. In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. In: FEMS Microbiology letters, December, 1998, vol. 169, no. 1, p 95-102.

¹¹⁶ TUCUNDUVA DE FARIA, M., et al. Op Cit.

¹¹⁷ DELGADO, Fernando; et al. Op. Cit.

Figura 26. Tinción de plata en tejido renal.



Tinción Warthin Starry riñón *Cavia Porcellus* 40X y 10X respectivamente. Presencia de *Leptospira interrogans* lumen túbulo contorneado proximal.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

Se afirma que la *Leptospira interrogans* desarrolla lesiones considerables en los cuyes de abasto. El hallazgo histopatológico que puede asociarse a la presencia del agente en los casos estudiados es la glomerulonefritis intersticial linfocítica.

Las lesiones histopatológicas vistas en los otros órganos se explican por agentes patológicos o factores exteriores concomitantes en cada caso.

Debido al tamaño de muestra del estudio, los resultados no son extrapolables a la población. Pero la información resultante del estudio puede ser de utilidad para próximas investigaciones de leptospirosis en cuyes de abasto.

La tinción de Warthin Starry no proporciono un valor diagnostico considerable en los 4 casos, debido a que la visualización del agente por medio de la prueba no fue tan evidente como lo es en otros casos.

La leptospirosis de curso natural en los cuyes de abasto es un reto para las investigaciones, debido a que no hay reportes al respecto y que el estudio actual es el primero sobre la temática de interés.

7.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios donde se puedan evaluar el pool completo de vísceras y correlacionar los hallazgos con la evolución clínica de los individuos en interés.

Se debe tener en cuenta la utilización de Inmunohistoquímica para poder observar la relación entre el daño tisular y la presencia del agente para futuras investigaciones. O se recomienda utilizar junto con la patología estudios complementarios con biología molecular que conlleven a un diagnóstico más preciso de la enfermedad.

Para tener una mejor denotación de las lesiones encontradas en el estudio se recomienda utilizar tinciones diferenciales para caracterizar con mayor precisión las lesiones.

BIBLIOGRAFÍA

- ACHA PEDRO Y SZYFRES, BORIS. Leptospirosis. En: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3 ed. Washington, DC.: Organización Panamericana de la Salud, 2001. 175-184 p.
- ADLER, B and DE LA PEÑA-MOCTEZUMA. *Leptospira*. In: Pathogenesis of bacterial infections animals. 3 ed. USA: Blackwell publishing, 2008. 391 p.
- ADLER, Ben and DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. In: Veterinary microbiology, January, 2010, vol. 140, no. 3-4, p 287-296.
- AGUDELO FLÓREZ, P; et al. Evidencia serológica de circulación de *Leptospira spp* en *Rattus norvegicus* naturalmente expuesto en una zona urbana colombiana. En: Revista salud pública, 2010, vol. 6, no. 12, p 990-999.
- AGUDELO FLÓREZ, Piedad, et al. Histopathological kidney alterations in rats naturally infected with *Leptospira*. In: Biomédica, September, 2013, vol. 33, supl. 1, p 82-88
- AHMED, Siti, et al. Rapid diagnosis of leptospirosis by multiplex PCR. In: The Malasyan journal of medical science, July-September, 2012, vol. 19, no. 3, p 9-16.
- ATHANAZIO, Daniel, et al. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. In: Acta tropical, February, 2008, vol. 105, no. 2, p 176-180.
- BELLO PIERUBUCCINI, Solmara y RODRIGUEZ VILLAMARIN, Flor. Manual de *Leptospira spp*. 1 ed. Colombia: Instituto Nacional de Salud, 2011. p 3-7.
- BEZERRA, Ana Lys, et al. Serology, polymerase chain reaction and histopathology for leptospirosis in samples collected at slaughter from dairy caows of Parnaiba region, state of Piauí, Brazil. In: Pesquisa veterinária brasileira, October, 2011, vol. 31, no. 10, p 859-866.
- BHARTI, Ajay, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. In: The lancet infectious diseases, December, 2003, vol. 3, no, p 757-771.
- BOONSILP, Siriphan, et al. Molecular detection and speciation of pathogenic *Leptospira spp*. in blood from patients with culture-negative leptospirosis. In: BCM Infectious diseases, December, 2011, vol. 11, no, p 338-346.
- CAYCEDO VALLEJO, Alberto. El Cuy Historia, Cultura y Futuro Regional, Colombia: Alcaldía Municipal de Pasto, 2004. p. 22. Citado por MORILLO, Felix. Proyecto empresarial para la creación de una producción tecnificada de cuy (*Cavia*

porcellus) en el municipio de Pilcuan (Nariño). Tesis de especialización. Colombia: Bogotá D.C. Universidad de La Salle. Facultad de administración de ciencias agropecuarias. 2007. 15 p.

CÉSPEDES Z, Manuel. Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Reemergente En: Rev Perú Med Exp Salud Publica, 2005, vol. 22, no. 4, p 290-307.

CHAGAS-JUNIOR, Aduzuar, et al. Detection and quantification of *Leptospira interrogans* in hamster and rat kidney samples: Immunofluorescent imprints versus real-time PCR. In: PLOS ONE, February, 2012, vol. 7, Iss. 2, p 1-5.

CHAUCA DE ZALDIVAR, Lilia. Sanidad en cuyes. En: Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). 1 ed. Peru: FAO, 1997. 63 p.

CHIRATHAWOM, Chintana, et al. Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. In: Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, May, 2014, vol. 4, suppl. 1, p S162-S164.

COSSON, Jean-Francois, et al. Epidemiology of *Leptospira* transmitted by rodents in Southeast Asia. In: PLOS Neglected Tropical Diseases, June, 2014, Vol. 8, Issue. 6 , p 1-10.

DELGADO, Fernando, et al. Adaptación de un protocolo de inmunohistoquímica para la detección de *Leptospira* spp. en muestras de tejido fijado en formaldehído. En: Revista cubana de medicina tropical, Abril, 2007, vol. 59, no. 1, p 1-8.

EVANGELISTA, Karen and COBURN, Jenifer. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. In: Future microbial, September, 2010, vol. 5, no. 9, p 1413-1425.

GREENE, Craig E, et. al. Leptospirosis. In: Infectious diseases of the dog and cat. 4 ed. Santa Louis: ELSEVIER/SAUNDERS, 2012. 431 p.

INSTITUTO DEPARTAMENTAL DE SALUD, Informe Gerencial Trimestral Consolidado para el nivel Nacional/ Nariño (IDSN). Versión 01. Colombia (25 de noviembre 2010).

JORGE, Sérgio, et al. *Leptospira borgpetersenii* from free-living White-eared opossum (*Didelphis albiventris*): First isolation in Brazil. In: Acta Tropica, November, 2012, vol. 124, no. 2, p 147-151.

KHALILI, Mohammad, et al. Seroprevalence of bovine leptospiral antibodies by microscopic agglutination test in Southeast of Iran. In: Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, May, 2014, vol. 4, no. 5, p 354-357.

KO, Albert I.; GOARANT, Cyrille and PICARDEAU Mathieu. *Leptospira* the Dawn of Molecular Genetics Era for an Emerging Zoonotic Pathogen. In: Nat Rev Microbiol, 2009, vol. 7, no. 10, p 736–747.

LEFEBVRE, Rance B. Spiral-Curved Organisms V: *Leptospira*. In: MCVEY, S.; KENNEDY, M. and CHENGAPPA, M.M. Veterinary Microbiology. 3 ed. New Delhi: Jhon Wiley & Sons, 2013. 179-182 p.

LEVETT, Paul. Leptospirosis. In: Clinical Microbiology reviews, April, 2001, vol. 14, no. 2, p 296-326.

LITTLE, Susan E. The Cat: Clinical Medicine and Management. Canada: Saunders Elsevier, 2012. 958 p.

LOMAR, A.V.; DIAMENT, D. and TORRES, J.R. Leptospirosis in Latin America. In: Infectious disease clinics of North America, March, 2000, vol. 14, no. 1, p 23-39.

LÓPEZ DE BURITICA, C; et al. Sanidad. En: Explotación tecnificada de cuyes, Manual de asistencia técnica. Colombia: CORPOICA, 2003. p 32.

LOURDAULT, Kristel; AVIAT, Florence and PICARDEAU, Mathieu. Use of quantitative real-time PCR for studying the dissemination of *Leptospira interrogans* in the guinea pig infection model of leptospirosis. In: Journal of medical microbiology, May, 2009, vol. 58, pt. 5, p 648-655.

MARKEY, Bryan, et al. The spirochaetes. In: Clinical veterinary microbiology. 2 ed. Edinburgh: MOSBY/ELSEVIER, 2013. 381-385 p.

MAYER-SCHOLL, Anne, et al. *Leptospira* spp. in Rodents and shrews in Germany. En: International Journal of Environmental Research and Public Health, 2014, vol. 11, no. 8, p 7568-7569.

MEDRANO G., Catalina; DÍAZ R., Cesar A. y DALMAU B., Ernesto A. Diagnóstico de leptospirosis canina por medio de las técnicas Dot-ELISA y MAT en perros con enfermedad renal en Bogotá. En: Revista de Medicina Veterinaria, Enero-Junio, 2011, no. 21, p 133-145.

MEREDITH, Anna and REDROBE, Sharon. BSAVA Manual of Exotic Pets. 4 ed. England: BSAVA, 2002. 84 p.

MERIEN, Fabrice, et al. In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. In: FEMS Microbiology letters, December, 1998, vol. 169, no. 1, p 95-102.

MORENO, Natali y AGUDELO-FLÓREZ, Piedad. Aplicación de las pruebas de PCR convencional simple y multiple para la identificación de aislamientos de *Leptospira* spp. en Colombia. En: Revista peruana de medicina experimental y salud pública, 2010, vol. 27, no. 4, p 548-556.

MUSSO, Didier and LA SCOLA, Bernard. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. In: Journal of microbiology, immunology and infection, August, 2013, vol. 43, no. 4, p 245-252.

NALLY, Jarlath E., et al. Alveolar septal deposition of immunoglobulin and complement parallels pulmonary hemorrhage in a guinea pig model of severe pulmonary leptospirosis. In: American journal of pathology, March, 2004, vol. 163, no. 4, p 115-1127.

OCHOA, Jesús; SANCHEZ, Antonio y RUIZ, Iván. Epidemiología de la Leptospirosis en una Zona Andina de Producción Pecuaria. En: Revista de la Asociación Colombiana de Infectología. Junio, 2001, vol. 5, No. 2, p 1-15.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. Leptospirosis. En: Manual de las pruebas diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres 2013. Vol. 1. OIE. 2008. p 1.

ORTIZ RESTREPO, Celeny, et. al. Evidencia de *Leptosipira* en riñones de roedores urbanos y rurales de tres municipios de Urabá Antioqueño, Colombia: Microbiología e Inmunología. En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2011, vol. 24, no. 3. p 460.

PADILLA-CARLIN, D; et al. The guinea pig as a model infectious diseases. In: The American Association for Laboratory Animal Science, 2008, vol. 58, no. 4, p 324-340.

PERCY, Dean H and BARTHOLD, Stephen W. En: Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits, Third Edition, USA. 2007. p 218

QUINN, P.J., et al. Spirochaetes. In: Veterinary microbiology and microbial disease. 2 ed. UK: Wiley-Blackwell, 2011. 478-481p.

RAMOS-VARA, J. A. Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. In: Journal of veterinary diagnostic investigation, July, 2008, vol. 20, no. 4, p 393-413.

RAMOS-VARA, J. A. Technical aspect of immunohistochemistry. In: Veterinary pathology, July, 2005, vol. 42, no. 4, p 405-426.

RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, German. Estado actual de la leptospirosis, En: Revista MVZ-Córdoba, 2000, vol. 5, no. 1, p 61-63.

ROMERO-VIVAS, Claudia, et. al. Molecular serovar characterization of *Leptospira* isolates from animals and water in Colombia. In: Biomédica, 2013, vol. 33, no. 1, p 179-194.

ROSARIO, Luis, et al. Estudio anatomopatológico de aislados de *Leptospira spp.*, provenientes de Nicaragua en *Mesocricetus auratus* como biomodelo. En: Revista MVZ Córdoba, Mayo-Agosto, 2013, vol. 18, no. 2, p 3484-3491.

ROSAS C, Carlos; VASQUEZ, P y DEL SOL, Mariano. Descripción histológica e histoquímica del hígado de cobayo (*Cavia porcellus*). En: Int. J. Morphol., 2010, vol. 28, no. 1, p 151-156.

SILVA, Everton F. Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in hamster model. In: Vaccine, 2008, vol. 26, no. 31, p 3892-3896.

SUCKOW, Mark A., STEVENS, Karla A., WILSON, Ronald P. En: The Laboratory Rabbit, Guinea pig, Hamster, and other Rodents. USA. 2012 p 587-588

TERUSZKIN B., Ilana; VITAL-BRAZIL, Juliana and PEREIRA, Martha. Leptospirosis diagnosis by immunocapture polymerase chain reaction: a new tool for early diagnosis and epidemiologic surveillance. In: Diagnostic microbiology and infectious disease, September, 2012, vol. 74, no, p 11-15.

TUCUNDUVA DE FARIA, M., et al. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. In: Journal of comparative pathology, December, 2007, vol. 137, no. 4, p 231-238.

TUCUNDUVA DE FARIA, M., et al. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. In: Journal of comparative pathology, December, 2007, vol. 137, no. 4, p 231-238.

VEERAPPA, Suman and PERWEZ, Khalid. Leptospirosis diagnosis: competency of various laboratory tests. In: Journal of clinical diagnostic research, January, 2014, vol. 8, no. 1, p 199-202.

WEBSTER, Joshua, et al. Effects of prolonged formalin fixation on diagnostic immunohistochemistry in domestic animals. In: Journal of histochemistry & cytochemistry, August, 2009, vol. 57, no. 8, p 753-761.

WEESE, J. Scott and FULFORD, Martha B. Bacterial diseases. In: Companion animal zoonoses. USA: Wiley-Blackwell, 2011. 157-164 p.

WESCHE, Petra. Rodents: Clinical pathology. In: KEEBLE, Emma and MEREDITH Anna. BSAVA Manual of Rodents and Ferrets. England: BSAVA, 2009. 48 p.

WINN, Washington, et al. Infecciones producidas por espiroquetas. En: Koneman diagnóstico microbiológico. 6 ed. Madrid: Editorial Medica Panamericana, 2006. 1094 p.

YANG, Hong-Liang, et al. Thrombocytopenia in the experimental leptospirosis of guinea pig is not related to disseminated intravascular coagulation. In: BMC Infectious diseases, February, 2006, vol. 6, no. 19, p 1-9

ZAVITSANOU, Assimina and BABATSIKOU, Fotoula. Leptospirosis: Epidemiology and preventive measures, En: Health Science Journal, 2008, vol. 2, Issue 2, p 75-82.

ZUNINO, Enna y PIZARRO, Rolando. Leptospirosis. Puesta al día. En: Revista chilena de infectología, Junio, 2007, vol. 24, no. 3, p 220-226.