

DETERMINACIÓN DE LEPTOSPIROSIS EN ROEDORES Y MARSUPIALES DE LA REGIÓN SUR DEL LAGO DE MARACAIBO, ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA

Leptospirosis Determination in Rodents and Marsupials from Southern Maracaibo Lake Region, Merida State, Venezuela

Carolina Valbuena-Torrealba¹ y Jaime Eduardo Péfaur-Vega^{1*}

¹Grupo de Ecología Animal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. * pefaur@ula.ve

RESUMEN

Para un entendimiento integral de la leptospirosis en animales silvestres son necesarios estudios poblacionales de reservorios que permitan determinar la diseminación del patógeno, el contacto entre reservorios y el intercambio de vectores. En este estudio se realizó un muestreo de pequeños roedores y marsupiales, a objeto de determinar la presencia de *Leptospira interrogans* sensu lato en el Sur del Lago de Maracaibo, estado Mérida, Venezuela. Las colectas se hicieron durante tres noches consecutivas mensuales por seis meses, con la instalación de 100 trampas sobre una hectárea cuadrículada en hileras y filas separadas diez metros entre sí. Se colectaron 86 animales que incluyeron a dos especies de roedores y dos de marsupiales. Se procesaron 39 especímenes con muestras para cultivo del hígado, bazo y riñones; para la serología se obtuvo suero sanguíneo con detección de anticuerpos mediante la prueba de microaglutinación de antígenos. Se aislaron seis cepas de *Leptospira interrogans* (18%), pertenecientes al serogrupo Grippotyphosa (100%), correspondientes a cultivos de *Holochilus sciureus* y *Zygodontomys brevicauda*. La serología fue negativa para todos los ejemplares, incluyendo aquellos que tenían cultivo positivo. La presencia de la serovariedad Grippotyphosa en infecciones por *L. interrogans* sensu lato ha sido asociada al uso de aguas contaminadas y la presencia de perros; ambos factores estuvieron presentes en el área de estudio, representando un alto riesgo de contaminación por esta serovariedad. El uso común del hábitat por las diferentes especies pudiera ser la causa que el 100% de los aislamientos bacteriológicos pertenecieran a un solo serogrupo, Grippotyphosa. La extensa distribución de *Zygodontomys brevicauda* y *Holo-*

chilus sciureus en la zona y la estrecha interrelación entre las distintas especies de pequeños mamíferos, pueden ser factores importantes en la transmisión de *Leptospira interrogans* sensu lato, señalando un potencial peligro de transmisión hacia los humanos.

Palabras clave: Leptospirosis, serogrupo Grippotyphosa, Región del Sur del Lago de Maracaibo, *Zygodontomys brevicauda*, *Holochilus sciureus*.

ABSTRACT

In order to have an integral understanding of wildlife leptospirosis, reservoir population studies are needed to determine the pathogen dissemination, the contact among reservoirs and the interchange of vectors. In this study, a wild rodents and marsupials sampling was undertaken to determine the presence of *Leptospira interrogans* sensu lato in the Southern Maracaibo Lake Region, Mérida State, Venezuela. The capture of mammals was made using 100 traps in an equal-size quadrant sampling, with columns and lines separated 10 m from one another, during three consecutive nights every month along six months. Eighty six animals were captured comprising two rodent and two marsupial species. Samples from liver, spleen and kidneys were obtained for culture, while samples for antibodies detection by microscopic agglutination test were obtained from blood serum. After the processing of 39 mammal specimens, six *Leptospira interrogans* sensu lato (18%) of the Grippotyphosa serogroup (100%) were obtained in *Holochilus sciureus* and *Zygodontomys brevicauda* species. The serology was negative for all evaluated animals, including those culture positive. Presence of a Grippotyphosa serovar in animals infected with *L. interrogans* sensu lato has been associated with use of contaminated waters and the presence of

dogs. Both factors were present in the study area, representing a high risk of infection for this serovar. The use of a common habitat by these species could be the reason that 100% of the bacterial isolates belonged to only one serogroup, Grippotyphosa. The extense distribution of the wild rodents *Zygodontomys brevicauda* and *Holochilus sciureus* in the region and the strong interrelation among the diverse small mammal species, could be important elements in the transmission of *L. interrogans* sensu lato among them, and a warning about potential transmission toward humans.

Key words: Leptospirosis, Grippotyphosa, Southern Maracaibo Lake Region, *Zygodontomys brevicauda*, *Holochilus sciureus*.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, causada por la espiroqueta *Leptospira interrogans* sensu lato, de la familia Leptospiraceae, orden Spirochaetales. La unidad taxonómica en *Leptospira* spp es la serovariedad o variante serológica, las cuales se reúnen en serogrupos [2, 26]. Su determinación se logra por la prueba de aglutinación-adsorción cruzada para determinadas serovariedades. La transmisión de *L. interrogans* sensu lato puede ser directa, por contacto con la orina o material infectante de animales portadores o reservorios, o indirectamente por contacto con aguas o alimentos contaminados [44], aún cuando *Leptospira* spp puede penetrar a través de las mucosas y por la piel reblandecida o escoriada. En los animales también se da el contagio a través de la vía venérea, transplacentaria y/o por contacto con descargas uterinas postaborto [16, 23, 31, 33].

Como en muchas otras zoonosis, existen condiciones ecológicas predisponentes para esta enfermedad [11, 28, 44, 47, 48]. La transmisión de *Leptospira* spp se incrementa en períodos lluviosos, en ambientes con bajo drenaje y alta capacidad de mantenimiento de agua en el suelo, donde se producen inundaciones, en lugares cálidos y donde haya alta densidad de animales susceptibles y/o portadores [11, 28, 44, 48].

Diversas especies de la fauna silvestre, tales como roedores, quirópteros, carnívoros, ungulados, aves, reptiles, anfibios y peces, han sido señalados como cursantes de leptospirosis o como hospedadores de *Leptospira interrogans* sensu lato [11, 15, 21, 22, 29, 44, 45, 47]. En roedores y marsupiales silvestres se han identificado serovariedades de los serogrupos Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa y Canicola [17, 21, 22, 25, 41]. Las serovariedades Georgia, Canicola, Bratislava, y Pomona han sido también aislados en marsupiales [21, 22, 25, 34]. Las ratas *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*, y ratones *Mus musculus*, son generalmente portadores de *Leptospira interrogans* serovariedad Icterohaemorrhagiae [36, 41, 45, 47].

La existencia de una cadena de infección desde los animales silvestres al ganado hace más preocupante a esta zoo-

nosis. La leptospirosis en el ganado produce abortos, nacimientos prematuros, crías débiles, pérdida de la fertilidad, alta mortalidad e infección inaparente en las crías [16, 21, 31, 33]. Las pérdidas económicas producidas por esta enfermedad en el área ganadera son cuantiosas.

Esta amplitud de reservorios es potencialmente peligrosa para los humanos, existiendo un incremento en los casos de leptospirosis a nivel mundial [2, 13, 14, 29, 41]. Por la gran biodiversidad de fauna en los países neotropicales, incluida Venezuela, se requiere efectuar más estudios relacionados con las zoonosis silvestres. Con el fin de efectuar una mejor planificación en el control de roedores y otros animales existentes en un área específica, se necesita conocer la especie infectante, su biología y su comportamiento [34]. A la vez, el control de la leptospirosis en los animales domésticos repercutirá en la disminución de su incidencia de morbi-mortalidad en la población humana, si las acciones se enfocan en tres niveles de la cadena de transmisión: reservorios, vías de transmisión y hospedadores susceptibles. Por lo antes expuesto, se procedió a realizar un estudio en posibles reservorios, específicamente en roedores y marsupiales asociados a explotaciones agrícolas, a objeto de determinar serovariedades y serogrupos de *Leptospira interrogans* sensu lato circulantes entre las especies de animales capturados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Para desarrollar esta investigación se seleccionó una finca en la zona Sur del Lago de Maracaibo (8° 38' LN, 71° 39' LW), municipio Alberto Adriani, estado Mérida, Venezuela. La región correspondía a un bosque húmedo tropical, transformada en potreros de gramíneas en suelos cenagosos, con árboles de 20 a 30 m de altura en los linderos e islas de *Heliconia* spp., caracterizada por abundantes ríos, arroyos y caños [32]. El drenaje lento, junto a elevadas precipitaciones son causas de inundaciones. Los potreros se manejan en un sistema de rotación para el ganado, cuya alimentación no contempla suplementos concentrados. Coincidentalmente, la zona seleccionada fue una de las que presentó mayor índice de seropositividad en un estudio seroepidemiológico de leptospirosis realizado en bovinos [3, 40].

Metodología de campo

Para el trapeo de mamíferos se utilizó el Método Standard Minimum [5], cuadrículando el terreno en hileras y filas separadas diez metros entre sí; en cada intersección se instaló una trampa, para un total de 100 trampas, 60 de alambre tipo National® y 40 de aluminio tipo Sherman®. El área total muestreada fue una hectárea. El proceso de captura se realizó durante tres noches consecutivas cada mes, por un período de seis meses (noviembre a abril), para un total de 18 noches de captura con 1228 trampas/noches totales. Las

trampas fueron cebadas cada tarde con una mezcla de sardinas (*Sardinella anchovia*) y avena (*Avena sativa*) humedecida. Los animales capturados fueron removidos del lugar en la mañana y restituidas las trampas.

Metodología de laboratorio

Los animales colectados se trasladaron al laboratorio de Zoonosis de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, Mérida (ULA), donde se anestesiaron en cámara de cloroformo para extraer totalmente la sangre por punción cardíaca y luego realizar la necropsia. Los especímenes fueron procesados de acuerdo al Protocolo de la Comisión de Ética y Bioseguridad del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y Artístico (CDCHTA) de la ULA. Posteriormente, los ejemplares utilizados fueron incluidos en la Colección de Vertebrados de la ULA, donde se les otorgó la correspondiente numeración para su reconocimiento como evidencia de este estudio. Las muestras para cultivo se obtuvieron del hígado, bazo y riñones en medio Fletcher semisólido, 10% suero de conejo (*Oryctolagus cuniculus*) con y sin 5'-Fluorouracilo, mientras que para la serología se obtuvo suero sanguíneo para la detección de anticuerpos mediante la prueba de microaglutinación de antígenos vivos (Microscopic Agglutination Test= MAT). Los sueros fueron congelados a - 18°C (Congelador marca Electrolux, modelo H420, Código 06406 KVC tipo Freezer Com HORIZ, TNC= 920404743, Número Serie 65000265, Venezuela) hasta su procesamiento.

Para identificar a *Leptospira* spp mediante aislamiento, se utilizaron los medios Fletcher semisólido y EMJH (Ellinghausen-McCullough-Jhonson-Harris). Los aislamientos fueron determinados hasta serogrupo mediante MAT con sueros hiperinmunes contra los serogrupos Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Canicola, Tarassovi, Hebdomadis y Patoc (*Leptospira biflexa*) y las serovariedades Castelloni (serogrupo Ballum) y Hardjo (serogrupo Sejroe). La prueba para la detección de anticuerpos anti-*L. interrogans* sensu lato en pequeños mamíferos es similar a la empleada en humanos, excepto que la dilución de trabajo utilizada para la prueba pantalla fue 1:5 en SSB (solución balanceada de

sales), para una dilución final en la prueba de 1:10. Se utilizó esta dilución porque la respuesta inmunitaria en animales silvestres es baja [29]. Las pruebas serológicas e identificación de cultivos fueron realizadas en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, utilizando la metodología de Aranguren y col. [4].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pequeños mamíferos están entre los reservorios más importantes de microorganismos que causan enfermedades [2, 19, 46], siendo particularmente numerosos en especies, algunas de las cuales tienen extensas distribuciones en el neotrópico americano [24, 32]; la situación ecoepidemiológica planteada por estos animales es compleja por la diversidad taxonómica y el uso común de nichos espaciales [5, 7, 9, 24, 36, 44].

El trabajo de campo rindió una captura de 86 ejemplares en una hectárea de terreno anegadizo; se colectaron dos especies de roedores y dos especies de marsupiales (TABLA I), que necesariamente entraban en contacto y por lo tanto pudieran diseminar entre sus miembros los organismos patógenos de los que eran reservorios. El promedio de capturas por noche fue de 4,77 animales, obteniéndose un éxito de captura de 7%, que indica el gran tamaño poblacional que las especies presentaban. La distribución espacial de las especies colectadas mostró una sobreposición de los nichos espaciales en el área de trampeo. La especie más capturada fue *Zygodontomys brevicauda* (86%).

Se procesaron serológicamente 37 roedores y 2 marsupiales, 24 machos y 15 hembras, con aislamiento de siete cepas de *Leptospira interrogans* sensu lato (18%), perdiéndose una por contaminación. Los seis cultivos identificados pertenecieron al serogrupo Grippotyphosa (100%), correspondientes al cultivo de un macho *Holochilus sciureus* y a los cultivos de cinco machos *Zygodontomys brevicauda*. La cepa obtenida en *Marmosa robinsoni* fue perdida por contaminación del cultivo. La serología fue negativa para todos los ejemplares

TABLA I
CULTIVOS DE *Leptospira interrogans* sensu lato EN MARSUPIALES Y ROEDORES COLECTADOS EN LA REGIÓN SUR DEL LAGO DE MARACAIBO, MÉRIDA, VENEZUELA

Especie	Nº de Individuos			
	Colectados	Procesados	Positivos	%
<i>Zygodontomys brevicauda</i>	74	34	5	14,70
<i>Holochilus sciureus</i>	8	3	1	33,00
<i>Marmosa robinsoni</i>	3	2	1*	50,00
<i>Monodelphis brevicaudata</i>	1	-	-	-
Total	86	39	7	17,94
Orden Rodentia (Roedores)	82	37	6	16,21
Orden Didelphimorphia (Marsupiales)	4	2	1*	50,00

* Cepa perdida por contaminación del cultivo.

procesados, tanto roedores como marsupiales, incluyendo aquellos que tenían cultivo positivo (TABLA I).

A pesar que el título en la MAT de la cepa obtenida del ejemplar *Zygodontomys brevicauda* I-6465 fue de 3200, contrastante con los valores obtenidos para los otros ejemplares, se la identificó como perteneciente al serogrupo Grippotyphosa debido a que la reacción frente a los sueros hiperinmunes de los otros serogrupos fue negativa, aún a concentraciones elevadas (TABLA II).

Por mucho tiempo, la mayoría de los estudios de leptospirosis se centraron en las ratas *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* [14, 20, 29, 30, 36, 41, 43, 44, 45, 47], donde ha sido comprobada la presencia de la serovariedad Icterohaemorrhagiae [26, 34, 36, 41, 44, 45, 47], así como las serovariedades Hebdomadis, Javanica, Australis, Bataviae, Canicola, y Pomona [34, 39]. Otros autores han aislado leptospiras de los serogrupos Ballum, Autumnalis y Canicola [18].

Diversos géneros y especies de roedores silvestres han sido señalados como reservorios de *Leptospira* spp [29, 35, 47]. Faine [10] señala a los géneros *Zygodontomys*, *Akodon*, *Oryzomys* y *Proechimys* como portadores de leptospiras en Sur América. El serogrupo Grippotyphosa es el que ha sido identificado con más frecuencia y abundancia en animales silvestres [17, 42], lo que es concordante con los resultados obtenidos en este estudio, donde las especies *Zygodontomys brevicauda* y *Holochilus sciureus* manifestaron la presencia de este serogrupo. Santa Rosa y col. [38] aislaron también a los serogrupos Ballum e Icterohaemorrhagiae en roedores silvestres de Brasil. En otra investigación realizada por Zamora y Riedemann [47] en diferentes especies de roedores silvestres de Chile, encontraron como más prevalente la serovariedad *Pomona*, seguida en orden descendente por *Canicola*, *Hardjo*, *Javanica*, *Icterohaemorrhagiae* y *Tarassovi*. Esta amplitud de presencia bacteriológica concuerda con Faine [10] y Rojas y col. [34], quienes indican que una serovariedad puede ser mantenida en diferentes especies de animales en regiones geográficas disímiles.

La presencia de la serovariedad Grippotyphosa en infecciones por *L. interrogans* ha sido asociada al uso de aguas de

pozos o ríos y a la presencia de perros (*Canis lupus familiaris*) en las casas [28], así como a la presencia de zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*), que se comportan también como importantes reservorios de leptospirosis silvestre [1, 25, 27]. Todos estos factores se observaron en el área donde se realizó el presente estudio, representando un alto riesgo de infección por esta serovariedad, asociado a la extensa distribución de *Zygodontomys brevicauda* en la zona del Sur del Lago de Maracaibo [5, 7, 8, 24, 32].

En esta investigación, los animales con aislamiento de *Leptospira interrogans* sensu lato resultaron ser machos, aún cuando la diferencia entre la cantidad de hembras (15) y machos (24) procesados no fue mayor. En un estudio sobre leptospirosis en ratas silvestres *Apodemus* spp., *Microtus arvalis* y *Clethrionomys glareolus*, Stanko y col. [42] no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* spp de los machos y las hembras de esas especies.

En el presente trabajo, se obtuvo un 17,94% de aislamientos de *Leptospira interrogans* sensu lato para las cuatro especies estudiadas, y de 16,21% para los roedores, similar al resultado de 16% obtenido por Zamora y Riedemann [46], los cuales son valores elevados comparados con aquellos referidos por Cho y col. [6] de 9,9% de aislamientos en *Apodemus agrarius*, y de 3,25% obtenido por Santa Rosa y col. [38, 39] en roedores y marsupiales. Estas diferencias pueden deberse— al menos en el caso de Santa Rosa y col. [38]- a condiciones de ensayo no estandarizadas y al tipo de metodología utilizada, debido a que no realizaron el experimento por duplicado o triplicado, además de no utilizar inhibidores de contaminantes como el 5'-Fluorouracilo o la Neomicina. Otras posibles causas son: a) el lugar geográfico donde se efectuaron los trabajos; el desconocer la descripción detallada del área de estudio, no permite comparar los resultados desde el punto de vista ecológico; b) el tiempo durante el cual se realizaron los estudios; al desconocerse si los animales fueron colectados en un período largo, hace pensar que la densidad poblacional de los animales en el área era muy baja, situación que contribuye a la posibilidad de no detectar animales infec-

TABLA II

RESULTADOS DE LA MAT CON SUEROS HIPERINMUNES DE CULTIVOS DE *Leptospira interrogans* sensu lato AISLADOS DE ROEDORES SILVESTRES COLECTADOS EN LA REGIÓN SUR DEL LAGO DE MARACAIBO, MÉRIDA, VENEZUELA

Nº Idx	sp.	Sexo	Ict	Grip	Can	Tar	Cast	Heb	Hard	Patoc
I-6462	Hs	♂	-	12400	-	-	-	-	-	-
I-6463	Zb	♂	-	24600	-	-	-	-	-	-
I-6464	Zb	♂	-	12400	-	-	-	-	-	-
I-6465	Zb	♂	-	3200	-	-	-	-	-	-
I-6466	Zb	♂	-	51200	-	-	-	-	-	-
I-6467	Zb	♂	-	51200	-	-	-	-	-	-

Nº Idx: Número de Identificación del ejemplar depositado en la Colección de Vertebrados (CVULA), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; sp.: Especie; Hs: *Holochilus sciureus*; Zb: *Zygodontomys brevicauda*; Ict: Icterohaemorrhagiae; Grip: Grippotyphosa; Can: Canicola; Tar: Tarassovi; Cast: Castelloni; Heb: Hebdomadis; Hard: Hardjo; Patoc: cepa de *Leptospira biflexa*.

tados, ya sea por el tamaño poblacional o por fallas en el método de colecta; y c) en el caso de algunas especies, el escaso número de ejemplares utilizados en los análisis puede ser un factor importante para dar resultados diferentes.

Aún cuando los porcentajes de seropositividad contra *Leptospira interrogans* sensu lato obtenidos mediante serología en animales silvestres generalmente son elevados, esta prueba no es indicativa de infección actual sino de presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* sensu lato, ya sea reciente o de tiempo antes de realización de la prueba. También ocurre frecuentemente la ausencia de respuesta inmunitaria, aún en presencia de aislamientos de *Leptospira* spp [26], como ocurrió en el presente trabajo, en el que ninguno de los animales con cultivo positivo de *Leptospira interrogans* serogrupo Grippotyphosa presentó niveles detectables de anticuerpos mediante la prueba MAT. Se desconoce la razón del porqué algunos animales reaccionan ante una serovariedad de *Leptospira* spp. y no ante otros, o bien es tolerante o simplemente no reacciona. La respuesta inmunitaria anti-*Leptospira* spp detectada en animales silvestres continúa manifestando incógnitas, requiriéndose nuevas investigaciones con enfoques genéticos y bioquímicos novedosos para resolver estas dudas [49].

Dado que el porcentaje de aislamiento de leptospiras en *Zygodontomys brevicauda* fue de casi un 15%, y debido a su gran tamaño poblacional [5, 7, 8], esta especie debe ser considerada como un potencial transmisor de leptospirosis, además de ser reservorio de otras enfermedades como hantavirus [12] y fiebre hemorrágica venezolana [37]. En contraste con Santa Rosa y col. [38], quienes no encontraron esta bacteria en *Holochilus brasiliensis*, en el presente trabajo se aisló una cepa de *Leptospira interrogans* sensu lato en *Holochilus sciureus* con un 33% de positividad. Frente a estos valores de positividad y a la frecuencia de inundaciones y anegabilidad de los ambientes del Sur del Lago de Maracaibo existe la posibilidad de que *Zygodontomys brevicauda* y *Holochilus sciureus* se conviertan en plagas [5, 8, 24], con impredecibles consecuencias sanitarias para la población humana.

Todos los ejemplares mamíferos colectados en este estudio provenían de un mismo sector geográfico; por ello, el uso común del hábitat por las diferentes especies pudiera ser la causa de que el 100% de los aislamientos serológicos pertenecieran a un solo serogrupo, Grippotyphosa. La estrecha interrelación de los individuos de las diferentes especies puede ser un factor importante en la transmisión intrapoblacional de *Leptospira interrogans* sensu lato. El uso común de ambientes [5] contaminados por orina, la potencial transmisión del patógeno por otros vectores, pudieran ser explicaciones de la presencia de sólo un serogrupo en estas poblaciones de pequeños mamíferos.

En Venezuela no se habían realizado estudios de leptospirosis en animales silvestres de manera previa al presente trabajo; de esta manera, este trabajo es pionero y resalta al detectar la presencia de esta infección en roedores y marsupiales silvestres, lo que conlleva a impulsar nuevas investiga-

ciones de zoonosis en la región del Sur del Lago de Maracaibo, y en el resto del país. Para una comprensión integral de la leptospirosis deberían realizarse estudios de densidad y dinámica poblacional de posibles reservorios en las diversas especies de pequeños mamíferos silvestres [5, 7, 8, 9], de su distribución geográfica, así como estudios del contacto entre reservorios y el intercambio de vectores [35], lo que contribuiría a determinar la capacidad potencial de diseminación del agente patógeno. Este proceso es fundamental para la elaboración de modelos de transmisión de la enfermedad, incluyendo el desarrollo de modelos predictivos, elaboración de programas de profilaxis y controles ecoepidemiológicos de la enfermedad [2, 35].

CONCLUSIONES

El alto porcentaje de aislamientos de *Leptospira* spp en los roedores silvestres *Zygodontomys brevicauda* y *Holochilus sciureus*, sus grandes tamaños poblacionales y amplias distribuciones geográficas en el territorio nacional (que abarcan incluso a países vecinos), implica que ambas especies deben ser consideradas como reservorios y potenciales transmisores de la leptospirosis.

Es posible detectar animales con cultivo positivo de *Leptospira interrogans* sensu lato pero con niveles no detectables de anticuerpos. Aún se desconoce la razón por la que ciertas especies de animales silvestres reaccionan ante una serovariedad de *Leptospira* spp y ante otras, o bien se comportan como tolerantes, o simplemente no reaccionan. Puesto que la respuesta inmunitaria en la fauna silvestre todavía no ha sido bien estudiada, se requieren más investigaciones con enfoques genéticos y bioquímicos que permitan resolver esta duda.

La infección por *Leptospira* spp en los pequeños mamíferos estudiados, donde existen extensos territorios anegados o cenagosos, e incluso presencia de otros potenciales reservorios, como *Didelphis marsupialis*, hace de la zona Sur del Lago de Maracaibo una extensa área con potencial existencia de leptospirosis, tanto en el ganado como en los humanos asociados a labores agrícolas y ganaderas.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA), de la Universidad de Los Andes (ULA) por el aporte financiero a través del Proyecto Código C-950-99-01 Em.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABEL, I.S.; MARZAGÃO, G.; YOSHINARI, H.H.; SCHUMAKER, T.T.S. *Borrelia* like spirochetes recovered from ticks and small mammals collected in the Atlantic Forest Reserve, Cotia Country, State of São Paulo, Brazil. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*. 95:621-624. 2000.

- [2] ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Bacteriosis y micosis. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre ya los animales. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo. 43(6): 338-338. 2001.
- [3] ANDUEZA, F.; LUGO, A.; SEALEY, M.; TREJO, E.; DÁVILA, A.; ARANGUREN, Y.; LÓPEZ, R.; BOLÍVAR, R. Resultados de la encuesta seroepidemiológica de leptospirosis bovina realizadas en el Municipio Alberto Adriani del estado Mérida. **Memorias I Taller Regional de Leptospirosis Bovina. Sur del Lago.** ASODEGA. El Vigía, Mérida, Venezuela. 120 pp. 21/05/1996.
- [4] ARANGUREN, Y.; LÓPEZ, E.; MOROS, R. Identificación de cultivos. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas. Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia. Mérida. **Manual del Curso de Diagnóstico de Laboratorio de leptospirosis humana.** 74 pp. 1995.
- [5] BELANDRIA, A.; PÉFAUR, J.E.; RIVAS, B. Pequeños mamíferos epigeos de la Región del Sur del Lago de Maracaibo: Composición y estructura de sus comunidades en un bosque secundario y un pastizal. Editorial Académica Española, Lap Lambert Academic Publishing, Saarbrücken, Alemania. 147 pp. 2012.
- [6] CHO, M.; KEE, S.; SONG, H.; KIM, K.; SONG, K.; BACK, L.; KIM, H.; OH, H.; KIM, Y.; CHANG, W. Infection rate of *Leptospira interrogans* in the field rodent, *Apodemus agrarius*, in Korea. **Epidemiol. Infect.** 121(3):685-690. 1998.
- [7] DURANT, P.; DÍAZ, A. Aspectos de la ecología de roedores y musarañas de las cuencas hidrográficas andino-venezolanas. **Carib. J. Sci.** 31(1-2):83-94. 1995.
- [8] DURANT, P.; DÍAZ, A.; DÍAZ DE P., A. Informaciones ecológicas en dos poblaciones de *Zygodontomys microtinus* (Rodentia: Cricetidae) ubicadas en la cuenca baja de los ríos Escalante (Estado Zulia) y Chama (Estado Mérida). **Zoocriad.** 1(1):21-32. 1996.
- [9] DURANT, P.; DÍAZ, A.; DÍAZ DE P., A. Marsupiales de las cuencas hidrográficas andino-venezolanas. **Bol. Soc. Venez. Cien. Nat.** Caracas. 46 (150):53-82. 1997.
- [10] FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira* and leptospirosis. **Medical Science.** 2nd Ed. Melbourne. 272 pp. 1999.
- [11] FARR, W. Leptospirosis. **Clin. Infect. Dis.** 21:1-8. 1995.
- [12] FULHORST, C.; MONROE, M.; SALAS, R.; DUNO, G.; UTRERA, A.; KSIAZEK, T.; NICHOL, S.; DE MANZIONE, N.; TOVAR, D.; TESH, R. Isolation, characterization and geographic distribution of Cano Delgadito virus, a newly discovered South American hantavirus (family Bunyaviridae). **Virus Res.** 51(2):159-171. 1997.
- [13] GARCÍA-GONZÁLEZ, R.; REYES-TORRES, A.; BASILIO-HERNÁNDEZ, D.; RAMÍREZ-PÉREZ, M.; RIVAS-SÁNCHEZ, B. Leptospirosis; un problema de salud pública. **Rev. Latinoamer. Patol. Clin.** 60(1):57-70. 2013.
- [14] GIRALDO DE LEÓN, G.; ORREGO-URIBE, A.; BETANCURTH, A. Los roedores como reservorios de leptospirosis en planteles porcinos de la zona central cafetera de Colombia. **Arch. Med. Vet.** Valdivia. 34(1):69-78. 2002.
- [15] GRAVEKAMP, C.; KORVER, H.; MONTGOMERY, J.; EVERARD, C.; CARRINGTON, D.; ELLIS, W.; TERPSTRA, W. Leptospire isolated from toads and frogs on the island of Barbados. **Zentralbl. Bakteriol.** 275(3):403-411. 1991.
- [16] GUITIAN, J.; THURMOND, M.; HIETALA, S. Infertility and abortion among first-lactation dairy cows seropositive or seronegative for *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 215(4):515-518. 1999.
- [17] HARTSKEERL, R.; TERPSTRA, W. Leptospirosis in wild animals. **Vet.Q.** 18(3):149-150. 1996.
- [18] HATHAWAY, S.; BLACKMORE, D. Ecological aspects of the epidemiology of infection with leptospires of the Ballum serogroup in the black rat (*Rattus rattus*) and the brown rat (*Rattus norvegicus*) in New Zealand. **J. Hyg.** 87(3):427-436. 1981.
- [19] HOUEMENO, G.; AHMED, A.; LIBOIS, R.; HARTSKEERL, R.A. *Leptospira* spp. Prevalence in Small Mammal Populations in Cotonou, Benin. **Epidem.** 2013 (502638). 1-8 pp. 2013.
- [20] LEVETT, P.; WALTON, D.; WATERMAN, L.; WHITTINGTON, C.; MATHISON, G.; EDWARDS, C. Surveillance of leptospiral carriage by feral rats in Barbados. **West Indian Med. J.** 47(1):15-17. 1998.
- [21] LICERAS, J.; SULZER, K. Six new leptospiral serovars isolated from wild animals in Perú. **J. Clin. Microbiol.** 19(6):944-945. 1984.
- [22] LICERAS, J. Leptospirosis en Tingo María, Departamento de Huanuco, Perú. II. Estudio en animales silvestres. **Bol. Ofic. Sanit. Panam.** 91(1):47-55. 1981.
- [23] LILENBAUM, W.; DOS SANTOS, M. Leptospirose em reprodução animal: III. Papel do serovar *hardjo* nas leptospiroses bovinas no Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Lat. Amer. Microbiol.** 37(2):87-92. 1995.
- [24] LINARES, O. Marsupiales (Marsupialia: Ordenes Didelphimorphia y Paucituberculata). Roedores (Orden Rodentia). **Mamíferos de Venezuela.** Editorial Sociedad Conservacionista Audubon de Venezuela. Caracas. 691 pp. 1998.
- [25] LUCHEIS, S.; HERNANDES, G.; LENHARO, D.; SANTIAGO, M.; BALDINI-PERUCA, L. Are opossums capable of transmitting leptospirosis in urban areas? **J. Venom. Anim. Toxins.** 15(3):370-373. 2009.

- [26] MINISTERIO DA SAÚDE. Taxonomia. Patogenia. **Manual de Leptospirose**. Fundação Nacional da Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. Brasília. 98 pp. 1997.
- [27] MÜLLER, G.; BRUM, J.; LANGONE, P.; MICHELS, G.; PESENTI, T. *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae) parasitizing *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) in the state of Rio Grande do Sul. **Arqui. Inst. Bio. São Paulo**. 72(1):115-116. 2005.
- [28] MURHEKAR, M.; SUGUNAN, A.; VIJAYACHARI, P.; SHARMA, S.; SEHGAL, S. Risk factors in the transmission of leptospiral infection. **Indian J. Med. Res.** 107:218-223. 1998.
- [29] OLIVEIRA, S.; ARSKY, M.; CALDAS, E. Reservatórios animais de leptospiroses: uma revisão bibliográfica. **Saúde** (Santa Maria). 39(1): 9-20. 2013.
- [30] ORTIZ, I. Contribución al estudio de la leptospirosis de las ratas grises de la ciudad de Caracas. **Bol. Lab. Clin. L.R.** 18:324. 1945.
- [31] OTTE, M.; RAVENBORG, T.; HÜTNER, K. A pilot study of elevated abortion and stillbirth ratios in the foothills of the eastern plains of Colombia. **Prev. Vet. Med.** 22(1-2):103-113. 1995.
- [32] PÉFAUR, J. Emponzoñamiento en Humanos: Reinterpretación Ecoepidemiológica para un Programa de Educación Ambiental. Informe Técnico FONACIT. Caracas. 162 pp. 2007.
- [33] QUINLAN, J.; MCNICHOLL, V. Galactia and infertility due to *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* infection in a vaccinated dairy herd. **Irish Vet. J.** 46:97-98. 1993.
- [34] ROJAS, L.; RODRÍGUEZ, V.; ARIAS, L.; RODRÍGUEZ, C.; PEREIRA, V. Determinación de anticuerpos de *Leptospira spp.* en pequeños mamíferos no voladores, en un fragmento de bosque andino en la montaña del Zoológico Jaime Duque. **Rev. Med. Vet.** (Colombia) 16: 27-42. 2008.
- [35] ROMERO, M.; SÁNCHEZ, J.; GONZÁLEZ, L. Revisión sobre la importancia de la fauna silvestre en la epidemiología de la leptospirosis. **Biosalud** 10(2):112-122. 2011.
- [36] SACSQUISPE, R.; GLENNY, A.; CÉSPEDES, M. Estudio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en Salitral, Piura -1999. **Rev. Peru. Med. Exp. Salud Púb.** 20(1):39-40. 2003.
- [37] SALAS, R.; DE MANZIONE, N.; TESH, R. Fiebre hemorrágica venezolana: ocho años de observación. **Acta Cientif. Venez.** 49 (Suppl. 1):46-51. 1998.
- [38] SANTA ROSA, C.; SULZER, C.; GIORGI, W.; DA SILVA, A.; YANAGUITA, R.; LOBAO, A. Leptospirosis in wildlife in Brazil: Isolation of a new serotype in the Pyrogenes group. **Am. J. Vet. Res.** 36(9):1363-1365. 1975.
- [39] SANTA ROSA, C.; SULZER, C.; YANAGUITA, R.; DA SILVA, A. Leptospirosis in wildlife in Brazil: Isolation of serovars *canicola*, *pyrogenes* and *grippotyphosa*. **Int. J. Zoon.** 7: 40-43. 1980.
- [40] SEALEY, M.; LUGO, A.; LÓPEZ, R.; BRICEÑO, I.; BOLLÍVAR, R.; ANDUEZA, F. Encuesta seroepidemiológica de la leptospirosis bovina en la región Sur del Lago de Maracaibo. Venezuela. Años 1998-1999. **Rev. Fac. Farmacia ULA.** 42(2):17-19. 2001.
- [41] SCIALFA, E.; BOLPE, J.; BARDÓN, J.; RIDAO, G.; GENTILE, J.; GALLICCHIO, O. Isolation of *Leptospira interrogans* from suburban rats in Tandil, Buenos Aires, Argentina. **Rev. Argent. Microbiol.** 42(2):126-128. 2010.
- [42] STANKO, M.; PROKOPČAKOVA, H.; PETERKOVA, J.; CISLAKOVA, L. Relation between characteristics of the small mammal population and occurrence of *Leptospira* antibodies. **Vet. Med.** 42(12):355-360. 1997.
- [43] THIERMANN, A. The Norway rat as a selective chronic carrier of *Leptospira icterohaemorrhagiae*. **J.Wildl. Dis.** 17(1):39-43. 1981.
- [44] ULLMANN, L.; LANGONI, H. Interactions between environment, wild animals and human leptospirosis: [review]. **J. Venom Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.** 17(2):119-129. 2011.
- [45] WEBSTER, J.; ELLIS, W.; MACDONALD, D. Prevalence of *Leptospira spp.* in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. **Epidemiol. Infect.** 114:195-201. 1995.
- [46] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Human Leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 110 pp. 2003.
- [47] ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S. Animales silvestres como reservorios de Leptospirosis en Chile. Una revisión de los estudios efectuados en el país. **Arch. Med. Vet.** 31(2). 1999.
- [48] ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.; CABEZAS, X. Relación entre algunos aspectos ambientales y la infección por *L. interrogans* en roedores de la provincia de Valdivia, Chile. **Med. Amb.** 12:3-8. 1994.
- [49] ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.; CABEZAS, X. Leptospirosis de los roedores silvestres en el área rural de Valdivia. Pesquisa de *L. interrogans* mediante inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa. **Arch. Med. Vet.** 27:115-118. 1995.