

## ARTÍCULO TÉCNICO

## Aproximación a la prevalencia serológica real de la leptospirosis en porcinos-cría

Alberto Orrego Uribe<sup>1</sup>  
 Graciela Giraldo de León<sup>1</sup>  
 Alfredo Bohórquez Ríos<sup>1</sup>  
 Jairo Escobar Macías<sup>1</sup>  
 Jaime Quiceno Arias<sup>1</sup>  
 Bernardo Ríos A<sup>2</sup> / Mauricio Santafé<sup>3</sup>  
 Jorge E. Hurtado<sup>3</sup>

Approaching the real serologic prevalence of leptospirosis in breeding swine

## ABSTRACT

Regular diagnosis of leptospirosis is carried out by the microscopic agglutination test (MAT) which is defined as positive when readings are  $\geq 1:100$ . Since this test only detects antibodies classified as M, it is considered ineffective for acceptable diagnosis in both: individuals or populations. Consequently, the level of infection in swine farms has been underestimated. A methodology was developed to improve reliability of leptospirosis diagnosis, assuming that a MAT test of 1:100 is unacceptable. The present work was carried out in 17 swine farms of the Colombian coffee region, with a population of 9.343 pigs. Sampling was conducted three times to get a probabilistic sample  $n=506$ , a critical prevalence of 13.0%, and a standard error of 5.0%. The swine population was tested for leptospira using tests MAT 1:100 and 1:50, and by the growth inhibition test (GIT). Furthermore, real prevalence was calculated by adding positives in the MAT 1:50, and in the GIT. The real prevalence obtained was  $67.6 \pm 15.9\%$ , which is higher than the previously reported value and also to the critical prevalence value. Similarly, it was proved that the serologic prevalence reported by the MAT 1:100, underestimates the true infection level. Differences between the MAT and the proposed diagnostic methodology are significant, thus increasing diagnosis of infected pigs by 67.25%.

*Key words:* Porcine pathology, infectious diseases, diagnosis of leptospirosis, diagnostic tests, porcine leptospirosis, microscopic agglutination test, growth inhibition test, mathematical epidemiology.

<sup>1</sup> Programa de Investigación Pecuaria, Corpoica. Regional 9. A. A. 1287, Manizales, Colombia  
<sup>2</sup> Programa de Investigación Pecuaria, Corpoica, Regional 9. Avenida Bolívar, Sector Regivit 28 Nte.Armenia, Colombia  
<sup>3</sup> Estudiantes, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

## RESUMEN

El diagnóstico rutinario de la leptospirosis se realiza utilizando la prueba de microaglutinación lisis (MAL) interpretada como positiva, a títulos de 1:100 o superiores. Debido a que esta prueba sólo detecta anticuerpos (AC) de la clase M, se considera que es ineficiente para un diagnóstico adecuado, tanto de individuos como de poblaciones y que en consecuencia, el nivel de infección de las explotaciones porcícolas ha sido subestimado. Se desarrolló una metodología que permita un diagnóstico confiable de la leptospirosis, bajo la hipótesis de que la prueba de MAL 1:100 no cumple con este propósito. El trabajo de campo se realizó con 17 explotaciones en la zona cafetera de Colombia con una población inicial de 9.343 cerdos, los cuales constituyeron la muestra en tres ocasiones consecutivas, obteniéndose una muestra probabilística de  $n=506$  y tomando como prevalencia crítica el 13.0% con un error estándar controlado del 5.0%. Para las serologías se emplearon las pruebas de MAL 1:100 y 1:50, así como la prueba de Inhibición del Crecimiento (IC) de la leptospira, y se realizó un cálculo de prevalencia real, mediante la adición de los positivos en la MAL 1:50 a los positivos en la prueba IC. Se encontró que la prevalencia real fue de  $67.6 \pm 15.9\%$ ; cifra que es muy superior tanto a la reportada previamente, como a la prevalencia crítica; así mismo, se vio que la prevalencia serológica por la MAL 1:100 subestima el nivel verdadero de infección, siendo la diferencia del resultado de esta prueba altamente significativa, al comparar éste con la metodología de diagnosis propuesta, lo cual incrementa la detección de infectados en 67.25% en promedio.

*Palabras claves:* Patología porcina, enfermedades infecciosas, diagnóstico de leptospirosis, pruebas para diagnosis, leptospirosis porcina, microaglutinación lisis, inhibición del crecimiento, epidemiología matemática.

## INTRODUCTION

LA LEPTOSPIROSIS es una enfermedad infecciosa en los porcinos, contagiosa y de severo impacto económico (Orrego y Ángel, 1996; y 1997). El diagnóstico "rutinario" de esta infección se realiza con la técnica de microaglutinación lisis (MAL), interpretada como positiva, a título de 1:100 o más (Myers, 1985 y Gallego y Gallego, 1994). La interpretación de la positividad ha sido controvertida (Ellis, 1983; Little *et al.*, 1980; Otte *et al.*, 1991); no obstante, el mayor problema radica en que la citada prueba sólo detecta inmunoglobulinas de la clase M (Torres *et al.*, 1994 y Gómez, 1997), es decir, tan sólo detecta las infecciones recientes, quedando sin ser diagnosticados los casos crónicos.

De otra parte, es bien conocido el cambio que se produce de Inmunoglobulinas de la clase M a clase G (Golub, 1977) y como después de la infección los AC de la clase M aumentan rápidamente, pero bajan a las cuatro semanas a concentraciones no detectables. Posteriormente, en una o dos semanas pos-infección, aparecen los AC de la clase G, los que a los tres meses representan 80% de los AC (Marsall citado por Smith *et al.*, 1994). En términos generales, se considera que la sensibilidad y la especificidad del MAL son altas, pero la sensibilidad declina hasta 50%, cuando los animales se examinan varias semanas después de la infección (Blackmore citado por Smith *et al.*, 1994).

La estimación de prevalencia de leptospirosis en bovinos y en porcinos se ha realizado por la prueba de MAL 1:100, obteniéndose bajos porcentajes de reactivos positivos, como 9.2% (Navarrete, 1975), o porcentajes más altos por serovar (Morales y Beltrán, 1979); así como porcentajes por grupos etéreos, alrededor del 20% (Velasco *et al.*, 1993), y aún más bajos en porcinos (Orrego *et al.*, 1994). En el caso de esta especie, existen dos buenas recopilaciones con abundante información sobre leptospirosis (González y Torres, 1995 y 1997).

De otra parte, la técnica de inhibición del crecimiento (IC) de la leptospira, mediante la cual se detectan anticuerpos (AC) de la clase G, ha sido utilizada para medir la respuesta inmune a la vacunación contra leptospirosis en bovinos. Los reportes indican que en los bovinos vacunados no se observó respuesta significativa a IgM, pero sí un aumento drástico en los títulos de AC pos-vacunales de IgG (Gallego *et al.*, 1996). Finalmente, se detectaron AC de la clase G en sueros de bovinos vacunados por un período de tiempo más largo que los AC de la clase M, y algunos sueros fueron negativos a la prueba MAL (Tripathy *et al.*, 1972).

El objetivo del estudio entonces, fue obtener una metodología que permitiera un diagnóstico confiable de la leptospirosis, bajo la hipótesis que la prueba de MAL 1:100 por sí sola, no es adecuada para el diagnóstico serológico. El resultado constituye un avance científico y tecnológico de importancia.

### Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en 17 explotaciones porcícolas de la zona central cafetera (Caldas, Quindío y Risaralda, Colombia) con un total de 9.343 porcinos y aproximadamente 100.000 cerdos en toda el área de estudio. Para determinar la prevalencia instantánea de leptospirosis en los cerdos, se obtuvo un tamaño de muestra (n) por explotación, de acuerdo con un método probabilístico (Putt *et al.*, 1987). Se tomó como prevalencia crítica el 13%, de acuerdo con experiencias previas en las explotaciones de la región (Orrego *et al.*, 1994), con un error estándar controlado del 5%. Los cerdos fueron muestreados en tres ocasiones consecutivas en el lapso de un año.

Para el diagnóstico serológico se emplearon las técnicas de microaglutinación lisis (MAL) y la prueba de inhibición del crecimiento (IC). La primera técnica es rutinaria y está bien descrita (Rodríguez *et al.*, 1978), a su vez, la prueba de IC no es rutinaria y en ella se hacen reaccionar 100

µl de suero problema con el o los antígenos en 2.4 ml de medio Stuart. En este caso, los antígenos fueron las serovariedades: *Pomona*, *icterohaemorrhagiae*, *gryppotiphosa*, *bratislava*, *canicola*, *Hardjo bovis* y *Hardjo pratjino*. Hay que tener en cuenta que los controles negativos estuvieron constituidos por siete tubos conteniendo 2.4 ml de medio Stuart, a los cuales se les agregó 100 µl de los mismos serovares empleados con los sueros problema. Después de una incubación a 30°C durante 72 horas, la lectura se hizo en el microscopio de campo oscuro. De hecho, la prueba es positiva cuando hay inhibición del crecimiento de la leptospira a una dilución 1:25, observándose menos de 10 leptospirosis en un campo con objetivo 40x. En este caso, se procedió a realizar las diluciones 1:50 y 1:100, la prueba es negativa cuando se observan las leptospirosis en gran cantidad, similar a los controles negativos, lo que indica que el suero problema no contiene anticuerpos de tipo G, que impidan el crecimiento de la bacteria (Tripathy *et al.*, 1972).

La prueba de MAL se interpretó como positiva a la dilución 1:100, que es como se hace en forma rutinaria, y como positiva a la dilución 1:50, con el fin de darle mayor sensibilidad. La prueba de IC se interpretó como positiva a la dilución 1:25 y se calculó una prevalencia real, adicionando los positivos en la MAL 1:50, a los positivos en la prueba de IC. Se calculó la prevalencia instantánea (PI) con su respectivo intervalo de confianza, con un nivel de significancia estadística ( $\infty$ ) del 0.05 para cada explotación porcícola y también para cada serovar hallado en ellas. Se calculó además la PI general, y a partir de ésta se obtuvo el número probable de cerdos infectados por técnica diagnóstica, para la población porcina de la zona central cafetera. La fórmula de extrapolación es:  $X = NP$ ; en donde N es el universo y P es la prevalencia estimada.

Adicionalmente, se calculó la variación relativa (Coeficiente de Variación) o cantidad de variación de la prevalencia entre las explotaciones, por técnica empleada, se calculó de acuerdo con Snedecor y Cochran, 1972, como:  $C = \sigma / \mu$ , siendo la estimación muestral X igual a  $S / \bar{X}$ .

La diferencia entre las prevalencias generales calculadas por técnica diagnóstica y la prevalencia crítica (13.0%) se determinaron mediante el empleo de la prueba de Z, como prueba de parámetros de una distribución normal (la media normal cuando la varianza es conocida) probando la hipótesis:  $\mu$  (la media de una distribución

normal) toma el valor numérico específico  $\mu_0$ , cuando  $\sigma^2$ , la varianza de la población es conocida (Remington and Schorck, 1970). En efecto, si  $\bar{X}$  es la media muestral, basada en una muestra de tamaño n, entonces:

$$Z = \frac{\bar{X} - \mu_0}{\sigma / \sqrt{n}}$$

sigue la distribución normal estándar, cuando la hipótesis es cierta (las prevalencias generales difieren de la prevalencia crítica). Finalmente, dado que  $\mu_0$ ,  $\sigma$ , y n son valores numéricamente conocidos, Z se puede utilizar como prueba estadística.

De otra parte, las diferencias en las prevalencias muestrales entre las explotaciones y entre las tasas de prevalencia general por técnica diagnóstica, se obtuvieron por medio de una prueba para diferencias en prevalencia entre varios grupos simultáneamente (Putt *et al.*, 1987). La hipótesis de trabajo consistió en la igualdad de las prevalencias y la hipótesis experimental estribó en que había alguna diferencia entre ellas. Esta prueba trabaja con una tabla de contingencia, a partir de la cual se construye una tabla de valores esperados y empleando una fórmula de chi-cuadrado se construye una tabla de desviaciones. El valor total de la suma de las desviaciones se compara con valores críticos de la prueba estadística, con (n-1) x (n-1) grados de libertad.

Por su parte, las diferencias entre las prevalencias calculadas para infecciones recientes (diagnóstico por la MAL 1:100 y por la MAL 1:50) y las calculadas para infecciones crónicas (IC), así como la diferencia entre la prevalencia instantánea MAL 1:100 y la prevalencia real, se establecieron por la prueba de t para niveles de significancia de  $\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ , para dos muestras normales de igual tamaño, test de dos colas (Snedecor and Cochran, 1972).

La capacidad de diagnóstico de las pruebas MAL 1:50, IC y MAL 1:100 adicionada a IC, se analizó mediante el cálculo del incremento de la detección de los porcinos infectados, como porcentaje, en relación con el número de animales infectados detectados por la prueba de MAL 1:100. Finalmente, se estableció la concordancia entre los resultados de la prueba de MAL 1:50 y la prueba IC, expresada como porcentaje, de acuerdo con la positividad común hallada en la detección de serovariedades de leptospira.

### Resultados

#### Prevalencia instantánea de leptospirosis en las explotaciones porcícolas

La Tabla 1 muestra la PI por explotación, usando la prueba MAL 1:100 en el primer

muestreo. Se observó que en ocho de ellas no hubo reactores positivos, que la prevalencia general fue del  $11.8 \pm 1.4\%$ , y que en consecuencia, el número total de cerdos infectados en las explotaciones porcícolas era de 1.736. Las prevalencias difirieron entre las explotaciones; desviación =  $86.03 > 41.308 = X^2 0.9995.16$  ( $P \leq 0.005$ ). Las *leptospiras* detectadas serológicamente fueron: *icterohaemorrhagiae*, *gryppotiphosa*, *bratislava* y *canícola*. Efectuada la lectura de la prueba como positiva 1:50 (no se muestran datos), se encontró que la PI fue  $36.6 \pm 2.1\%$  y que en consecuencia, el número de animales infectados era de 3.520. Adicionalmente, sólo quedaron dos explotaciones porcícolas seronegativas y no hubo otras serovariedades. Las prevalencias fueron también diferentes entre las explotaciones; la desviación fue:  $= 74.46 > 41.308 = X^2 (0.9995.16)$  ( $P \leq 0.005$ ).

La Tabla 2. muestra las prevalencias de reactores positivos a la IC. La prevalencia general fue de  $41.9 \pm 2.2\%$ , por lo cual el número de animales infectados en las explotaciones, fue de 4.249. Se observó que todas las explotaciones fueron positivas. Adicionalmente, se halló que las prevalencias fueron diferentes entre las explotaciones y la desviación

$= 79.6 > 41.308 = x^2 0.995.16$  ( $P \leq 0.005$ ).

La Tabla 3 presenta las prevalencias reales de leptospirosis por explotación. La prevalencia general fue  $58.5 \pm 2.2\%$  y por ende, el número real de animales infectados en las explotaciones fue 6.331. Todas las explotaciones fueron Seropositivas, y las prevalencias entre ellas fueron diferentes sobre bases estadísticas; desviación =  $86.7 > 41.308 = X^2 0.995.16$  ( $P \leq 0.005$ ).

En los muestreos dos y tres (no se muestran datos), los resultados fueron similares a los obtenidos en el primero con las técnicas empleadas, y se vio que las PI por explotación, difirieron sobre bases estadísticas, ya que calculadas las desviaciones, éstas fueron siempre mayores que  $41.308 = X^2 0.9995.16$  ( $P \leq 0.005$ ).

En cuanto a la evaluación relativa de las prevalencias, en las explotaciones se halló que ésta era amplia: por la MAL 1:100, los coeficientes de variación cambiaron de 0.00 (en las explotaciones donde no hubo seropositivos) a 173.5%, con un rango de 173.5; e igual resultado se obtuvo para la MAL 1:50. Para la prueba de IC se obtuvo un rango de 45.68 (mínimo 16.2% y máximo 61.9%), en tanto que para la prevalencia real, fue de 42.54 (mínimo 13.4 y máximo 55.97%).

#### *Diferencia entre la prevalencia crítica y las prevalencias generales*

La prevalencia crítica 13.0% fue proba-

da usando la prueba de Z, contra las prevalencias generales calculadas, por cada una de las técnicas diagnósticas empleadas (MAL 1:100, MAL 1:50 e IC), más la prevalencia real. En todos los casos se hallaron valores de  $Z > 3.80 =$  valor de Z en la distribución normal 0.9999 ( $P = 0.0001$ ) (no se muestran datos). Por lo tanto, sobre bases estadísticas, la prevalencia crítica difiere en forma significativa de las prevalencias generales obtenidas en este estudio.

#### *Diferencia entre prevalencias generales*

Se obtuvieron las prevalencias generales de seropositivos por las técnicas de diagnóstico ya referenciadas, y se halló que sobre bases estadísticas, éstas fueron diferentes de manera altamente significativa, ya que los valores de desviación fueron siempre  $> 13.82 = X^2 0.999.2$  ( $P \leq 0.001$ ) (no se muestran datos).

#### *Diferencias entre prevalencias de infecciones recientes y crónicas*

Para obtener este resultado se calcularon las PI en tres muestreos consecutivos por la MAL 1:100 y la IC, el promedio de éstas con su error estándar, se trabajó con la prueba de t basada en rangos (Snedecor et al., 1972), obteniéndose un valor de  $tw = 2.55 > 2.093 = tw 0.99.3$  ( $P \leq 0.01$ ), de donde se concluye que sobre bases estadís-

**Tabla 1.** Prevalencia instantánea de reactores positivos a la prueba de microaglutinación lisis a títulos 1:100 para leptospirosis, en el primer muestreo en 17 porcícolas de Caldas, Quindío y Risaralda, 1997. El nivel de significancia de los intervalos de confianza es del 0,05

Porcícola	Universo N	Tamaño muestra (n)	Leptospira (Serovar)	No. Positivos	Prevalencia instantánea %	Error estándar (%)	Intervalo de confianza	No. afectados	
1	53	12		0	0.00		0	0	
2	43	7		0	0.00		0	0	
3	109	17		0	0.00		0	0	
4	133	39		0	0.00		0	0	
5	1.144	62	icterohaemorrhagiae grypotiphosa	4	6.4	3.1	0.2	12.6	73
6	39	9		0	0.00		0		
7	57	8	bratislava	1	12.5	11.7	12.5	35.9	7
8	12	9		0	0.00		0		
9	139	16	icterohaemorrhagiae grypotiphosa	3	18.8	9.8	18.8	38.4	26
10	187	64	icterohaemorrhagiae grypotiphosa	4	6.2	3.0	0.25	12.2	12
11	149	12	icterohaemorrhagiae	8	66.7	13.6	39.5	9.39	99
12	81	14	icterohaemorrhagiae	7	50.0	13.4	23.2	76.8	41
13	574	72	icterohaemorrhagiae canícola	6	8.3	3.2	1.8	14.8	48
14	5.920	95	icterohaemorrhagiae	22	23.1	4.3	14.5	31.7	1.368
15	588	47	icterohaemorrhagiae	5	10.6	4.5	1.6	19.6	62
16	51	9		0	0.00		0		
17	64	14		0	0.00		0		
Totales	9.343	506		60	11.8	1.4	9.0	14.6	1.736

**Tabla 2.** Prevalencia de porcinos reactivos positivos a la prueba de inhibición del crecimiento (1:25), primer muestreo de 17 porcícolas de Caldas, Quindío y Risaralda, 1997. El nivel de significancia de los intervalos de confianza es del 0.05.

Porcícola	Universo N	Tamaño muestra (n)	Serología		Prevalencia	Error estándar (%)	Intervalo de confianza		No. positivos
			(+)	(-)					
1	53	12	2	10	16.7	10.8	16.7	38.3	9
2	43	7	2	5	28.6	17.0	28.6	62.6	12
3	109	17	13	4	76.5	10.3	55.9	97.1	83
4	133	39	17	22	43.6	7.9	27.8	59.4	58
5	1.144	62	18	44	29.0	5.8	17.4	40.6	332
6	39	9	2	7	22.2	13.8	22.2	49.9	9
7	57	8	7	1	87.5	11.7	64.1	100	50
8	12	9	3	6	33.3	15.7	1.9	64.7	4
9	139	16	5	11	31.2	11.6	8.0	54.4	43
10	187	64	23	41	35.9	6.0	23.9	47.9	67
11	149	12	4	8	33.3	13.6	6.1	60.5	50
12	81	14	11	3	78.6	1.2	56.6	100	64
13	574	72	13	59	18.0	4.5	13.5	22.5	103
14	5.920	95	53	42	55.8	5.1	45.6	66.0	3.003
15	588	47	23	24	48.9	7.3	34.3	63.5	287
16	51	9	2	7	22.2	13.8	22.2	49.9	11
17	64	14	14	0	100.0	0.00			64
Totales	9.343	506	212	294	41.9	2.2	37.5	46.3	4.249

**Tabla 3.** Prevalencia "real" de reactivos positivos a leptospirosis en el primer muestreo, por las pruebas de microaglutinación lisis, e inhibición del crecimiento, en porcinos de 17 porcícolas de Caldas, Quindío y Risaralda. 1997. El nivel de significancia empleado para los intervalos de confianza fue del 0.05

Porcícola	Universo N	Tamaño muestra (n)	Reactivos positivos	Prevalencia instantánea	Error estándar	Intervalo de confianza		No. Infectados
1	53	12	3	25.0	12.5	2.50	50.0	13
2	47	7	2	28.6	17.0	28.6	62.6	13
3	109	17	13	76.5	10.3	55.9	97.2	83
4	133	39	17	43.6	7.9	27.8	59.4	58
5	1.144	62	18	29.0	5.8	17.4	40.6	332
6	39	9	5	55.5	16.6	22.3	88.7	22
7	57	8	7	87.5	11.7	64.1	100.0	50
8	12	9	3	33.3	15.7	1.9	64.7	4
9	139	16	9	56.2	12.4	31.4	81.0	78
10	187	64	35	54.7	6.2	42.3	67.1	102
11	149	12	10	83.3	10.8	61.7	100.0	124
12	81	14	14	100.0	0.00	-	-	81
13	574	72	42	58.3	5.8	46.7	69.9	335
14	5.920	95	74	77.9	4.2	69.5	86.3	4.611
15	588	47	28	59.6	7.1	26.7	73.9	350
16	51	9	2	22.2	13.8	22.2	49.8	11
17	64	14	14	100.0	0.00	-	-	64
Totales	9.343	506	296	58.5	2.2	54.1	62.9	6.331

**Tabla 4.** Análisis de la eficiencia diagnóstica de la prueba de microaglutinación lisis 1:50, adicionada de la prueba de inhibición del crecimiento, para el diagnóstico de la leptospirosis en porcinos de cría, de porcícolas del eje cafetero. 1998

Prueba diagnóstica	Primer muestreo			Segundo muestreo			Tercer muestreo			Promedio infectados	Incremento infectados como %
	No. Positivos	Preval. puntual (%)	No. Infectados	No. Positivos	Preval. puntual (%)	No. Infectados	No. Positivos	Preval. puntual (%)	No. Infectados		
MAL 1:100	60	11.8	1.736	10	2.10	101	3	0.63	29	622	-
Mal 1:50	180	36.6	3.520	64	13.7	534	42	8.8	755	1.603	157,7
IC	212	41.9	4.249	327	70.0	3.398	252	53.5	3.607	3.751	503,05
MAL 1:50 + IC	392	58.5	6.331	391	83.7	3.877	294	62.4	4.207	4.805	672,5

ticas, las infecciones crónicas son más prevalentes que las infecciones recientes. Este mismo cálculo fue efectuado para establecer si había o no diferencia en los resultados entre la MAL 1:50 y la IC, obteniéndose un valor  $tw = 1.277 > 1.272 = tw\ 0.95.3$  ( $P \leq 0.05$ ). Se concluyó que sobre bases estadísticas difieren las pruebas PI por la MAL 1:50 y por la IC.

#### *Diferencias entre la PI por la MAL 1:100 y la prevalencia real*

Los resultados de la MAL 1:100 en tres muestreos consecutivos, y los resultados de la aplicación de la metodología empleada para calcular la prevalencia real, fueron comparados a través de la prueba de t basada en rangos, obteniéndose un valor de  $tw = 3.48 > 2.093 = tw\ 0.99.3$  ( $P \leq 0.01$ ). Sobre bases estadísticas se concluyó entonces, que los valores de PI obtenidos por estos dos procedimientos difirieron en forma altamente significativa.

#### *Concordancia entre los resultados de las pruebas y eficiencia del diagnóstico de la prevalencia real*

Las pruebas MAL 1:50 y de IC concordaron en promedio en 29.4%, 12.44% y 9.8% en los tres muestreos realizados. El promedio de estos promedios ( $\bar{X}$ ) fue de 17.2% con una desviación estándar de 10.6%. Este resultado indica que la proporción de casos en que ambas pruebas son positivas, para una muestra es baja, siendo 0.172 la probabilidad de ocurrencia de este evento. Finalmente, la Tabla 4. muestra los datos empleados para el cálculo de la eficiencia de la prevalencia real, como se propone en este estudio. La columna sobre incremento de infectados como porcentaje, se calculó a partir del número de individuos infectados, estimados para las explotaciones por la técnica de diagnosis. La prueba de MAL interpretada como positiva 1:50, incrementa la detección de positivos en 157.7%, con respecto a la prueba de MAL 1:100; en tanto que el cálculo de prevalencia real, incrementa la sensibilidad del procedimiento diagnóstico en 672.5%, con respecto a la prueba de MAL 1:100.

#### **Discusión**

Las Prevalencias Instantánea y General obtenidas utilizando la prueba de Microaglutinación lisis (MAL 1:100) en las explotaciones porcícolas, son más altas que lo reportado previamente por otros autores que han trabajado con dicha técnica (Navarrete, 1975; Morales y Beltrán, 1979; Velasco *et al.*, 1993; Orrego *et al.*, 1994). Esto

puede deberse a que en la actualidad las densidades de población, así como el total de cerdos en las explotaciones son mayores, lo que facilita la transmisión de la leptospira. Las diferencias en las PI entre explotaciones se pueden explicar por las variaciones poblacionales y las prácticas de manejo, tales como control de roedores y de fuentes de agua, así como por los títulos de anticuerpos (AC) de la clase M, presentes al momento de la toma de la muestra de sangre.

Analizando los resultados de las pruebas MAL 1:50 e IC, así como el cálculo de la prevalencia real, se puede establecer que las prevalencias obtenidas usando la MAL 1:100, son significativamente más bajas y que por lo tanto, el problema de la leptospirosis se ha subestimado, tanto en las investigaciones previas como en el diagnóstico rutinario, no sólo en la especie porcina sino en las demás especies animales y también en humanos. Esta deficiencia de la capacidad diagnóstica de la MAL 1:100, lleva a que no se identifique con precisión la magnitud del problema y que éste se vuelva crónico y se perpetúe en los animales, con la amenaza de la enfermedad como zoonosis.

Los resultados de este trabajo muestran que, aumentando la sensibilidad de la prueba de MAL, interpretándola como positiva 1:50, se aumenta la detección de infecciones recientes, y adicionalmente, si se emplea paralelamente para el diagnóstico la prueba de IC, por medio de la cual se detectan los animales crónicamente infectados, no sólo se obtiene una estimación más real de la prevalencia, así como del número de animales infectados en las explotaciones porcícolas, sino que es posible detectar serovariedades de *leptospira*, que pasaron inadvertidas en la MAL, tanto a 1:100 como a 1:50.

Es de anotar que en el presente trabajo, se emplearon como antígenos sólo las *leptospiras: pomona, icterohaemorrhagiae, gryppotiphosa, bratislava, canicola, Hardjo bovis y Hardjo pratjino* y que existe un alto número de leptospiras patógenas; por lo cual, la prevalencia verdadera sería más alta que lo estimado. No obstante, los resultados son importantes en la práctica, ya que las medidas de prevención y control que se aplican en general para la leptospirosis, son efectivas contra el germen y restringen su difusión. Otro resultado que sobresale de este trabajo es que la concordancia, o positividad común entre las pruebas MAL 1:50 e IC es muy baja, debido a que ellas detectan tipos diferentes de inmunoglobulinas; lo cual conduce a re-

forzar la propuesta, que para el diagnóstico de la leptospirosis se deben emplear dos pruebas paralelas que detecten las inmunoglobulinas 7s y 19s.

La utilización de estos resultados en la práctica, conducirá a una estimación más precisa de la magnitud del problema, y reducirá sustancialmente los errores de diagnósticos derivados del uso exclusivo de la prueba MAL 1:100. Es necesario no obstante, realizar un estudio de costos, ya que aunque las pruebas empleadas son de bajo costo, existen alternativas como la prueba de Elisa.

#### **Conclusiones**

- La prevalencia serológica real de la leptospirosis en porcinos de la zona cafetera de Caldas, Quindío y Risaralda, es de  $67.6 \pm 15.9\%$ , muy superior a las previamente reportadas por varios autores, por la técnica de MAL 1:100 y también, a la prevalencia tomada como crítica para este trabajo. En consecuencia, en el área bajo estudio, con una población porcina estimada de 100.000 cerdos, habría 67.600 animales infectados.

- Las prevalencias generales de leptospirosis en porcinos, difieren según las técnicas empleadas para el diagnóstico, por lo cual es necesario tener en cuenta el tipo de inmunoglobulina que se detecta con cada una de ellas, y por lo tanto, si la positividad corresponde a una infección reciente o a una crónica.

- Las infecciones crónicas en los porcinos son más frecuentes que las infecciones recientes, por lo que se hace necesario para el diagnóstico, tanto individual como poblacional, utilizar dos pruebas paralelas dirigidas a detectar las inmunoglobulinas M y G.

- Los valores de PI obtenidos por la MAL 1:100 y por el cálculo de prevalencia real, difieren ampliamente; por lo que el procedimiento desarrollado en este estudio proporciona una mejor estimación del grado de infección de los animales.

- La prevalencia serológica en las explotaciones porcícolas fue muy variable, lo cual indica que la cantidad de variación en la población es amplia. La variación fue mayor con las pruebas de MAL tanto a 1:100 como 1:50, y menor para la prueba de IC y el cálculo de la prevalencia real, siendo menor la variación con el cálculo de la prevalencia real.

- Las pruebas de MAL 1:50 y de IC, sólo concuerdan en promedio en  $17.2 \pm 10.6\%$  de los casos; lo cual enfatiza la necesidad de complementar la prueba de MAL 1:100 para el diagnóstico de la leptos-

pirosis con técnicas paralelas que detecten las inmunoglobulinas 7s y 19s.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen la cofinanciación al Programa Nacional de Transferencia de Tecnología PRONATTA; a los propietarios y administradores de las explotaciones porcícolas en las cuales se realizó el estudio, al doctor Manuel I. Gallego, Programa de Salud Animal CORPOICA - CEISA y a la secretaria Martha Inés Hincapié Toro.

#### BIBLIOGRAFÍA

**Ellis, W.A. 1983.** Recent developments in bovine leptospirosis *In*: Grunsell, C.S.G., Hill, F.W. (Ed). The Veterinary Annual 23<sup>rd</sup> Issue. Scientifica Bristol. John Wright and Sons Ltda. Stonebridge Press. Bristol. England.

**Gallego, M. I. y Gallego, J. F. 1994.** Leptospirosis bovina. Diagnóstico serológico y control. Rev. del CEISA. (1 y 2):48-68.

**Gallego, M.I., Gallego, J.F., Cortés, E., Rojas, J., Ruiz, S., Bustos, T., Cárdenas, R., Orjuela, J. y Guerrero, B. 1996.** Evaluación de la técnica de inhibición de crecimiento en la evaluación de vacunas contra leptospirosis. En Memorias del XX Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Santa Marta, 1996.

**Golub, E. 1977.** Regulation of the immune response. *In*: Golub, E. The cellular basis of the immune response. Sinaver Associates, INC. Sunderland, Massachusetts. p207-208.

**Gómez, G. 1997.** Leptospirosis canina. Revista ACOVEZ (Colombia). 22(1):38.

**González, G. y Torres, M.L. 1995.** Enfermedades de etiología infecciosa que afectan la reproducción porcina. Boletín Técnico del CEISA No. 1. 89 p.

**González, G. y Torres, M.L. 1997.** Salud Porcina. Análisis general de los trabajos realizados en Colombia. Boletín Técnico del CEISA No. 2. 133 p.

**Little, T.W.A., Richards, M.W., Hassani, S.N. and Jones, T.D. 1980.** The significance of leptospiral antibodies in calving and aborting cattle in south west England. Vet.Rec. 106:221-224.

**Morales, G.A. y Beltrán, L.E. 1979.** Enfermedades porcinas de importancia en el Trópico Colombiano. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Serie 0955-1. Marzo, 1979. 71 p.

**Myers, D. 1985.** Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis. Centro Panamericano de

Zoonosis. Nota Técnica No.30. Buenos Aires. Argentina. 46p.

**Navarrete, M. 1975.** Incidencia de leptospirosis en cerdos en el corregimiento de Cacaotal departamento de Córdoba. Encuesta serológica. Revista ICA (Colombia). 10(1):207-214.

**Orrego, A., Mogollón, J.D., Martínez, A.M., Ujueta, S.S., Torres, M.L. y González, G. 1994.** Detección de limitantes reproductivas en una granja porcícola integral. Revista ICA (Colombia). 29(2):171-180.

**Orrego, A. y Ángel, J. 1996.** Modelo para calcular el impacto económico de las limitaciones de la producción en porcinos. Boletín Técnico Corpoica GTZ. Código 2-02-01-09-27-96. Manizales- Colombia. 39 p.

**Orrego, A. y Ángel, J. 1997.** Cómo afecta la leptospirosis la economía del productor de cerdos?. Revista Agrocambio. 3(8):27-28.

**Otte, E., Navarrete, M. y Orjuela, J. 1991.** La Leptospirosis bovina en el departamento de Córdoba. Proyecto Colombo Alemán ICA-GTZ. Informe Técnico No. 9. 54 p.

**Putt, S.N.H., Shaw, A.P.M., Woods, A.J., Tyler, L. and James, A.D. 1987.** Testing for differences in prevalence between several groups simultaneously. *In*: Putt, S.N.H., Shaw, A.P.M., Woods, A.J., Tyler, L and James, A.D. 1987. Veterinary epidemiology and economics in Africa. ILCA Manual No. 3. ISBN 92-9053-076-6. p. 59-61.

**Remington, R.D. and Schork, M.A. 1970.** Hypothesis testing. *In*: Remington, R.D. and Schork, M.A. 1970. Statistics with applications to the biological and health sciences. Prentice- Hall, Inc, Englewood Cliffs, N.J. p. 192-228.

**Rodríguez, G., González, G. y Mariño, O.C. 1978.** Manual de técnicas en microbiología. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Documento de trabajo No. 18. Código 10-6-018-78. 506 p.

**Smith, C. R., Ketteres, P. J., McGowan, M. R. and Corney, B. G. 1994.** A review of laboratory techniques and their use in the diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in cattle. Australian Veterinary Journal. 71(9):290-293.

**Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. 1972.** Shortcut and non-parametric methods. *In*: Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. 1972. Statistical Methods. Sixth edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, U.S.A. p. 120-134.

**Torres, M., Hernández, V., Valenzuela, S., González, G. y Mogollón, J.D. 1994.** La serología en enfermedades infecciosas de la especie porcina. Revista del CEISA. 1(1y 2):34-47.

**Tripathy, D.N., Hanson, L.E. and Krumrey, W.A. 1972.** An in vitro growth inhibition test for leptospiral neutralization. Proc. 75 th Ann Meet. US. Animal Health Assoc. p. 138-143.

**Velasco, C., Kleeman, G. y Villamil, L.C. 1993.** Resultados de una encuesta sobre salud y producción porcina en el Valle del Cauca. Informe Técnico No. 13. Proyecto Colombo-Alemán, ICA-GTZ. 41 p.