



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

PROGRAMA EDUCATIVO DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SEROFRECUENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-*Leptospira interrogans*
EN PERROS DE MUNICIPIOS DEL ESTADO DE GUANAJUATO

TRABAJO DE TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el título de:

LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Presenta:

Laura Selena Sánchez Torres

Director:

Dr. Abner Josué Gutiérrez Chávez

Codirector:

Dr. Jorge Isaac Torres Barranca

Comité Revisor:

Dr. Mauricio Valencia Posadas

MC. Mauricio Arredondo Castro

Irapuato, Guanajuato, 2019

EL PRESENTE ESTUDIO SE REALIZÓ EN LOS LABORATORIOS DE PATOLOGÍA VETERINARIA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA, CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA DE LA UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO Y DEL LABORATORIO DE LEPTOSPIROSIS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO, CAMPUS XOCHIMILCO, BAJO LA DIRECCIÓN, CODIRECCIÓN Y FINANCIAMIENTO DE LOS SEÑORES DOCTORES: ABNER J. GUTIÉRREZ CHÁVEZ Y JORGE I. TORRES BARRANCA.

DEDICATORIA

A los tres pilares en mi vida, que desde sus diferentes ámbitos aportaron lo mejor de sí.

La fuerza y el soporte para culminar esta etapa de mi vida, tiene un rostro muy variado, desde la alegría reflejada en la sonrisa de mis amigos, como en la mirada de idealización de mi familia.

A mis profesores que, con su entusiasmo y pericia, lograron hacer de este trabajo una espléndida experiencia.

AGRADECIMIENTOS

A mi casa de estudios, la Universidad de Guanajuato, escenario trascendental, de mi crecimiento y formación profesional, donde forje habilidades que me permiten disfrutar de lo que orgullosamente ha sido una filosofía de vida, “El impacto a la salud a través del estudio, la búsqueda de conocimientos, y el impulso a brindar mejores prácticas veterinarias”.

Al Centro de Control Canino de Irapuato (CANI), a los médicos veterinarios zootecnistas, estudiantes que colaboraron con la donación de muestras de sus mascotas que a su vez participaron en la realización de este estudio.

Mi admiración para el Dr. Jorge I. Torres Barranca, así como al personal técnico y académico del laboratorio de leptospirosis de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco por su incondicional y múltiples atenciones para el análisis de las muestras.

A mis revisores el Dr. Mauricio Valencia Posadas y MC. Mauricio Arredondo Castro por su ímpetu para compartir su experiencia a través de sus valiosas observaciones.

A mi director el Dr. Abner J. Gutiérrez Chávez, quien me contagio de su pasión por la investigación, infinitas gracias por su paciencia y sus enseñanzas.

Mi profundo agradecimiento, al Dr. Fidel Ávila Ramos y al Dr. Cesar Andrés Ángel Sahagún por ser mis mentores, no tengo palabras para enaltecer tan loable labor.

A mis familiares y amigos que siempre de manera incondicional, estuvieron alentándome a seguir adelante.

Gracias a todos por su respaldo y gran aprecio a lo largo de este proyecto.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la serofrecuencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* en perros de tres municipios del estado de Guanajuato. La leptospirosis es una infección causada por bacterias del género y especie *Leptospira interrogans*, la cual es de carácter zoonótico y de distribución mundial. En México, la leptospirosis es importante por su impacto negativo en la salud pública y pecuaria, especialmente en términos económicos. Aunque los perros se consideran huéspedes de mantenimiento para el serotipo *L. interrogans* serovar *canicola*, se ha observado que éstos pueden ser incidentales para otros serovares. Se seleccionaron 297 muestras de sueros de perros sin importar el sexo, la raza, la edad, la talla o el lugar de residencia. Las muestras se obtuvieron a través de clínicas veterinarias particulares, por la participación de propietarios y mascotas en la campaña de vacunación antirrábica y por la donación de muestras de los perros capturados en vía pública y remitidos al Centro de Control Canino de Irapuato (CANI). El diagnóstico serológico de *L. interrogans* se realizó empleando la técnica de microaglutinación, la cual se realizó en el Laboratorio de Leptospirosis de la Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Xochimilco. Se utilizó un cepario de *L. interrogans* con 14 serovariedades: *autumnalis*, *batavie*, *bratislava*, *canicola*, *portland vere* (cepa Sinaloa), *celledoni*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *icterohaemorrhagiae* (cepa Palo Alto), *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi* y *wolffi*. Los resultados mostraron una frecuencia del 21% (62/297). Las serovariedades identificadas más frecuentes fueron: *portland vere* (cepa Sinaloa) y *canicola*, seguidas por *icterohaemorrhagiae*, *bratislava*, *hardjo*, *wolffi*, *pomona*, *tarassovi* y *grippotyphosa*. Los resultados de este estudio indican que la leptospirosis está presente en los perros de los municipios seleccionados del estado de Guanajuato y que *L. interrogans* se ha adaptado y persiste en el ambiente y reservorios diversos bajo las condiciones ambientales y climáticas de la región de estudio. La frecuencia registrada en los perros puede figurar como un indicador de la alta presión infecciosa en el ambiente y dar una idea del riesgo potencial como zoonosis para la población.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	ANTECEDENTES.....	3
2.1	Leptospirosis y agente etiológico	3
2.2	Reservorios	3
2.3	Transmisión.....	5
2.4	Métodos de identificación de <i>L. interrogans</i>	5
2.4.1	Técnicas bacteriológicas o directas	5
2.4.2	Técnicas serológicas	5
2.4.3	Técnicas moleculares	6
2.5	Vacunación y control.....	6
2.6	Epidemiología.....	8
2.6.1	Situación mundial	8
2.6.2	Situación nacional.....	8
2.6.3	Situación estatal	10
3	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
4	HIPÓTESIS.....	13
5	OBJETIVO.....	13
5.1	Objetivo general	13
5.2	Objetivos específicos	13
5.2.1	Seleccionar muestras biológicas del banco de sueros de Patología Veterinaria que cumplan con los criterios de inclusión	13
5.2.2	Determinar la serofrecuencia de serovares de anticuerpos anti- <i>L. interrogans</i> mediante la técnica de microaglutinación (MAT).	13
6	MATERIALES Y MÉTODOS.....	14

6.1	Localización del área de estudio	14
6.1.1	Macro localización	14
6.1.2	Micro localización	14
6.2	Muestras biológicas.....	14
6.3	Prueba de microaglutinación (MAT).....	15
6.4	Análisis estadístico.....	16
7	RESULTADOS	17
7.1	Serofrecuencia de anticuerpos de <i>L. interrogans</i>	17
7.2	Frecuencia de serovariedades de <i>L. interrogans</i>	17
8	DISCUSIÓN.....	20
8.1	Serofrecuencia de anticuerpos de <i>L. interrogans</i>	20
8.2	Frecuencia de serovariedades de <i>L. interrogans</i>	21
8.3	Serovariedades de <i>L. interrogans</i> y la vacunación en perros.....	21
9	CONCLUSIONES	24
10	LITERATURA CITADA.....	25

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 1. SEROGRUPOS Y SEROVARES ASOCIADOS DE <i>LEPTOSPIRA</i> INTERROGANS (ADAPTADO DE LEVETT, 2001).....	4
CUADRO 2. VACUNAS CONTRA <i>LEPTOSPIRA</i> INTERROGANS PARA PERROS Y GATOS DISPONIBLES EN MÉXICO (LUNA ET AL., 2008).	7
CUADRO 3. ESTUDIOS DE PREVALENCIA DE <i>LEPTOSPIRA</i> INTERROGANS EN PERROS DOMÉSTICOS EN EL MUNDO.....	9
CUADRO 4. ESTUDIOS DE PREVALENCIA DE <i>LEPTOSPIRA</i> INTERROGANS EN PERROS DOMÉSTICOS EN MÉXICO.....	9
CUADRO 5. FRECUENCIA Y PORCENTAJE DE PERROS POSITIVOS A LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- <i>L. INTERROGANS</i> EN MUNICIPIOS DEL ESTADO DE GUANAJUATO. ...	19
FIGURA 1. SEROFRECUENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- <i>L. INTERROGANS</i> EN PERROS DE TRES MUNICIPIOS DEL ESTADO DE GUANAJUATO.	17
FIGURA 2. FRECUENCIA GENERAL DE SEROVARIEDADES DE <i>L. INTERROGANS</i> IDENTIFICADAS EN MUESTRAS DE PERROS DEL ESTADO DE GUANAJUATO.	18
FIGURA 3. FRECUENCIA DE SEROVARIEDADES DE <i>L. INTERROGANS</i> IDENTIFICADAS EN MUESTRAS DE PERROS POR MUNICIPIO DEL ESTADO DE GUANAJUATO.	19

1 INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una infección con cualquiera de los miembros de la especie *Leptospira interrogans*, la cual es de carácter zoonótico y de distribución mundial (OIE, 2014). Las *Leptospiras* son bacterias en forma de espiral y se reconocen más de 250 diferentes serovares de leptospiras patógenas (Sykes, 2014).

En México, la leptospirosis es significativa por su impacto negativo en la salud pública y pecuaria, especialmente en términos económicos (Torres-Castro *et al.*, 2016). Los roedores y otras especies silvestres son sus reservorios principales (García-González *et al.*, 2013). Aunque los perros se consideran huéspedes de mantenimiento para el serotipo *L. canicola*, y hospederos incidentales para otros serovares lo que los hace una posible fuente de infección para los dueños de mascotas (Moore *et al.*, 2006).

En los humanos, puede causar una amplia gama de síntomas, durante el embarazo puede provocar la muerte fetal, aborto o leptospirosis congénita (WHO, 2003). Sin tratamiento, la leptospirosis puede ocasionar daño renal, meningitis, insuficiencia hepática, dificultad respiratoria e incluso la muerte (CDC, 2015).

El reconocimiento clínico de la leptospirosis canina no es factible de realizar, dado que las *Leptospiras* pueden afectar diferentes sistemas orgánicos, resultando en una extensa variedad de presentaciones clínicas, la mayor parte de las cuales son crónicas, subclínicas y sin signología especial (Silva y Riedemannb, 2007).

La determinación de leptospirosis comprende el diagnóstico clínico, bacteriológico, serológico y molecular (Cuevas, 2010). Pero éstas no siempre están disponibles, especialmente en los países en desarrollo. Por estas razones, la leptospirosis se pasa por alto y no se reporta en muchas áreas del mundo (WHO, 2003).

En el estado de Guanajuato solo se cuenta con un estudio de prevalencia de la especie *L. interrogans*, que abarca únicamente la ciudad de Irapuato (Andrade, 2015). Por lo

anterior, el objetivo del presente estudio es evaluar la serofrecuencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* en perros de municipios del estado de Guanajuato.

2 ANTECEDENTES

2.1 Leptospirosis y agente etiológico

La leptospirosis fue descrita por primera vez en 1886 por el médico alemán Adolf Weil en trabajadores agrícolas alemanes (Cerqueira y Picardeu, 2009).

La infección con cualquiera de los miembros de la especie *Leptospira interrogans* produce la enfermedad llamada leptospirosis, la cual es una zoonosis de distribución mundial (OIE, 2014). Las *Leptospiras* son bacterias delgadas, flexibles, móviles, en forma de espiral que tienen un extremo en forma de gancho (Sykes, 2014). Pertenecientes al género *Leptospira* y clasificadas serológicamente en dos especies; La primera patógena *Leptospira interrogans* y la segunda saprófita *Leptospira biflexa* (Yitzhaki *et al.*, 2004).

Dentro del género *Leptospira*, se reconocen más de 260 diferentes serovares de *Leptospiras* patógenas, que se distinguen por las diferencias en sus antígenos (Sykes, 2014). De acuerdo con sus características serológicas, las *Leptospiras* se clasifican en serogrupos constituidos por serovares (García-González *et al.*, 2013) (Cuadro 1). Si bien los primeros no tienen una posición taxonómica, han demostrado ser útiles para la comprensión epidemiológica (Levett, 2001). La *Leptospira* también puede ser clasificada genéticamente basándose en las técnicas de homología de ADN (ácido desoxirribonucleico) en al menos 19 especies (Chirathaworn *et al.*, 2014).

2.2 Reservorios

Las ratas, ratones y otras especies de animales silvestres se comportan como reservorios primarios de la mayoría de los serovares de *Leptospiras*, eliminando grandes cantidades de bacterias en la orina (Gualtieri *et al.*, 2012), ya que el punto de acumulación de *L. interrogans* en sus hospederos naturales es el lumen de los túbulos nefríticos por donde pasa a la orina (García-González *et al.*, 2013). Los reservorios naturales específicos varían con la serovariedad y la región geográfica (CFSPH, 2005).

Los perros se consideran huéspedes de mantenimiento para el serotipo *L. canicola*, y hospederos incidentales para otros serovares, lo que los hace una posible fuente de infección para los dueños de mascotas (Moore *et al.*, 2006). Tanto los perros como los gatos pueden desarrollar leptospirosis, pero los gatos parecen ser relativamente resistentes al desarrollo de la enfermedad clínica. Como resultado, la leptospirosis se describe de forma poco común en gatos (Sykes, 2014).

Es más probable que la enfermedad en los reservorios naturales sea subclínica, leve o crónica. Los reservorios naturales incluyen: ratas (serogrupos *icterohaemorrhagiae* y *ballum*; ratones (serogrupo: *ballum*); bovinos (serovariedades: *hardjo*, *grippotyphosa* y *pomona*); ovejas (serovariedades: *hardjo* y *pomona*); cerdos (serovariedades: *pomona*, *tarassovi* y *bratislava*) y perros (serovariedades: *canicola* y *bataviae*) (Spickler *et al.*, 2013).

Cuadro 1. Serogrupos y serovares asociados de *Leptospira interrogans*.

Serogrupos	Serovar (es)	Serogrupos	Serovar (es)
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Icterohaemorrhagiae</i> • <i>Copenhageni</i> • <i>Lai</i> • <i>Zimbabwe</i> 	<i>Autumnalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Autumnalis</i> • <i>Fortbragg</i> • <i>Bim</i> • <i>Weerasinghe</i>
<i>Hebdomaidis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Hebdomaidis</i> • <i>Jules</i> • <i>Kremastos</i> • <i>Wolffi</i> 	<i>Grippotyphosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Grippotyphosa</i> • <i>Canalzonae</i> • <i>Ratnapura</i>
<i>Australis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Australis</i> • <i>Bratislava</i> • <i>Lora</i> • <i>Pomona</i> 	<i>Sejroe</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Sejroe</i> • <i>Saxkoebing</i> • <i>Hardjo</i>
<i>Ballum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ballum</i> • <i>Aeroborea</i> 	<i>Mini</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Mini</i> • <i>Georgia</i>
<i>Panama</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Panama</i> • <i>Mangus</i> 	<i>Louisiana</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Louisiana</i> • <i>Lanka</i>
<i>Djasiman</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Djasiman</i> 	<i>Sarmin</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Sarmin</i>
<i>Bataviae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bataviae</i> 	<i>Tarassovi</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Tarassovi</i>
<i>Pyrogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pyrogenes</i> 	<i>Cynopteri</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Cynopteri</i>
<i>Canicola</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Canicola</i> • <i>Portland-verre</i> 	<i>Celledoni</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Celledoni</i>
<i>Pomona</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pomona</i> 	<i>Ranarum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ranarum</i>
<i>Javanica</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Javanica</i> 	<i>Manhao</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Manhao</i>
<i>Hurstbridge</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Hurstbridge</i> 	<i>Shermani</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Shermani</i>

(Adaptado de Levett, 2001)

2.3 Transmisión

El portal de entrada habitual es a través de abrasiones, cortes en la piel, por mucosas de nasofaringe y esófago, así como por los ojos e inmediatamente generan una infección sistémica, debido a su paso a través de los tejidos y por vía hemática (García-González *et al.*, 2013). Esta infección también puede tener lugar a través de la piel intacta después de una inmersión prolongada en agua (Levett, 2001).

2.4 Métodos de identificación de *L. interrogans*

La determinación de leptospirosis comprende el diagnóstico clínico, bacteriológico, serológico y molecular (Cuevas, 2010). Pero éstas no siempre están disponibles, especialmente en los países en desarrollo. Por estas razones, la leptospirosis se pasa por alto y no se reporta en muchas áreas del mundo (WHO, 2003).

2.4.1 Técnicas bacteriológicas o directas

Los estudios bacteriológicos identifican al microorganismo por métodos directos, mediante la observación en microscopio de campo oscuro, coloraciones argénticas, aislamiento del agente en cultivos especiales e inoculación en animales de laboratorio (Cuevas, 2010).

2.4.2 Técnicas serológicas

Estas técnicas superan en rapidez, sencillez y bajo costo al cultivo, así como a otras técnicas bacteriológicas y moleculares, por lo que el diagnóstico serológico cobra vital importancia en esta entidad (Pérez- Elías *et al.*, 2015).

La prueba de aglutinación microscópica (MAT) se considera como prueba de referencia para la detección de anticuerpos anti-*Leptospira*. Esta prueba también conocida como “Martinant Pettit” fue desarrollada en el siglo pasado en el Instituto Pasteur. Se fundamenta en el grado de aglutinación que se observa al exponer cultivos vivos de *Leptospiras* con el suero de los animales a analizar, mediante la observación en un microscopio de campo oscuro. Para el desarrollo de la prueba de aglutinación

microscópica es necesario contar y dar mantenimiento a una colección de cepas vivas de *L. interrogans* a utilizar como antígenos (Picardeau, 2013, Godínez, 2013).

Por otro lado, las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) se han utilizado para el diagnóstico de varias enfermedades incluida la leptospirosis en diferentes especies (Jiménez-Coello *et al.*, 2008). Aunque estas requieren la técnica MAT para confirmar el diagnóstico (Chirathaworn *et al.*, 2014).

2.4.3 Técnicas moleculares

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método altamente sensible usado para el diagnóstico rápido de la infección, que muestra ventajas sustanciales sobre otros métodos porque permite la lectura inmediata de los resultados, pero a pesar de las ventajas que ofrecen estas técnicas, aún no están disponibles para uso rutinario por su elevado costo tanto en equipos como en reactivos (Pérez- Elías *et al.*, 2015).

2.5 Vacunación y control

La prevención de la enfermedad se realiza inmunizando mediante la aplicación de una bacterina inactivada, que contiene generalmente dos serovariedades: *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae* (André-Fontain, 2006, OIE, 2014) (Cuadro 2).

En México, se tienen disponibles alrededor de 24 productos biológicos para la prevención de la leptospirosis, manufacturados por 8 laboratorios comerciales, donde 23 de estos productos están en combinación con agentes virales modificados o inactivados, de los cuales 16 contienen dos serovares: *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, y entre otros ocho que contienen entre cuatro y seis serovares como: *L. tarassovi*, *L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. bratislava* y *L. wolffi* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Vacunas contra *Leptospira interrogans* para perros y gatos disponibles en México.

Laboratorio	Nombre comercial	Número de Serovares	Serovares
Chinoín	ADENOVAC	6	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, pomona, tarassovi, wolffi</i>
	VACUGEN6 L	6	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, pomona, tarassovi, wolffi</i>
Norvet	PEEK' N LEPTO	6	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, pomona, tarassovi, wolffi</i>
	PEEK' N-5	6	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, pomona, tarassovi, wolffi</i>
Lapisa	PROVIDEAN VIRATEC 10 CV 4L	4	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, Pomona</i>
Zoetis	VANGUARD L4	4	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, Pomona</i>
	VANGUARD PLUS 5 / L4 / CV	4	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, Pomona</i>
	DHPPI L4R	4	<i>canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, Bratislava</i>
	VANGUARD DA2L	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	VANGUARD PLUS 5/CV-L	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	VANGUARD PLUS 5/L	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
MSD	NOBIVAC L	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	NOBIVAC RL	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	QUANTUM DOG PUPPY DA2PPVL	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	QUANTUM DOG DA2PPVL+CV	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
Virbac	CANIGEN MHA2L TRIPLE	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	CANIGEN MHA2P/L	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	CANIGEN MHA2PPI/L	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	CANIGEN MHA2PPI/LR	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
Biozoo	INMUNOVAX 5	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	VACUNA TRIPLE CANINA	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
Merial	RECOMBITEK C6	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	RECOMBITEK C6/CV	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>
	EURICAN DAPPI-LR	2	<i>canicola, icterohaemorrhagiae</i>

2.6 Epidemiología

Los problemas de salud pública relacionados con la enfermedad de leptospirosis, está dado por el contacto directo o indirecto con la orina de animales infectados o por el consumo de agua contaminada. Los individuos que viven o se localizan en zonas rurales tienen un mayor riesgo de infectarse con esta bacteria debido a la interacción y contacto cercano con los animales infectados o portadores como lo son los roedores (Jansen *et al.*, 2005). Además, las condiciones climáticas (Senior, 2008), alto índice de precipitación pluvial e inundaciones (Abela-Rider *et al.*, 2010), son elementos que pueden determinar la diseminación de la leptospirosis.

2.6.1 Situación mundial

La leptospirosis humana y/o animal está presente en todos los continentes exceptuando la Antártida puesto que se presenta con mayor frecuencia en climas tropicales o subtropicales (Torres-Castro *et al.*, 2016). Además, su distribución geográfica está fuertemente relacionada con las condiciones ambientales y con el grado de urbanización de las comunidades o ciudades. En el cuadro 3 se pueden observar algunos estudios realizados en perros en distintas ciudades localizadas en los diferentes continentes, resaltando una mayor frecuencia de información y de prevalencias, en aquellos lugares tropicales y subtropicales como se ha mencionado anteriormente.

2.6.2 Situación nacional

En México, la leptospirosis es significativa por su impacto negativo en la salud pública y pecuaria, especialmente en términos económicos (Torres-Castro *et al.*, 2016). La información epidemiológica sobre la leptospirosis canina en México es limitada, no se dispone de un análisis real de la situación, los casos se estudian de manera independiente y la existencia de brotes es desconocida (Luna *et al.*, 2008) (Cuadro 4).

Cuadro 3. Estudios de prevalencia de *Leptospira interrogans* en perros domésticos en el mundo.

Zona	n	Procedencia (Situación)	Prevalencia (%)	Autor
África				
Sudan	475	Hogar	40.8	Roqueplo <i>et al.</i> (2015).
Sudáfrica	530	Hogar y calle	4.7	Gatley (2009).
América				
Argentina	102	Hogar y calle	82.3	Rollan <i>et al.</i> (2018).
Colombia	154	Hogar	79.9	Romero <i>et al.</i> (2018).
Colombia	192	Hogar	36.4	Céspedes <i>et al.</i> (2018).
EUA	87.35	Investigación	14.1	White <i>et al.</i> (2017).
Colombia	61	Semi domésticos	54.1	Arrieta-Benate <i>et al.</i> (2016).
Colombia	83	Hogar y calle	22.9	Romero-Vivas <i>et al.</i> (2013).
Chile	400	Calle	21.3	Tuermers <i>et al.</i> (2013).
Colombia	70	Hogar	47.1	Alvares <i>et al.</i> (2011).
Venezuela	30	Calle	100	Medina <i>et al.</i> (2010).
Colombia	850	Hogar	21.4	Romero <i>et al.</i> (2010).
Colombia	51	Calle	29	Hernández <i>et al.</i> (2009).
Colombia	100	Hogar	31	Romero-Peñuela <i>et al.</i> (2009).
Perú	241	Hogar	27.8	Céspedes <i>et al.</i> (2007).
Colombia	197	Calle	41.1	Rodríguez <i>et al.</i> (2004).
Argentina	195	Hogar y calle	52	Adagio <i>et al.</i> (2000).
Argentina	223	Calle	57	Rubel <i>et al.</i> (1997).
Asia				
Malasia	96	Reporte oficial	3.1	Lau <i>et al.</i> (2017).
Turquía	116	Calle	43.9	Aslantas <i>et al.</i> (2005).
Irak	218	Rurales y urbanos	16.9	Hussien <i>et al.</i> (2017).
Europa				
Suiza	458	Hogar	55.7	Delaude <i>et al.</i> (2017).
Serbia	1045	Calle	5.4	Vojinovic <i>et al.</i> (2015).

Cuadro 4. Estudios de prevalencia de *Leptospira interrogans* en perros domésticos en México.

Zona	n	Procedencia	Prevalencia (%)	Autor (es):
Sinaloa	165	Hogar	9	Hernández- Ramírez <i>et al.</i> (2017).
Yucatán	93	Hogar	45.2	Ortega-Pacheco <i>et al.</i> (2017).
CDMX (zona Sur)	117	Situación de calle	28.2	Martínez-Barbosa <i>et al.</i> (2016).
Campeche	142	Hogar	21.3	Blum-Domínguez <i>et al.</i> (2013).
	181	Situación de calle		
Veracruz	92	Situación de albergue	8.6	Cruz-Romero <i>et al.</i> (2013).
Yucatán	400	Situación de calle	35	Jiménez-Coello <i>et al.</i> (2008).
CDMX (zona norte)	132	Situación de calle	38.5	Rivera <i>et al.</i> (1999).

2.6.3 Situación estatal

En el estado de Guanajuato, sólo se tiene el registro de un estudio en el que determinó la frecuencia de anticuerpos anti-*Leptospira interrogans* realizado en la ciudad de Irapuato por Andrade (2015), donde se analizaron 36 muestras de suero de perros adultos capturados en vía pública del municipio, el 75% (27/36) resultaron positivas a anticuerpos contra *Leptospira interrogans*. El serovar encontrado con mayor frecuencia en su estudio fue *L. canicola* 40.7% (11/27) seguida de *L. wolffi* 29.6% (8/27) y *L. grippotyphosa* 7.4% (2/27). En el resto del estado de Guanajuato no se presentan otros estudios relacionados con la leptospirosis.

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hasta hace algunos años, la leptospirosis era considerada una enfermedad poco común, pero en fechas recientes se han publicado una serie de estudios, principalmente en regiones en desarrollo de todo el mundo como América Latina, África central, Sudeste de Asia e India (Pappas *et al.*, 2008; Vijayachari *et al.*, 2008), donde se considera la leptospirosis como enfermedad reemergente.

La leptospirosis como enfermedad zoonótica reemergente puede ser debatida, pero no su carácter como problema de salud pública; dado que está reconocido su potencial epidémico con un impacto importante a la salud en diversas partes del mundo (Schneider *et al.*, 2013). En los humanos la leptospirosis ocurre por el contacto con orina, secreciones y productos abortados de los animales infectados, e indirectamente a través de agua y suelo contaminados (Romero *et al.*, 2010), en donde los perros actúan como un reservorio importante para que se presente el riesgo de infección en humanos en áreas urbanas (Rodríguez *et al.*, 2004). La leptospirosis produce signos clínicos similares a la enfermedad del dengue, lo cual resulta interesante debido a que, de acuerdo con la Secretaría de Salud del Estado, en el 2017, se registraron 20,432 casos de dengue, de los cuales sólo se confirmó el 18.7%. Además, de acuerdo con los datos señalados por Pappas *et al.* (2008), en México se ha estimado una incidencia anual de 1:1'000,000 personas, quedando circunscrito la mayoría de los casos a la región tropical y subtropical del estado de Veracruz, México (SSA, 2007).

En el caso de los perros domésticos, sigue siendo la especie preferida por el hombre como mascota. Según el INEGI (2018), el 57% de los hogares mexicanos cuenta con un perro de mascota, mientras que otro número importante vive en situación de calle. De acuerdo con datos señalado por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (2010), la población canina en México se estimó de aproximadamente 18 millones, de los cuáles el 70% corresponde a perros callejeros, colocando a México como el país con la mayor población canina de América Latina.

En la actualidad las fronteras se abren también a los animales de compañía, logrando de esta manera también difundir las enfermedades de manera subclínica a otras regiones del mundo. En el estado de Guanajuato solo se cuenta con un estudio de prevalencia de la especie *L. interrogans*, que abarca únicamente la ciudad de Irapuato y que debido a las condiciones climáticas favorables sea un factor de riesgo para la espiroqueta proliferar e infectar al ser humano.

4 HIPÓTESIS

La serofrecuencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* en perros de municipios del estado de Guanajuato, es superior al 30% descrito en la literatura.

5 OBJETIVO

5.1 Objetivo general

Evaluar la serofrecuencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* en perros de municipios del estado de Guanajuato.

5.2 Objetivos específicos

- 5.2.1 Seleccionar muestras biológicas del banco de sueros de Patología Veterinaria que cumplan con los criterios de inclusión
- 5.2.2 Determinar la serofrecuencia de serovares de anticuerpos anti-*L. interrogans* mediante la técnica de microaglutinación (MAT).

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Localización del área de estudio

6.1.1 Macro localización

El estado de Guanajuato está localizado al norte 21°50' 22"; al sur 19° 54' 46" de latitud norte, al este 99° 40' 17"; al oeste 102° 05' 49" de longitud oeste. Colinda al norte con Zacatecas y San Luis Potosí; al este con Querétaro; al sur con Michoacán de Ocampo y; al oeste con Jalisco (INEGI, 2017). La superficie estatal cuenta con 33.10% de territorio con clima semicálido subhúmedo con lluvias en verano y el 23.46% de clima subhúmedo con lluvias en verano; Precipitación pluvial promedio en el municipio de Irapuato es de 690.7 mm, mientras que en Celaya 607.1mm y en Guanajuato 707.9 mm; Temperatura media anual en Irapuato es de 20.2°C, mientras que en Celaya 20.1°C y en Guanajuato 18.3°C (INEGI, 2017).

6.1.2 Micro localización

La primera parte del presente estudio se realizó en el Laboratorio de Anatomía y Patología Veterinaria de la División de Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato, en el cual se recibieron y prepararon las muestras para obtener el suero, los cuales se mantuvieron en congelación (-20°C) hasta el momento de su análisis. Las pruebas de microaglutinación se realizaron en el Laboratorio de Diagnóstico de Leptospira de la Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Xochimilco (UAM-X).

6.2 Muestras biológicas

Se seleccionaron un total de 297 muestras de sueros de perros, cuyas características del individuo se contemplaron sin importar el sexo, la raza, la edad, la talla o el lugar de residencia, los cuales fueron seleccionados por conveniencia, estableciendo como criterio de exclusión el ser menor de ocho meses o animales procedentes fuera de la zona de estudio. Es necesario resaltar que la estrategia de colección de las muestras que integran el banco de sueros fue a través de colaboraciones con clínicas veterinarias particulares, por la participación de propietarios y mascotas en la campaña

de vacunación antirrábica y por la donación de muestras de los perros que fueron capturados en vía pública y remitidos al Centro de Control Canino de Irapuato (CANI) ubicados en la región de estudio. Sin embargo, es necesario señalar que debido al desarrollo de un evento sindical en la UAM-X, las actividades académicas y de investigación fueron administrativamente suspendidas por más de 90 días, situación que provocó la no obtención de la información individual de los resultados propuestos.

6.3 Prueba de microaglutinación (MAT)

El diagnóstico serológico de *L. interrogans* se realizó empleando la técnica de microaglutinación (por sus siglas en inglés, MAT) (WHO, 2003; Levett *et al.*, 2001), la cual se desarrolló en el Laboratorio de Leptospirosis de la Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Xochimilco, mediante la utilización de un cepario de *L. interrogans* con 14 serovariedades: *autumnalis*, *batavie*, *bratislava*, *canicola*, *portland vere* (cepa Sinaloa), *celledoni*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *icterohaemorrhagiae* (cepa Palo Alto), *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi* y *wolffi*.

La técnica para la prueba de aglutinación microscópica se realizó con una dilución inicial 1:25 de los sueros problema, depositando 2.4 mL de solución salina buferada y 0.1 mL de suero; se transfirieron 0.05 mL de la dilución 1:25 de cada suero problema en 12 pozos de una microplaca de fondo plano, uno para cada serovar a probar, colocando 0.05 mL de cultivo de las 12 diferentes serovariedades en concentración de 3×10^8 *Leptospiras* por mililitro, equivalente a 1 unidad de McFarland (Samir y Momtaz, 2013), en los pozos correspondientes a cada suero problema, realizando movimientos circulares para homogeneizar la muestra. Se mantuvieron las placas en incubadora bacteriológica a 29°C durante 2 horas. La lectura se realizó en un microscopio de campo oscuro con objetivo de 125 X, se calificó la reacción de aglutinación de cada pozo como 1 (25%), 2 (50%), 3 (75%) y 4 (100%) y cuando no exista aglutinación fue calificada como negativa. Los sueros que presentaron una aglutinación de 50 a 100%, se diluyeron de nuevo a 1:25 y se depositaron 0.05 mL del suero problema en los pozos 1 y 2. En los pozos 2 al 8, se depositaron 0.05 mL de solución salina, con una micropipeta ajustada a 0.05 mL se realizaron diluciones dobles seriadas (1/2)

transfiriendo del pozo 2 al 3, del 3 al 4 y de manera sucesiva hasta el pozo 8; el volumen de la última transferencia (pozo 8), se desechó para mantener un volumen homogéneo. Se mezclaron mediante movimientos circulares y se realizó la lectura en las mismas condiciones de la dilución inicial (WHO, 2003). El título de anticuerpos anti-*L. interrogans* que fue igual o mayor a 1:100, se consideraron como positivos, estableciendo lo anterior como “punto de corte” para este estudio (Lavinsky *et al.*, 2012).

6.4 Análisis estadístico

Para verificar la relación que pudiera existir entre la variable independiente (municipio) con el resultado de la prueba de aglutinación microscópica, positiva o negativa, se utilizó la prueba de independencia de Chi cuadrada, la cual permite establecer la decisión de rechazar la hipótesis nula de independencia entre ambas variables. Adicionalmente, se realizó la comparación de las proporciones de los animales seropositivos para cada una de las categorías de las variables seleccionadas, a través de la aplicación de la prueba de Chi cuadrada, con el objeto de establecer cuáles porcentajes fueron significativamente diferentes de la proporción media de las categorías de estudio. Los análisis se realizaron utilizando el programa Statgraphics Centurion XV versión 15.2.

7 RESULTADOS

7.1 Serofrecuencia de anticuerpos de *L. interrogans*

De las 297 muestras de sueros de perros analizadas en este estudio, se registró una frecuencia del 21%, es decir, se observó la presencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* en 62 de 297 sueros de animales probados (Figura 1).

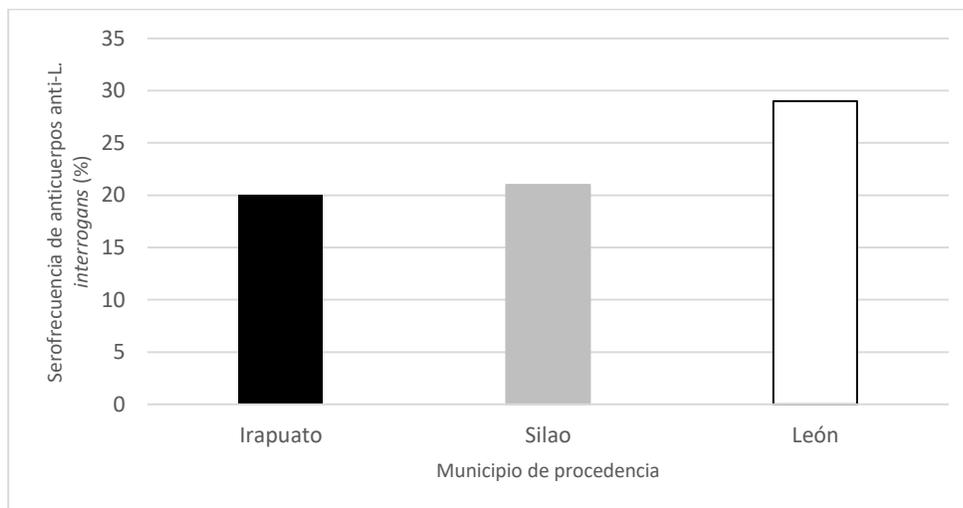


Figura 1. Serofrecuencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* en perros de tres municipios del estado de Guanajuato.

7.2 Frecuencia de serovariedades de *L. interrogans*

En este estudio se identificaron la presencia de una amplia cantidad de serovariedades de *L. interrogans* (Figura 2), las cuales, las dos más frecuentes fueron portland vere (cepa Sinaloa) y *canicola*, mismas que en compañía de la serovariedad *icterohaemorrhagiae* han sido identificadas como propias de la especie canina. Sin embargo, también fueron identificadas serovariedades como: *bratislava*, *hardjo*, *wolffi*, *pomona*, *tarassovi* y *grippotyphosa*. Mientras que el 100% de las muestras de suero de los perros del estado de Guanajuato resultaron negativas a la prueba de aglutinación con las serovariedades: *autumnalis*, *batavie*, *celledoni* y *pyrogenes* (Figura 2).

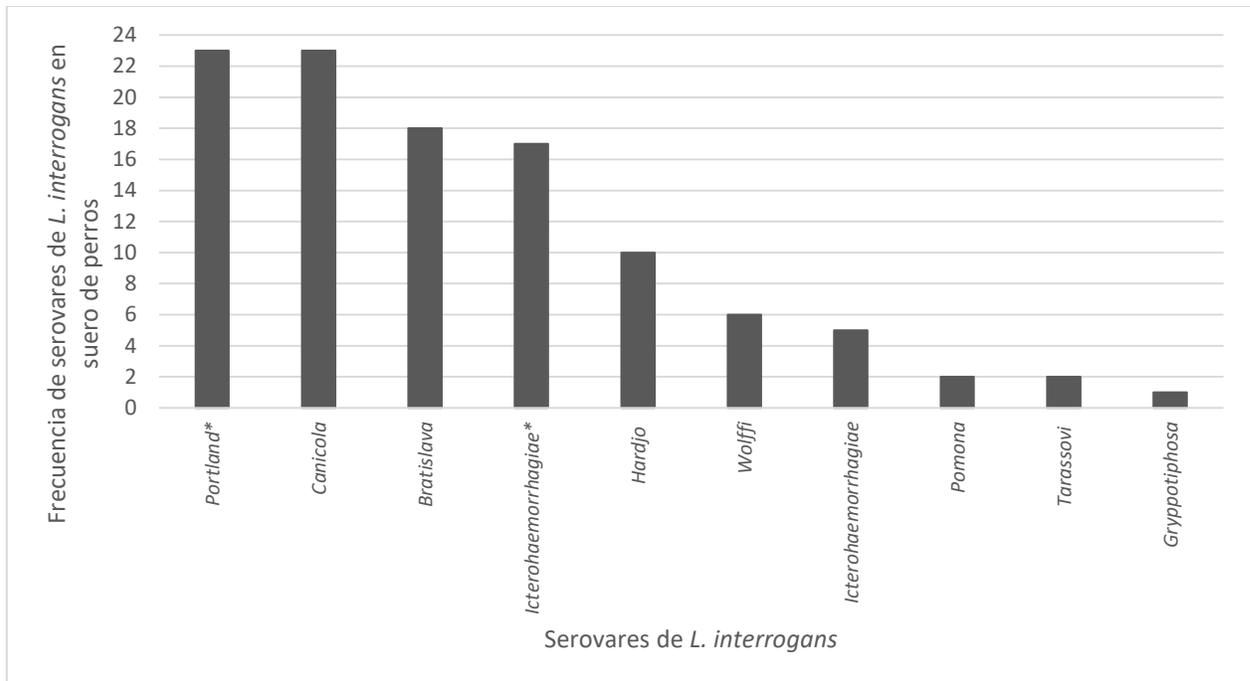


Figura 2. Frecuencia general de serovariedades de *L. interrogans* identificadas en muestras de perros del estado de Guanajuato.

De acuerdo con el municipio de origen del suero de los perros analizados, se registró una variación en el porcentaje de muestras positivas desde 0.9 a 21.5% a las diferentes serovariedades observadas (Cuadro 5).

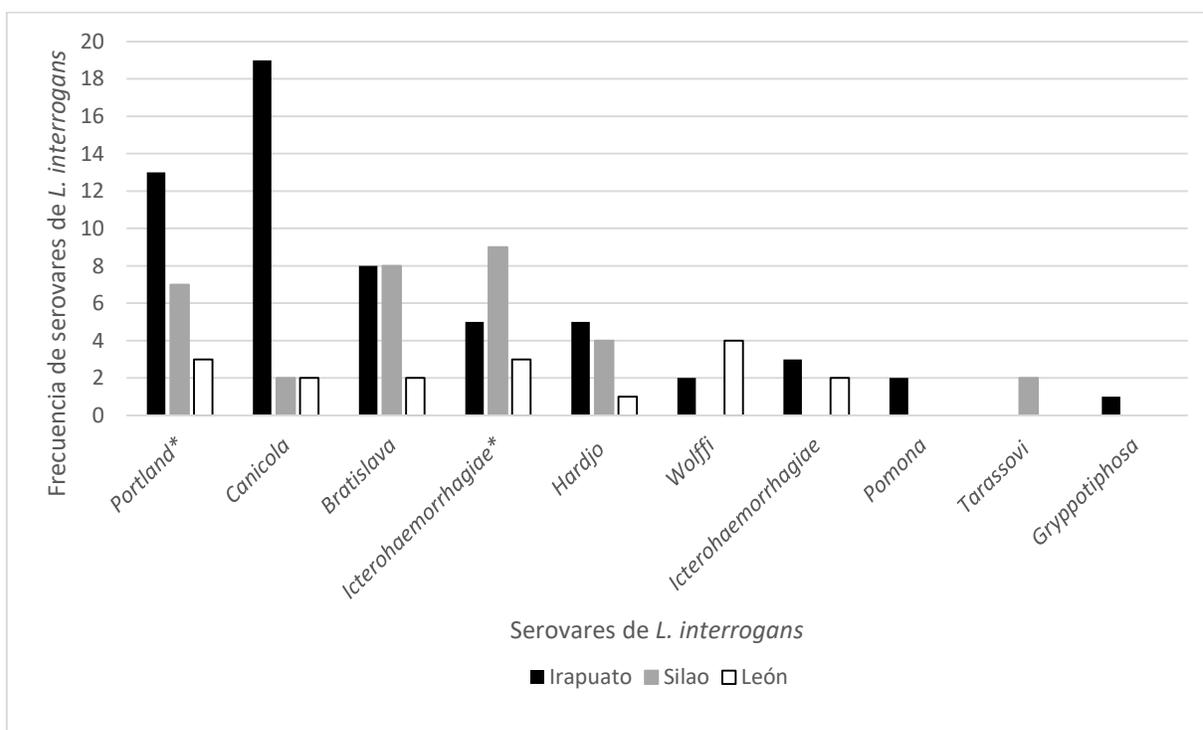
En la Figura 3 se puede observar la variación en la distribución de las serovariedades con base en el municipio de procedencia. Como se muestra en el Cuadro 5, el municipio de Irapuato registró una mayor proporción de animales y muestras positivas con un 54%, seguido de Silao y León con un 30 y 16%, respectivamente ($P < 0.01$).

Como se ha mencionado anteriormente, el análisis de las muestras de sueros de perros para la identificación de anticuerpos contra *L. interrogans*, mostró una amplia lista de serovares, entre los que sobresalen en la ciudad de Irapuato: *canicola*, *portland vere* y *bratislava*. En la ciudad de Silao, los serovares registrados fueron *icterohaemorrhagiae*, *bratislava* y *portland vere*. Finalmente, en la ciudad de León y las serovariedades más frecuentes fueron *icterohaemorrhagiae*, *wolffi* y *portland vere* (Figura 3).

Cuadro 5. Frecuencia y porcentaje de perros positivos a la presencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* en municipios del estado de Guanajuato.

Serovares (<i>L. interrogans</i>)	Irapuato (n=164)		Silao (109)		León (n=24)		Total (n=297)	
	Frec	%	Frec	%	Frec	%	Frec	%
<i>Portland vere</i> *	13	7.9	7	6.4	3	12.5	23	21.5
<i>Canicola</i>	19	11.6	2	1.8	2	8.3	23	21.5
<i>Bratislava</i>	8	4.9	8	7.3	2	8.3	18	16.8
<i>Icterohaemorrhagiae</i> *	5	3.0	9	8.3	3	12.5	17	15.9
<i>Hardjo</i>	5	3.0	4	3.7	1	4.2	10	9.3
<i>Wolffi</i>	2	1.2	--		4	16.7	6	5.6
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	3	1.8	--		2	8.3	5	4.7
<i>Pomona</i>	2	1.2	--		--		2	1.9
<i>Tarassovi</i>	--		2	1.8	--		2	1.9
<i>Grippotyphosa</i>	1	0.6					1	0.9
Total	58	54	32	30	17	16	107	

*Aislamiento nacional; Frec=Frecuencia; %=Porcentaje



*Aislamiento nacional

Figura 3. Frecuencia de serovariedades de *L. interrogans* identificadas en muestras de perros por municipio del estado de Guanajuato.

8 DISCUSIÓN

8.1 Serofrecuencia de anticuerpos de *L. interrogans*

Los resultados obtenidos en el presente estudio relacionados con la serofrecuencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* (21%) concuerdan con lo descrito por Luna *et al.* (2008) quienes señalaron que la dicha frecuencia de anticuerpos en caninos de diversas regiones de la república mexicana durante el periodo 1963 a 2005 osciló entre 16.7 y 87%. Asimismo, la frecuencia descrita por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológico (INDRE) para el periodo de 1989 a 1995 y por De la Peña-Moctezuma *et al.* (2012) fue en promedio del 62 y 27.3%, respectivamente.

En diversos estudios de investigación se hace referencia a la leptospirosis como una zoonosis, donde los perros figuran como los vectores. De acuerdo con diversos estudios realizados en perros clínicamente sanos, se ha estimado una seroprevalencia que oscila entre 4.9 y 35.7% (Chapola *et al.*, 2005; Jiménez-Coello *et al.*, 2008; Gautam *et al.*, 2010; Romero-Vivas *et al.*, 2013; Calderón *et al.*, 2014).

En el caso particular del único estudio realizado en el estado de Guanajuato, particularmente en la ciudad de Irapuato, la serofrecuencia de *L. interrogans* en perros obtenida por Andrade (2015) fue del 75% (27/36); porcentaje 3.8 veces mayor en comparación a la serofrecuencia de nuestro estudio, específicamente para el municipio de Irapuato (20%). Con el objeto de encontrar una justificación en las diferencias de las serofrecuencias de *L. interrogans* en los perros del municipio de Irapuato, es necesario señalar que las características de las muestras del estudio realizado por Andrade (2015), fueron exclusivamente perros capturados en vía pública, mientras que en nuestro estudio, las muestras procedían además de perros capturados en vía pública, de perros con propietario y hogar cotidiano, así como muestras remitidas por clínica veterinarias privadas. Además, de las características individuales antes mencionadas, éstas también procedieron tanto de zonas urbanas como de comunidades rurales de municipio en estudio, situación que puede explicar la amplia diferencia en la serofrecuencia encontrada.

8.2 Frecuencia de serovariedades de *L. interrogans*

Con relación a la seropositividad y a la frecuencia de serovariedades de *L. interrogans* encontradas en el presente estudio, nuestros resultados concuerdan con lo descrito por diversos autores quienes mencionan que, en México, *L. interrogans* serovar *canicola* y *L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* son los serovares más comúnmente identificados en los perros (Luna *et al.*, 2008). Sin embargo, de acuerdo a diversos autores, también fueron identificadas otro tipo de serovariedades como: *panama* y *pyrogenes* (Jiménez-Coello *et al.*, 2008); *grippotyphosa* y *wolffi* (Andrade, 2015); *bratislava* y *australis* (Hernández-Ramírez *et al.*, 2017); *hardjo* y *pomona* (Blum-Domínguez *et al.*, 2013); *autunmalis* y *ballum* (Cruz-Romero *et al.*, 2013); *portland vere*, cepa Sinaloa e *icterohaemorrhagiae*, cepa Palo Alto (Martínez-Barbabosa *et al.*, 2016); *tarassovi* y *pomona* (Mackintosh *et al.*, 1980).

Los resultados de este estudio representan un incremento que el conocimiento epidemiológico de la leptospirosis en el estado de Guanajuato, debido a que la alta frecuencia en la aglutinación en contra de serovares como: *icterohaemorrhagiae*, *pyrogenes* y *panama*, nos permite inferir que la transmisión del patógeno fue por contacto del perro con ratones, ratas y fauna silvestre como mapaches, zorrillos y zarigüeyas, especies de hospederos que se consideran como reservorios de estos serogrupos (Jiménez-Coello *et al.*, 2008). Además, en otro estudio, se encontró que las serovariedades *icterohaemorrhagiae* y *canicola* afectaron tanto en personas como en perros, lo que puede originar una potencial fuente de infección perro-persona y se podría afirmar que la leptospirosis no solo se transmite por el contacto con agua contaminada, orina, o bien, su ingreso a través de una herida o por piel, sino también debe de ser considerada como una zoonosis presente en las ciudades (Hernández-Niño *et al.*, 2009).

8.3 Serovariedades de *L. interrogans* y la vacunación en perros

De acuerdo con De la Peña-Moctezuma *et al.* (2012), los protocolos de inmunización en contra de la leptospirosis en perros, bovinos y cerdos, además de contener

antígenos distintos del mismo microorganismo denominándose poli o multivalentes, éstos deberían de tomar en cuenta las diferencias potenciales de las cepas regionales. Por un lado, en México, se han registrado y asociado a una especie en particular, seroprevalencias y frecuencia de serovares para: bovinos (49-85%, *hardjo*, *pomona* y *tarassovi*); cerdos (18.5%, *bratislava*, *pomona*, *canicola*) y perros (27.3%, *canicola*, *grippotyphosa* y *pyrogenes*). Por el otro, Adler *et al.* (2011), mencionan que existe una clara asociación, pero no absoluta de mantenimiento entre una especie de hospedero y las serovariedades de *L. interrogans* tales como: *canicola* (perros), *hardjo* (bovinos), *pomona* y *bratislava* (cerdos) y *copenhageni* (ratas y otros roedores).

En el cuadro 2 se puede apreciar la composición de la formulación de los principales biológicos autorizados y distribuidos en México para la prevención y control de la leptospirosis en los animales domésticos. Al respecto, en México al igual que en otros países, la mayoría de los biológicos utilizados contienen las serovariedades *canicola* e *icterohaemorrhagiae* (Mayer-Scholl *et al.*, 2013). La vacunación es la forma más lógica para tratar de controlar la infección y reducir la prevalencia de manifestaciones clínicas, así como su distribución. Sin embargo, en Europa a pesar de la aplicación de las vacunas bivalentes en perros con estas serovariedades, se han registrado cuadros clínicos de leptospirosis (Khon *et al.*, 2010).

De acuerdo con los resultados del presente estudio relacionados con la identificación de las diferentes serovariedades de *L. interrogans*; en México y por ende en el estado de Guanajuato, se comercializan biológicos para perros hasta con seis serovariedades distintas (Cuadro 2), sin embargo, algunas de las serovariedades mostraron una frecuencia importante como *portland vere* (cepa Sinaloa), *icterohaemorrhagiae* (cepa Palo Alto) y *hardjo*, mismas que no se contemplan en los productos comerciales disponibles, y esto impacta de forma directa en la epidemiología de la enfermedad en los perros en México (De la Peña-Moctezuma *et al.*, 2012). Es necesario recordar que las vacunas no proveen protección cruzada con otras serovariedades, debido a que la bacteriana para perros están elaboradas a partir de células completas (McDonough, 2001).

Finalmente, en el manejo integral de la leptospirosis en los perros, las medidas preventivas como la vacunación y la reducción en la exposición de las mascotas con los reservorios de la bacteria, así como el incremento en el conocimiento y en la concientización de la leptospirosis como enfermedad, tanto de los médicos veterinarios, criadores, personal de cuidado y los propietarios (Azócar-Aedo *et al.*, 2018). Es necesario resaltar que la vacunación no solo protege directamente al perro de la leptospirosis, sino que también indirectamente a los propietarios al disminuir el riesgo de eliminación de bacterias en cuadros subclínicos (Azócar-Aedo *et al.*, 2018; Murphy, 2018).

9 CONCLUSIONES

En el presente estudio se rechaza la hipótesis dado que la serofrecuencia general obtenida no fue superior al 30% planteada. Sin embargo, la frecuencia parcial por el municipio de León mostró un 29%, seguido de Silao e Irapuato con 21 y 20%, respectivamente.

En el presente estudio fueron identificadas además de *L. interrogans* serovar *canicola*, diversas serovariedades no específicas para los perros (*bratislava*, *hardjo*, *wolffi*, *pomona*, *tarassovi* y *grippotyphosa*). Lo que confirma la capacidad infectiva y adaptativa de *L. interrogans* al hospedero “perro” como los seleccionados de los municipios del estado de Guanajuato.

Los resultados de este estudio indican que la leptospirosis canina está presente en los municipios seleccionados del estado de Guanajuato y que *L. interrogans* se ha adaptado y persiste en el ambiente y reservorios diversos bajo las condiciones ambientales y climáticas del Bajío. Por ello, además de ser un potencial vector de la enfermedad, el perro puede figurar como un indicador de la alta presión infecciosa en el ambiente del presente estudio. Por lo tanto, un mayor número de infecciones activas en nuestra población canina debería aumentar la conciencia de la enfermedad en humanos y otras especies animales y apoyar los esfuerzos de diagnóstico temprano e intervención terapéutica.

10 LITERATURA CITADA

- Abela-Ridder, B., Sikkema, R., Hartskeerl, RA. 2010. Estimating the burden of human leptospirosis. *Int J Antimicrob Agents*, 36:S5–7.
- Adagio, I., D'Amico, G., Wheeler, JT., Lattanzi, D., Hagge, M., Hierro, J., Somoza, J., Toribio, M., Álvarez, E. 2000. Estudio preliminar serológico de leptospirosis canina y humana en la ciudad de General Pico y zona de influencia. *Ciencia Vet*, 2:5-11.
- Álvarez, L., Calderón, A., Rodríguez, V., Arriete, G. 2011. Seroprevalence of canine leptospirosis in a rural community in the municipality of Ciénega de Oro, Córdoba (Colombia). *Rev UDCA Act Div Cient*, 14(2):75-81.
- Andrade J. 2015. Frecuencia de anticuerpos anti-*Leptospira interrogans* en caninos capturados en vía pública del municipio de Irapuato, Guanajuato. Tesis UGTO.
- André-Fontaine, G. 2006. Canine leptospirosis — do we have a problem? *Vet Microbiol*, 117:19–24.
- Arriete-Bernate, G., Calderón-Rangel, A., Rodríguez, V., Álvarez, J., Mattar-V, S. 2016. Presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* (sensu lato) en caninos semidomésticos en Sincelejo, Sucre (Colombia). *Rev Vet Zoot*, 10(1):89-103.
- Aslantas, TO., Ozdemirb, V., Kilic, S., Babur, C. 2005. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis, and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey. *Vet Parasitol*, 129:187-191.
- Azócar-Aedo, L., Monti, G., Jara, R. 2018. Serological conversion for anti-*Leptospira* antibodies among domestic dogs from southern Chile, A prospective study. *J Vet Med Res*, 5(8):1154-1160.
- Blum-Domínguez, S., Chi-Dzib, M., Maldonado-Velázquez, MG., Núñez-Oreza, LA., Gómez-Solano, MI., Caballero-Poot, R., Tamay-Segovia, P. 2013. Detection of reactive canines to *Leptospira* in Campeche city, Mexico. *Rev Argentina Microbiol*, 45:34-38.
- Calderon, A.; Rodriguez, V.; Mattar, S.; Arrieta, G. 2014. Leptospirosis in pigs, dogs, rodents, humans, and water in an area of the Colombian tropics. *Trop. Anim. Health Prod*, 46:427–432.
- CDC. 2015. Leptospirosis. Center for disease control and prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/leptospirosis/> (Consultado el 03 de marzo de 2018).
- Cerqueira, GM., Picardeau, M. 2009. A century of *Leptospira* strain typing. *Infect Genet Evol*, 9:760–768.
- Céspedes, M., Chun, M., Cano, E., Huaranca, I., Atoche, H., Ortiz, H., Valentin, M., Balda, L., Huamán, T. 2007. *Rev Perú Med Exp Salud Public*, 24(4):343-349.
- Chapola, EG., dos Santos, M., Bessa, TA., de Oliveira, ML., 2005. Human and canine leptospirosis: Serological data of Sao Paulo city, Brazil, 2000 to 2003. *Rev Cubana Med Trop*, 57:61–62.

- Chirathaworn, C., Inwattana, R., Poovorawan, Y., Suwancharoen, D. 2014. Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. *Asian Pacific J Trop Biomed*, 4:S162-S164.
- Cruz-Romero, A., Romero-Salas, D., Ahuja, C., Aguilar-Domínguez, M., Bautista-Piña, C. 2013. Frequency of canine leptospirosis in dog shelters in Veracruz, Mexico. *African J Microbiol Res*, 7(16):1518-1521.
- Cuevas, C. 2010. Aspectos biológicos de importancia clínica del género *Leptospira* y pruebas de laboratorio tradicional y molecular. Tesis. Disponible en: <http://www.bidi.uson.mx/TesisIndice.aspx?tesis=21934> (Consultado 24 de marzo de 2018).
- De la Peña-Moctezuma A. 2012. *Leptospira* vaccines in Mexico. Presented at the international workshop on alternative methods for *Leptospira* vaccine potency testing: state of the science and the way forward, U.S. Ames, Iowa, USA: Department of Agriculture Center for Veterinary Biologics, National Centers for Animal Health. Available at: <http://iccvam.niehs.nih.gov/meetings/LeptoVaccWksp-2012/LeptoVaccWksp.htm>; September 19e21, 2012.
- Delaude, A., Rodríguez-Campos, S., Dreyfus, A., Jacques, M., Francey, T., Schweighauser, A., Lettry, S., Schuller, S. 2017. Canine leptospirosis in Switzerland, a prospective cross-sectional study examining seroprevalence, risk factors and urinary shedding of pathogenic leptospires. *Prevent Vet Med*, 141:48-60.
- García-González, R., Reyes-Torres, A., Basilio-Hernández, D., Ramírez-Pérez, M., Rivas-Sánchez B. 2013. Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev Latinoamer Patol Clin*, 60(1):57-70. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2013/pt131g.pdf> (Consultado 10 de marzo de 2018).
- Gatley, JM. 2009. The Prevalence of *Leptospira* serovars causing infection in dogs in South Africa. M. Sc. Thesis, University of Pretoria, South Africa.
- Gautam, R., Wu, CC., Guptill, LF., Potter, A., Moore, GE. 2010. Detection of antibodies against *Leptospira* serovars via microscopic agglutination tests in dogs in the united states, 2000–2007. *J Am Vet Med Assoc*, 237:293–298.
- Godinez, J. 2013. Manual de diagnostic microbiologico de *Leptospira interrogans*. Tesis UNAM.
- Gualtieri, C., Carlín, C., Peralta, I., Peirone, C., Gattarello, V. Marc, L., Molteni, H., Arestegui, M., François, S. 2012. Evaluación clínica, bioquímica y hematológica de caninos seropositivos a distintos serovares de *Leptospira interrogans* (Artículo). *InVet* vol.14 (2) [en línea] Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1668-34982012000200001&script=sci_arttext&lng=en (Consultado 3 de marzo de 2018).
- Hernández, C., Gaxiola, S., Camacho, O., Enríquez I., Castro del Campo N., López H. 2017. Prevalence and risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs from Culiacan, Sinaloa. *Vet Mex*, 4(2):1-12.

- Hernández-Niño, J., Hernández-Molano, A., Tello-Castro V. 2009. Seroprevalence of leptospirosis in stray dogs and people of high occupational risk in the city of Tunja. *Rev Teo Praxis Invest*, 4(1):33-38.
- Hernández-Ramírez, CV., Gaxiola-Camacho, SM., Ozuna-Ramírez, I., Enríquez-Verdugo, I., Castro-Del Campo, N., López-Moreno, HS. 2017. Prevalence and risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs from Culiacan, Sinaloa. *Vet Mex*, 4(2):1-12.
- Hussien, H., Abood, S., Ali, SA. 2017. First serological and molecular detection of *Leptospira interrogans* serovar canicola bacteria in dogs in some Iraqi Governorates. *J Educ College*, 1(28):621-636.
- INEGI. 2017. Anuario estadístico y geográfico de Guanajuato 2017. Disponible en: http://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF_Docs/GTO_ANUARIO_PDF.pdf (Consultado 25 de abril de 2018).
- INEGI. 2018. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/> (Consultado 14 de mayo de 2018).
- Jansen, A., Schoneberg, I., Alpers, FK., Schneider, T., Stark, K. 2005. Leptospirosis in Germany, 1962–2003. *Emerg Infect Dis*, 11(2005):1048-1054.
- Jiménez-Coello, M., Vado-Solis, I., Cardenas-Marrufo, F., Rodríguez-Buenfil, J., Ortega-Pacheco, J. 2008. Serological survey of canine leptospirosis in the tropics of Yucatan Mexico using two different tests. *Acta Trop*, 106:22–26.
- Kohn, B., Steinicke, K., Arndt, G., Gruber, AD., Guerra, B., Jansen, A., Kaser-Hotz, B., Klopffleisch, R., Lotz, F., Luge, E., Nöckler, K. 2010. Pulmonary abnormalities in dogs with leptospirosis. *J Vet Intern Med*, 24(6):1277-1282.
- Lau, S., Wong, J., Khor, K., Roslan, M., Abdul, M., Bejo, S., Radzi, R., Bahaman, A. 2017. Seroprevalence of leptospirosis in working dogs. *Trop Comp Med*, 32:121-125.
- Lavinsky, M., Roueda, A., Strenzel, G., Langoni H. 2012. Seroprevalence of anti-*Leptospira spp.* antibodies in dogs in Bahia, Brazil. *Prev Vet Med*, 106:79-84.
- Levett, P. 2001. Leptospirosis. *Clinical Microbiol Review*, 14(2):296–326.
- Luna, A., Molesb, C., Gavaldónb, R., Navad, V. y Salazar, G. 2008. La leptospirosis canina y su problemática en México (Artículo). *Rev. Salud Anim*, 30(1):1-11 [en línea] Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v30n1/rsa01108.pdf> (Consultado 16 de febrero de 2018).
- Mackintosh, CG., Blackmore, DK., Marshall, RB. 1980. Isolation of *Leptospira interrogans* serovars tarassovi and pomona from dogs, *New Zealand Vet J*, 28:5.
- Martínez-Barbosa, I., Alpizar-Sosa, E., Gavaldon-Rosas, D., Moles-Cervantes, L., Gutiérrez, M., García-González, R., Shea, M., Fernández-Preas, A. 2016. Canine leptospirosis serology in southern Mexico city. *Open J Med Microbiol*, 6:171-180.

- Mayer-Scholl, A., Luge, E., Draeger, A., Nöckler, K., Kohn, B. 2013. Distribution of *Leptospira* serogroups in dogs from Berlin, Germany. *Vector Borne Zoon Dis*, 13: 200-202.
- McDonough, P. 2001. Leptospirosis en caninos - estado actual. Department of Population Medicine and Diagnostic Science, Diagnostic Laboratory, College of Veterinary Medicine, Cornell University, New York (USA).
- Medina, AZ., Guerra, BM., Veliz, N. 2010. Estudio serológico de leptospirosis en caninos de un albergue en el estado Aragua. *Rev Fac Ciencias Vet*, 51(2):093097.
- Moore, G., Guptill, L., Glickman, N., Caldanaro, R., Aucoin, D., y Glickman L. 2006. Canine Leptospirosis, United States, 2002–2004 (Artículo). *Emerg Infect Dis*, 12(3): 501–503 [en línea] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3291439/#R1> (Consultado 16 de febrero de 2018).
- Murphy K. 2018. Leptospirosis in dogs and cats: new challenges from an old bacteria. *In Practice*, 40:218-229.
- OIE. 2014. Leptospirosis (Artículo). Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres 1-15 [en línea] disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.12_LEPTO.pdf (Consultado 16 de febrero de 2018).
- Ortega-Pacheco, A., Guzmán-Marín, E., Acosta-Viana, K., Vado-Solís, I. Jiménez-Delgadillo, B., Cárdenas-Marrufo, M., Pérez-Osorio, C., Puerto-Solís, M., Jimenez-Coello, M. 2017. Serological survey of *Leptospira interrogans*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi* in free roaming domestic dogs and cats from a marginated rural area of Yucatan Mexico. *Vet Med Sci*, 3:40-47.
- Pappas, G., Papadimitriou, P., Siozopoulou, V., Christou, L., Akritidis, N. 2008. The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int J Infect Dis*, 12:351-357.
- Pérez-Elías, Y., Obregón-Fuentes, AM., Rodríguez-Reyes, IC., Alfonso-González, MJ. 2015. Updating on the diagnosis of human leptospirosis. *Rev Cubana Med Militar*, 44(4):416-427.
- Picardeau, M. 2013. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. 2013. *Médecine et maladies infectieuses*. Vol. 43:1-9.
- Rivera, A., Peña, A., Roa, María de los Ángeles., Ordoñez, M. 1999. Seroprevalencia de leptospirosis en perros callejeros del norte de la ciudad de México. *Vet Mex*, 30(1):105-107.
- Rodríguez, AL., Ferro, BE., Varona, MX., Santafé, M. 2004. Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali. *Biomedica*, 24:291-295.
- Rollán, MaR., Irrazabal, MG., Scialfa, E., Zurbriggen, G., Graff, D., Giraudó, FJ., Ruiz, SE. 2018. Seroprevalencia de *Leptospira* spp. en caninos de la ciudad de Córdoba, Argentina. *Rev Salud Public*, 3:68-76.

- Romero, M., Astudillo, M., Aguillón, D., Lucio, I. 2018. Evidencia serologica de leptospirosis canina en la comunidad indigena Kamentsá, Putumayo, Colombia. *Rev Inv Vet Perú*, 29(2):625-634.
- Romero, M., Sánchez, J., Hayek, L. 2010. Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en poblacion urbana humana y canina del departamento de Tolima. *Rev Salud Public*, 12(2):268-275.
- Romero-Peñuela, MH., Astudillo-Hernández MA., Quintero-Martínez ME. 2009. Seroprevalencia y serotipificación de leptospirosis canina en el municipio de Buenaventura (Valle del Cauca). *Biosalud*, 8:71-79.
- Romero-Vivas, C.M.; Thiry, D.; Rodriguez, V.; Calderon, A.; Arrieta, G.; Mattar, S.; Cuello, M.; Levett, P.N.; Falconar, A.K. 2013. Molecular serovar characterization of *Leptospira* isolates from animals and water in Colombia. *Biomedica*, 33:179–184.
- Roqueplo, C., Marié, J., André-Fontaine, G., Kodjo, A., Davoust, B. 2015. Serological survey of canine leptospirosis in the countries of tropical Africa: Sudan, Gabon and Ivory coast. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 38:57-61.
- Rubel, D., Seijo, A., Cernigoi, B., Viale, A., Wisnivesky-Colli, C. 1997. *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. *Rev Panam Salud Public*, 2:102-5.
- Samir A., Momtaz, W. (2013) A simple technique for long-term preservation of leptospires. *J Basic Microbiol*; 53:299-301
- Schneider, MC., Jancloes, M., Buss, DF., Aldighieri, S., Bertherat, E., Najera, P., Galan, DI., Durski, K., Espinal, MA. 2013. Leptospirosis: A Silent Epidemic Disease. *Int J Environ Res Public Health*, 10:7229-7234.
- Secretaria de salud. 2017. Panorama epidemiológico del dengue. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/285237/Pano_dengue_sem_52_2017.pdf
- Senior, K. 2008. Climate change and infectious disease: a dangerous liaison? *Lancet Infect Dis*, 8(2):92–93.
- Silva R., Riedemannb, S. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. *Arch Med Vet*, 39(3):269-274.
- Spickler, Anna Rovid, Leedom Larson KR. 2013. Leptospirosis. Retrieved from <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>
- Sykes, E. 2014. Leptospirosis. *Canine Feline Infect Dis*, 474–486
- The Center for Food Security and Public Health (CFSPH). 2005. Leptospirosis. College of Veterinary Medicine. Iowa State University. 1-8.
- Torres-Castro M., Hernández-Betancourt S., Agudelo-Flórez P., Arroyave-Sierra E., Zavala-Castro J., Puertoa F. 2016. Revisión actual de la epidemiología de la

leptospirosis. Rev Med Inst Mex Seguro Soc, 54(5):620-5
<http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im165k.pdf>

- Tuemmers, C., Luders, C., Rojas, C., Serri, M., Espinoza, R., Castillo, C. 2013. Prevalencia de leptospirosis en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco. Rev.Chilena infectol. Vol. 30 (3): 252-257.
- Vijayachari, P., Sugunan, AP., Shriram, AN. 2008. Leptospirosis: an emerging global public health problem. J Biosci, 33(4):557-569.
- Vojinović, D., Bogićević, N., Vasić, A., Manić, M., Elezović, M., Rogožarski, D., Marić, J., Valčić, M. 2015. Seroepidemiological survey of *Leptospira* infection in stray dogs in serbia. Turkish J Vet Anim Sci, 39:719-723.
- White, A., Zambrana-Torrel, C., Allen, T., Rostal, M., Wright, A., Ball, E., Daszak, P., Karesh, W. 2017. Hotspots of canine leptospirosis in the United States of America. Vet J, 222:29-35.
- WHO. 2003. World Health Organization. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control.
- Yitzhaki, S., Barnea, A., Keysary, A., Zahavy, E. 2004. New Approach for Serological Testing for Leptospirosis by Using Detection of *Leptospira* Agglutination by Flow Cytometry Light Scatter Analysis. J Clinical Microbiol, 1680–1685.