

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA  
COLEGIO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS**



**TESIS:**

**“DETERMINACIÓN DE SEROPREVALENCIA Y SEROVARIEDADES  
DE *Leptospira interrogans* EN DONADORES DE SANGRE Y  
PROBABLE FUENTE DE INFECCIÓN.”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PRESENTA:**

**CARLOS VÍCTOR HERNÁNDEZ RAMÍREZ**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**DRA. SOILA MARIBEL GAXIOLA CAMACHO**

**CO-DIRECTORA DE TESIS:**

**DRA. IDALIA ENRÍQUEZ VERDUGO**

**ASESORES:**

**DR. IGNACIO OSUNA RAMÍREZ**

**DR. JOSÉ RAMÓN RIVAS LLAMAS**

Culiacán, Sinaloa, México; Marzo 2018

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **CARLOS VÍCTOR HERNÁNDEZ RAMÍREZ**,  
BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA  
SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA                      DRA. SOILA MARIBEL GAXIOLA CAMACHO

CO-DIRECTORA                DRA. IDALIA ENRÍQUEZ VERDUGO

ASESOR                         DR. IGNACIO OSUNA RAMÍREZ

ASESOR                         DR JOSÉ RAMÓN RIVAS LLAMAS

CULIACÁN, SINALOA MARZO DE 2018



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN  
FACULTAD DE AGRICULTURA DEL VALLE DEL FUERTE  
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
FACULTAD DE AGRICULTURA DEL VALLE DEL  
CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 10 de abril del año 2018, el que suscribe Carlos Víctor Hernández Ramírez, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 0626161-2, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta, que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho y cedo los derechos del trabajo titulado “Determinación de seroprevalencia y serovariedades de *Leptospira interrogans* en donadores de sangre y probable fuente de infección”, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

---

Carlos Víctor Hernández Ramírez



## UAS- Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.

**DEDICATORIA****A****LYDIA RAMÍREZ SÁNCHEZ****CARLOS RODRIGO HERNÁNDEZ CRUZ****PAULINA GUADALUPE HERNÁNDEZ CRUZ****KARLA ISELA HERNÁNDEZ PONCE****VICTORIA NOEMÍ HERNÁNDEZ ZAMBRANO****SAÚL EDUARDO HERNÁNDEZ ZAMBRANO****TERESA DE JESÚS ZAMBRANO PARDO**

“Puede decirse que la diferencia más sobresaliente entre los hombres de Ciencia y los demás profesionales, es que los primeros aceptan su ignorancia y parten de ella para realizar sus trabajos y observaciones, mientras que los segundos basan sus actividades en los conocimientos que ya poseen o creen poseer”.

Ruy Pérez Tamayo (1924)  
Médico, Académico y Científico Mexicano

**AGRADECIMIENTOS**

DRA. SOILA MARIBEL GAXIOLA CAMACHO  
DRA. IDALIA ENRÍQUEZ VERDUGO  
DR. IGNACIO OSUNA RAMÍREZ  
DR. JOSÉ RAMÓN RIVAS LLAMAS  
MC AURORA PARISSI  
DR. RAFAEL HERNÁNDEZ SANTIAGO  
DRA. ROSA DE JESÚS CASTILLO DE HARO  
TS. ELENA IZAGUIRRE CORRAL  
TS. MIREYA PARDO HERNÁNDEZ  
TS. TOMÁS DE JESÚS CHAIRES PÉREZ  
ENF. ALMA PATRICIA BELTRÁN  
QFB. MAYRA ESTHELA ARMENTA PONCE  
QFB. ANA KARINA VILLARREAL HERNÁNDEZ  
QFB. LUCÍA ZAVALA GARCÍA  
QFB. JORGE LUIS RUIZ FIGUEROA  
QFB. LETICIA MUÑOZ SERNA  
TS. ROSA MARÍA LÓPEZ RODRÍGUEZ  
TS. OLGA LIDIA ASTORGA SANDOVAL  
TS. JUDITH MARTINA RAMÍREZ OCHOA  
ENF. CELIA COTA MILLÁN  
LIC. GISELA NUÑEZ ROJO  
QFB. CITLALY BERENICE AGUILAR VELARDE  
ENF. NIDIA GUADALUPE MENDOZA LÓPEZ  
LTS. GLADIS INUSTROSA CARDENAS  
QFB. JULIO CESAR MORALES BAEZ  
QFB. ERIKA AYALA CARDENAS  
QFB. ALBA ELENA GÓMEZ GAXIOLA  
QFB. ANGELA LOAIZA PRADO  
QFB. JOSÉ IZAUN AVILÉS SEDANO  
DR. JESÚS SALVADOR VELARDE FÉLIX  
DR. EDUARDO LLAUSAS MAGAÑA  
DRA. LAURA BEATRÍZ RAMÍREZ GASTÉLUM  
QFB. SONIA ARTEMISA ACEVES HERNÁNDEZ  
LTS. MIRIAM CECILIA MUÑOZ PÉREZ  
DRA. MARGARITA ALEMÁN VARGAS  
BIOL. DULCE CAROLINA SÁNCHEZ GARCÍA  
LIC. ALJOBÍN TERRAZAS LÓPEZ  
DR. JAVIER ROMO RUBIO  
MC. NOHEMÍ CASTRO DEL CAMPO  
MC. CESAR NOÉ BADILLA MEDINA  
MC. REBECA CASTRO LÓPEZ  
MVZ. GABRIELA JUAREZ CRÚZ  
MC. CARMEN GABRIELA CORONADO TREJO

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xi</b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>1.1 INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1.2 REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
<b>1.2.1 MORFOLOGÍA</b>	<b>3</b>
<b>1.2.2 TAXONOMÍA</b>	<b>4</b>
<b>1.2.3 FISIOPATOLOGÍA</b>	<b>6</b>
<b>1.2.4 DIAGNÓSTICO</b>	<b>7</b>
<b>1.2.5 RESERVORIOS</b>	<b>10</b>
<b>1.2.6 FACTORES DE RIEGO Y ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS</b>	<b>11</b>
<b>1.2.7 FACTORES DE RIESGO EN CANINOS</b>	<b>13</b>
<b>1.2.8 CUADRO CLÍNICO</b>	<b>14</b>
<b>1.2.9 LEPTOSPIROSIS EN SERES HUMANOS</b>	<b>16</b>
<b>1.2.10 LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES</b>	<b>17</b>
<b>1.2.11 PANORAMA MUNDIAL</b>	<b>18</b>
<b>1.2.12 SEROREVALENCIA EN MÉXICO</b>	<b>20</b>
<b>1.2.13 SEROPREVALENCIA EN HUMANOS Y ANIMALES</b>	<b>21</b>
<b>1.2.14 SINALOA PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO</b>	<b>22</b>

**CAPÍTULO 2.**

<b>PREVALENCE AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH SEROVARS OF LEPTOSPIRA IN DOGS FROM CULIACAN, SINALOA.</b>	<b>23</b>
<b>ABSTRAC</b>	<b>23</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>24</b>
<b>MATERIALS AND METHODS</b>	<b>26</b>
<b>RESULTS AND DISCUSSION</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSIONS</b>	<b>32</b>
<b>REFERENCES</b>	<b>33</b>

**CAPÍTULO 3**

<b>PREVALENCE AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH SEROVARS OF LEPTOSPIRA IN DOGS, RELATED HUMAN SEROPOSITIVE</b>	<b>38</b>
<b>ABSTRAC</b>	<b>38</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>39</b>
<b>MATERIALS AND METHODS</b>	<b>41</b>
<b>RESULTS AND DISCUSSION</b>	<b>42</b>
<b>CONCLUSIONS</b>	<b>45</b>
<b>REFERENCES</b>	<b>46</b>

**CAPÍTULO 4**

<b>PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LAS SEROVARIEDADES DE <i>Leptospira interrogans</i> EN DONADORES DE SANGRE EN UN ÁREA ENDÉMICA DE MÉXICO.</b>	<b>51</b>
---	-----------



<b>RESUMEN</b>	<b>51</b>
<b>ABSTRAC</b>	<b>52</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>53</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>55</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>56</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>57</b>
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>59</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>60</b>
<b>ANEXO 1 Encuesta epidemiológica</b>	<b>64</b>
<b>Operacionalización de las Variables.</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO 2 Consentimiento informado para participantes de investigación</b>	<b>68</b>
<b>CAPÍTULO 5</b>	
<b>CONCLUSIÓN GENERAL</b>	<b>70</b>
<b>CAPÍTULO 6</b>	
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>71</b>

**ÍNDICE DE CUADROS**

<b>CUADRO 1 SEROVARIEDADES DE <i>Leptospira interrogans</i> IDENTIFICADAS EN DONADORES DE SANGRE.</b>	<b>91</b>
<b>CUADRO 2 OCUPACIÓN LABORAL.</b>	<b>91</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 2</b>	<b>FRECUENCIA DE SEROVARES DE <i>Leptospira</i> DONADORES DE SANGRE</b>	<b>92</b>
-----------------	---	-----------

## RESUMEN

### DETERMINACIÓN DE SEROPREVALENCIA Y SEROVARIEDADES DE *Leptospira interrogans*, EN DONADORES DE SANGRE Y PROBABLE FUENTE DE INFECCIÓN.

**Carlos Víctor Hernández Ramírez**

Para determinar la seroprevalencia y serovariedades de las especies de *Leptospira interrogans*, en donadores de sangre, así como su probable fuente de infección animal en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, se realizó el estudio de 247 muestras de donadores de sangre de hospitales públicos las muestras se obtuvieron previo consentimiento informado de los participantes, se obtuvo el suero y se mantuvieron en ultra congelador (-40 °C) hasta su análisis por la técnica de Micro Aglutinación (MAT). El resultado indicó a 8 donadores de sangre positivos con una o dos serovariedades (37.6 y 62.5%, respectivamente), observándose los siguientes serovares con sus respectivas frecuencias: Canicola (50%), Icterohaemorrhagiae (37.55%), Pyrogenes (25%), Autumnalis (25%), Pomona (25%). El porcentaje de reactores positivos a la prueba indica una prevalencia de 3.2% para donadores de sangre de la ciudad de Culiacán, por unidad Hospitalaria, la prevalencia varía, en el Hospital General de Culiacán 2.2% y para el Hospital Pediátrico de Sinaloa 6%. Los análisis indican diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) respecto a la ocupación laboral. Se realizó el estudio de 106 muestras serológicas, de perros con su respectiva encuesta epidemiológica, estos fueron localizados en casas y calles de donadores de sangre, seropositivos. Los resultados indicaron seropositividad en perros de cinco de las ocho colonias muestreadas (62.5%) identificándose once serovariedades. Las muestras serológicas de los caninos se procesaron mediante la prueba de MAT. La prevalencia observada de anticuerpos antileptospira fue del 17% (18/106). Los serovares identificados y su respectiva frecuencia fueron: Wolffi (66.6%), Bratislava (22.2%), Australis (16.6%), Canicola (11.1%), Grippotyphosa (11.1%), Pyrogenes (11.1%), Hardjo (5.5%), Icterohaemorrhagiae (5.5%), Pomona (5.5%), Hebdomadis (5.5%), Shermani (5.5%). Los factores de riesgo asociados con la presencia de esta bacteria, basados en estudios epidemiológicos, incluyen el sexo de las mascotas hembras ( $p < 0.05$ ; OR = 2.9) y los perros que se quedan en casa y tienen acceso a la calle tendencia marginal ( $p = 0.06$ ). Los serovares probados en los perros incluyen a todos los identificados en los humanos, únicamente el serovar Automalis no está incluido en el panel de diagnóstico. El estado de Sinaloa es una zona endémica de Leptospirosis, en los donadores de sangre se observaron anticuerpos antileptospira *interrogans* para cinco serovares, se identificaron once serovares en caninos que incluyen todos los identificados en humanos, se identificaron factores de riesgo relacionados con la enfermedad en los seres humanos y animales manteniendo con esto la posibilidad de contagio.

**Palabras clave:** Leptospirosis, *Leptospira interrogans*, donantes de sangre, prevalencia, factores de riesgo, perros.

## ABSTRACT

To determine the prevalence and serovars of *Leptospira interrogans* species in blood donors and their likely source of animal infection in the Cd. of Culiacan, Sinaloa, the study of 247 samples blood donors from public hospitals samples were taken (informed consent) serum was obtained and maintained in ultra freezer (-40 ° C) until its use, where analyzed by micro agglutination technique (MAT). The result indicated that eight blood donors were positive with one or two serovars (37.55 and 62.5% respectively) meeting: Canicola, (50%) Icterohaemorrhagiae (37.55%) Pyrogenes. (25%) Autumnalis, (25%) Pomona (25%). The percentage of positive test reactors indicates a prevalence of 3.23% for blood donors city of Culiacan, hospital unit, the prevalence varies in the General Hospital of Culiacan it was 2.20% and for the Pediatrics Hospital of Sinaloa was 6 %. We obtained serum from the blood samples of 106 dogs, related humans seropositive (blood donors of public hospitals). The samples were stored at -40 °C until use and were analyzed using the leptospirosis microscopic agglutination test (MAT). An epidemiological survey was conducted in order to identify risk factors. Statistical analyzes were done using the chisquare test. The risk (OR: odds ratio) and the confidence intervals were calculated using the logistic regression model. A value of  $P < 0.05$  was considered statistically significant. The prevalence of *Leptospira* was 17% (18/106), and we identified eleven serovars and their respective frequency: Wolffi (66.6%), Bratislava (22.2%), Australis (16.6%), Canicola (11.1%), Grippotyphosa (11.1%), Pyrogenes (11.1%), Hardjo (5.5%), Icterohaemorrhagiae (5.5%), Pomona (5.5%), Hebdomadis (5.5%), Shermani (5.5%). The risk factors associated with the detection of antibodies to this bacteria, based on epidemiological surveys, include the sex of pets female ( $p < 0.05$ ; OR= 2.9) and the dogs who stay at home and have access to the street was marginally significant ( $p = 0.06$ ). All serovars tested in dogs include all those identified in humans, only serovar Automalis is not included in the diagnostic panel. The state of Sinaloa is an endemic area of Leptospirosis, blood donors were observed antileptospira *interrogans* antibodies for five serovars, eleven serovars were identified in canines that include all those identified in humans, risk factors related to the disease were identified in the human beings and animals maintaining with this the possibility of contagion.

**Key words:** Leptospirosis, *Leptospira Interrogans*, blood donors, prevalence, risk factors, dogs.

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1 INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es la enfermedad zoonótica más difundida en el mundo tiene tanto importancia económica como sanitaria (Radostits *et al.*, 1994), en México es un padecimiento de notificación obligatoria, la Organización Mundial para la Salud (OMS) y la Organización Panamericana para la Salud (OPS), la tienen clasificada internacionalmente con la clave A 27 Leptospirosis, y la clave A 27.0 Leptospirosis icterohemorrágica, causada por *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, (CIE 10 1992). En materia de vigilancia epidemiológica se establece que los gobiernos de las entidades federativas realizarán actividades de vigilancia epidemiológica, prevención y control de esta enfermedad conforme a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-029-SSA2-1999, “Para la vigilancia epidemiológica que establece la obligatoriedad y procedimientos generales de vigilancia de casos de Leptospirosis.” A partir del año 2000 se inicia en México el registro nacional de este padecimiento, en Sinaloa se registran casos desde 1985, sin embargo, el Dr. Bernardo J. Gastélum Izábal (1889-1982), prominente médico Sinaloense menciona dentro de sus investigaciones de una fiebre hemorrágica producida por una espiroqueta, en el año de 1920. Sinaloa es una zona endémica de la enfermedad, ha permanecido históricamente dentro de los primeros cinco lugares en casuística, durante el periodo 2005-2016, se notificaron 297 casos de Leptospirosis con 124 defunciones (letalidad del 41.7%). Actualmente ocupa primer lugar nacional en mortalidad por este padecimiento (DGIS 2016). El mayor número de casos se han registrado en los municipios de Culiacán (177), Mazatlán (45), Ahome

(36), Guasave (29); el grupo de edad más afectado corresponde al de 25 a 44 años, por género el 36.7% es femenino (109 casos) (DGIS 2016).

En los donadores de sangre no se realizan pruebas para la detección de anticuerpos contra la *Leptospira* se desconoce su seroprevalencia y las serovariedades presentes.

Teóricamente todos los mamíferos son susceptibles de ser infectados por *Leptospira*, sin embargo, en la realidad sólo un pequeño número de serovariedades se encuentra en forma endémica en una especie e incluso en una región geográfica (Narita *et al.*, 2005). La leptospirosis en el perro es causada principalmente por la serovariedad *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae*, estas dos serovariedades son consideradas a nivel internacional como las de mayor importancia en esta especie (Brod *et al.*, 2005, Ortega *et al.*, 2008), los serovares pueden encontrarse de acuerdo a las distintas regiones, y otros serovares se consideran como accidentales transmitidas por animales de vida silvestre (Stokes *et al.*, 2007).

Se relaciona al perro como la especie doméstica más importante en la transmisión de la leptospirosis al hombre (Merchant y Packe 1975; Guillespie *et al.*, 1981; Blood *et al.*, 1983; Duque *et al.*, 1988; Venkataraman y Nedunchellian, 1992; Luna, 1997; Brod *et al.*, 2005; Jiménez *et al.*, 2009). Las leptospiras aparecen en torrente sanguíneo después de la infección la bacteriemia aguda asintomática previa a la aparición de los primeros síntomas proporciona un potencial para la transmisión por transfusión sanguínea (Ribeiro, *et al.*, 1997; OMS, 2008; Tulsiani *et al.*, 2010). Es necesario contar con información básica sobre la prevalencia y serovariedades presentes de *Leptospira interrogans* en donadores de sangre y sus probables fuentes de infección.

## 1.2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.2.1. MORFOLOGÍA.

La palabra leptospira proviene del griego, leptos que significa estrecha o delgado y del latín spira significa espiral (A.H.D., 2000), son microorganismos aerobios obligados, en forma de espiral, delgadas, flexibles, de 5-60  $\mu\text{m}$  de longitud por 0.1-0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, constituidas por un cuerpo citoplasmático y un axostilo en cada extremo (Swain, 1957), con una membrana estratificada envolvente semejante a las bacterias Gram-negativas que recubre ambas estructuras, contiene lipopolisacáridos (LPS) altamente inmunogénicos, responsables de la especificidad de los serovares, varias lipoproteínas y purinas constituyen el sitio de interacción con el hospedero y al parecer participan en la patogénesis de la nefritis intersticial y en la respuesta inmune innata (Levet, 2001; Dolhnikoff *et al.*, 2007; Dong *et al.*, 2008), presenta movimientos muy característicos de flexión, translación, propulsión y ondulación activa; se dividen por fisión binaria, la formación del tabique ocurre en la región media del microorganismo, lo que hace que esta división se haga en sentido transversal, pueden atravesar filtros que retienen a otras bacterias (Johnson y Faine, 1984; González, 1989).

El axostilo consiste en dos filamentos axiales insertados en los extremos opuestos del cuerpo citoplasmático, por medio de botones terminales y extremos libres extendidos hacia la mitad de la célula sin llegar a cruzarse. Este organelo es el encargado de la motilidad de la *Leptospira* y le confiere un movimiento activo de rotación. Dependiendo de la longitud, la bacteria tiene un promedio de 18 a 20 hélices por célula y la conformación es dextrógira (Faine *et al.*, 1999; Levett, 2001; Arias *et al.*, 2002), este microorganismo es sensible a la desecación, al calor, al frío excesivo y a las variaciones de pH; no toleran el medio ácido debido a la pérdida de su motilidad aproximadamente en 15 min, el pH óptimo para su multiplicación es de 7.2 a 7.4, no sobreviven en agua salada, pero pueden permanecer hasta 180 días en agua dulce, tres semanas en aguas estancadas y hasta cerca de un año en soluciones viscosas, como lodos con bajo contenido de materia orgánica (Trueba *et al.*, 2004), en suelo húmedo sobreviven por largo tiempo, mientras que en suelo seco la supervivencia es cort (Levet, 2001).



En la leche no sobreviven, salvo si está diluida en agua a razón de 1:20 o más, mueren a los 10 s cuando son calentadas a 100 °C y a los 10 min a una temperatura de 56 °C, en el frío puede sobrevivir hasta 100 días a –20 °C, la orina ácida es letal para las leptospiras, por eso, es necesario alcalinizarla si se pretende aislar la de la orina de un enfermo (Rodríguez y Fernández, 2005), conservan su viabilidad varios días en vísceras y carnes refrigeradas y son sensibles a los antisépticos (Erosa, 2001; Abuauada *et al.*, 2005; Navarrete *et al.*, 2006), en los cultivos crecen mejor en aerobiosis a 30 °C, pH 6.8 a 7.8 en 10 a 14 días y en medios sólidos se desarrollan colonias redondas de 1-3 mm de diámetro en 6-10 días. Las leptospiras crecen en varias líneas celulares cultivadas *in vitro*, principalmente fibroblastos, en donde se puede apreciar efecto citopático las cepas patógenas tienen un tiempo de generación de cerca de 20 h, mientras que en las saprofíticas es de alrededor de cinco horas. Las leptospiras poseen enzimas como oxidasa, catalasa y peroxidasa; entre especies no pueden distinguirse por sus características bioquímicas (Erosa, 2001), sin embargo, *L. interrogans* no crece en presencia de 225 µg/mL de azoguanina, esta propiedad permite diferenciarla de *L. biflexa*. Son susceptibles a la acción de la mayoría de antibióticos, incluyendo penicilina, así como a la de los antisépticos y desinfectantes de uso común (Abuauada *et al.*, 2005).

### **1.2.2. TAXONOMÍA.**

Esta clasificada científicamente en el Phylum *Spirochaetes*, Clase *Spirochaetes*, Orden *Spirochaetales*, Familia *Leptospiraceae*, Género *Leptospira*. La palabra leptospira proviene del griego, leptos que significa estrecha o delgado y del latín spira significa espiral (A.H.D., 2000). Los miembros del género *Leptospira* son serológicamente heterólogos, el taxón básico es el serovar (serotipo), definido sobre la base de similitudes y diferencias antigénicas como las reveladas en la llamada prueba de absorción de aglutinación cruzada (cross agglutination absorption test CAAT), (Dikken y Kmety, 1978; Stallman, 1987). Cada serovar tiene una conformación antigénica característica proporcionada por antígenos superficiales localizados en la membrana externa que facilitan su clasificación. Los anticuerpos

generados frente a los lipopolisacáridos de la pared celular son determinantes del serovar y tiene carácter protector (Céspedes, 2005; OMS, 2008).

Su clasificación tradicional basada en propiedades fenotípicas, reacciones serológicas y su patogenia, refiere dos grupos; patógenas agrupadas dentro del «complejo interrogans» (después *L. interrogans sensu lato*) y saprófitas o de vida libre agrupadas en el «complejo biflexa» (después *L. biflexa sensu lato*) (Levet, 2001; Céspedes, 2005). La especie de interés zoonótico es *L. interrogans* y se subdivide según su composición antigénica, por las reacciones antigénicas cruzadas entre ellos, se reúnen en 23 serogrupos con más de 200 serovares, con base en los componentes aglutinogénicos predominantes que comparten (Alexander *et al.*, 1970; Jubb y Kennedy, 1973; Faine, 1982; Adler, 1986).

Las leptospiras saprófitas o acuáticas se encuentran principalmente en agua dulce superficial y menos frecuente en agua salada, se asocian raramente con infecciones de mamíferos (Ko Al *et al.*, 2009), en la actualidad, tomando como base los estudios de ADN, la clasificación fenotípica está siendo reemplazada por la clasificación genética sin existir relación o correspondencia entre ambas, debido a lo anterior, existen especies genómicas o genomoespecies donde incluyen serovares patógenos y no patógenos, y algunos pueden pertenecer a más de una especie genómica (Perolat y Grimont, 1990; Ahmed *et al.*, 2010), la clasificación constituida por genomoespecies, de acuerdo con la reunión del Subcomité de Taxonomía de *Leptospira* en el 2007, comprende trece especies patógenas: *L. interrogans*, *L. alexanderi*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. krischneri*, *L. wolffi*, *L. borgpetersenii*, *L. weilii*, *L. noguchii*, *L. licerasiae*, *L. santarosai*, *L. alstonii*, *L. terpstrae* y seis especies saprófitas: *L. biflexa*, *L. ketyi*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. wolbachi* y *L. vanthielii* (Brihuega, 2008), el avance en la biología molecular ha permitido también secuenciar su genoma que consiste de dos cromosomas circulares (Ren *et al.*, 2003; Nascimento *et al.*, 2004), el problema con esta clasificación en relación al diagnóstico consiste en las genomoespecies de *Leptospira* cuando no corresponden con la clasificación serológica y además algunos serovares patógenos y saprófitos se encuentran en la misma especie, otro inconveniente lo representa el momento de la

toma de la muestra en el paciente ya que en esta enfermedad la permanencia exacta de la bacteria en sangre no se tiene bien establecido (OMS, 2008).

### **1.2.3. FISIOPATOLOGÍA.**

La leptospirosis es conocida desde 1886, año en que el médico Alemán Adolf Weil describió una enfermedad denominada Ictericia Hemorrágica, observada entre trabajadores agrícolas alemanes en Heidelberg (Vander Hoeden, 1958; Weil, 1886). El hombre es susceptible a un gran número de serovares de esta bacteria, el período de incubación de la enfermedad dura de una a dos semanas, aunque se conocen casos con incubación de solo dos días y otros de más de tres semanas (Bofill *et al.*, 1996; Chamizo, 1998; Ginebra, 2001; Ancha y Cifres, 2001).

Las leptospiras penetran en los hospederos a través de abrasiones de la piel, por mucosas de nasofaringe y esófago o por los ojos e inmediatamente generan una infección sistémica (leptospiremia), invade la corriente sanguínea y se disemina por todo el cuerpo, parece tener tropismo por algunos órganos como el hígado, riñones, corazón y músculo esquelético; e inclusive sistema nervioso central y humor acuoso y finaliza cuando el hospedero monta una respuesta inmune efectiva, generalmente ocurre entre una a dos semanas después de la exposición (Noguchi, 1920; Levet, 2001; Nascimento *et al.*, 2004; Murray *et al.*, 2009).

La enfermedad se caracteriza por dos fases, la primera bacterémica o leptospirémica, tiene un comienzo abrupto de duración de siete a diez días, los signos y síntomas no son patognomónicos por lo cual, fácilmente se les puede confundir con otros procesos infecciosos de tipo bacteriano o viral, como dengue, zika, chincungunya, paludismo, brucelosis, rickettsiosis (NOM-029-SSA2-1999). La segunda fase presenta las características de la fase inmune y se correlaciona con la aparición de anticuerpos circulantes de la clase IgM y la invasión de órganos vitales (Adler *et al.*, 1982; Barrido *et al.*, 1989; Castillo *et al.*, 1994). En general, se distinguen dos tipos clínicos: el ictérico o hepatonefrítico grave (enfermedad de Weil), este es mucho menos frecuente, en esta forma sucede aproximadamente en 10% de los casos y se relaciona con la infección por serovar Icterohaemorrhagiae, pero este no es el único que la puede producir, por otra parte numerosas infecciones transcurren

en forma anictérica, tanto los individuos asintomáticos como los sintomáticos leves no son diagnosticados y solo son detectados durante los estudios epidemiológicos, en los brotes o en estudios de caso (Rothman, 1987; Garcia *et al.*, 2013). Las manifestaciones clínicas y la gravedad varían mucho, desde una enfermedad similar a la gripe hasta insuficiencia renal y hepática grave, miocarditis, hemorragia y muerte, dependiendo de la dosis de inóculo, la virulencia del serovar infectante, la susceptibilidad del huésped y el órgano o sistemas afectados (Min, 2013).

El poder invasivo de las leptospiras puede estar relacionado a su movilidad, constitución, estructura química y antigénica sus propiedades físicas pueden tener un papel importante, producen daño celular, no solo por el efecto mecánico, sino por la producción de sustancias como el factor citotóxico el cual produce lesión del endotelio capilar. Esta proteína citotóxica ha sido encontrada en los serovares Pomona y Copenhageni (García, 2009; Zunino y Pizarro, 2009) en el endotelio vascular, ocasiona extravasación de sangre, emigración de leptospiras a los tejidos, anoxia local relativa, generación de radicales libres de oxígeno y daño isquémico, en realidad parece que están relacionados varios mecanismos actuando en conjunto (Dolhnikoff *et al.*, 2007; Cinco, 2010). En el riñón la leptospira, llega por vía sanguínea al glomérulo y de ahí se disemina al intersticio, produciendo nefritis intersticial, en los túbulos renales se adhiere estrechamente al borde luminal de las células tubulares proximales, hasta ser eliminadas por la orina. Los daños glomerulares observados por microscopía electrónica ocasionan la proteinuria, la insuficiencia renal aguda es una importante causa de muerte, en su patogénesis se invoca la lesión enzimática de las leptospiras, las alteraciones de la perfusión renal y la rabdomiólisis como factor adicional (Martinelli *et al.*, 1994; Levet, 2001; Carvajal *et al.*, 2010).

#### **1.2.4 DIAGNÓSTICO.**

Existen varias técnicas para el diagnóstico de leptospirosis tanto en animales como en seres humanos, debido a la amplia diversidad de los signos y síntomas, el diagnóstico clínico es difícil y depende de una variedad de pruebas de laboratorio para su confirmación. Algunas pruebas utilizadas incluyen la hemoaglutinación

indirecta (IHA), ensayos inmuno enzimáticos (ELISA) (Schüffner y Mochtar, 1926; Yan *et al.*, 1999; Adler y de la Peña, 2010), inmunofluorescencia, impregnación argéntica como Warthin-Starry para la demostración de las leptospiras en órganos (Faine *et al.*, 1999; Bharti *et al.*, 2003), la observación directa en microscopio de campo oscuro y contraste de fases (no es confirmatoria), aislamiento por cultivo, aglutinación rápida en placa, aglutinación en látex (Hartman, 1986), así como pruebas rápidas en tarjetas (leptodipstick). También se han desarrollado métodos de hibridación de ADN, PCR (Velooso *et al.*, 2000) y captura inmunomagnética de antígenos, para la demostración de la infección por leptospiras en los órganos y la orina (Quinn *et al.*, 2002), utilizados para el diagnóstico clínico y estudios de investigación (Kositanont *et al.*, 2003; Vanasco *et al.*, 2008; Aviat *et al.*, 2009; Yalin *et al.*, 2011; Socolovschi *et al.*, 2011; Romero-Vivas *et al.*, 2013), desafortunadamente, ninguna de estas pruebas es actualmente adecuada para el uso rutinario en el laboratorio, debido a limitaciones técnicas (Musso, 2013).

El método de diagnóstico de leptospirosis más comúnmente utilizado se basa en la detección de anticuerpos séricos aglutinantes mediante la prueba de aglutinación microscópica (AM) (o sus siglas en inglés MAT, microscopic agglutination test), está considerada hasta el momento la prueba de referencia por la OMS, se origina en la antigua prueba de lisis aglutinación desarrollada por Martín & Petit (1918) y modificada posteriormente (Schüffner & Mohtar, 1926; Borg-Petersen & Fargroeus, 1949; Wolf, 1954; Carbrey, 1960; Cole *et al.*, 1973; Watt *et al.*, 1988; Postic *et al.*, 2000), es usada para detectar anticuerpos y determinar su título, detecta tanto los anticuerpos tipo IgM como IgG. La prueba no puede ser estandarizada porque utiliza antígenos vivos y factores como la edad y densidad del antígeno en el cultivo puede influir en el título de aglutinación (BorgPetersen & Fargroeus, 1949; Carbrey, 1960), para obtener una sensibilidad óptima, los cultivos de la bacteria, tendrán de siete a diez días de desarrollo, es considerada hasta el momento como el estándar de “oro” (Ellis, 1986; Acosta *et al.*, 1994; Ellis, 1996; Fernández *et al.*, 2002), pueden identificarse los anticuerpos específicos mediante antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos existentes en la región, procedentes de aislamientos locales y preferiblemente cepas representativas a todos los serogrupos conocidos,

(Ellis, 1996; Greenlee, 2002), las reacciones determinan la presencia de anticuerpos aglutinantes para los serovares probados (Gautam *et al.*, 2010).

Sus limitantes consisten en el personal de laboratorio el cual requiere un alto nivel de experiencia técnica, el mantenimiento de un gran panel de cultivos de *Leptospira* vivos, el manejo de estos también crea un riesgo de infección adquirida en el laboratorio (Sugunan, 2004). Puede dar resultados falsos negativos en el curso temprano de la infección y limitar así el diagnóstico clínico agudo donde los anticuerpos IgM detectables por MAT aparecen después del día 8 de la enfermedad, alcanzan el pico para la cuarta semana, posteriormente manifiestan una declinación gradual de niveles (Kmety y Dikken, 1993; Luna *et al.*, 1997; Barr *et al.*, 2005), en ocasiones los títulos detectables de anticuerpos específicos de función sérica pueden durar varios meses, requiere pruebas pareadas obtenidas a intervalos de tiempo apropiados para una interpretación de resultados precisa (Adler y Faine, 1978; Cumberland *et al.*, 2001).

Los animales pueden permanecer serológicamente positivos por años (Barlough, 1998; Luna *et al.*, 1999). Los criterios de interpretación de la prueba indican que títulos de 1:50 son sospechosos y títulos de 1:100 o mayores son positivos (Luna *et al.*, 1997; Srivastava *et al.*, 2006; Adesiyun *et al.*, 2006). El procedimiento en general consiste en poner el suero problema y dos sueros controles (uno positivo y otro negativo) colocar en baño maría a 56/°C durante 30 min se coloca una gota de cada uno de los sueros en un portaobjetos y se les agrega una gota de la suspensión tomada directamente del medio de cultivo, se coloca un cubreobjetos sobre cada suspensión, se ponen en una cámara húmeda durante treinta min y se observan al microscopio. Se examinan veinte campos de la preparación y se estima el porcentaje promedio de células aglutinadas, si en el suero problema se observa el 50% de leptospiros aglutinadas la reacción se considera positiva (Myers, 1985). En México la técnica oficial utilizada se describe en los “Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica de Leptospirosis mediante Aglutinación Microscópica” versión No.01 INDRE 2015 (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”). En la primera muestra no se informan títulos ni serovar cuando los títulos encontrados son menores a 1:1280 únicamente se informa como

“indeterminada”. En la segunda muestra se puede informar título de 1:320 como valor mínimo y no existe un valor máximo fijo, éste será el título de corte, depende de los anticuerpos presentes en la muestra (INDRE, 2015).

### **1.2.5. Reservorios.**

Teóricamente todos los mamíferos son susceptibles de ser infectados por *Leptospira* sin embargo en la realidad solo un pequeño número de serovariedades se encuentra en forma endémica en una especie e incluso en una región geográfica (Narita *et al.*, 2005), así podemos encontrar distintos tipos de hospederos (NOM-029-SSA2-1999; Bunnell *et al.*, 2000). Las especies de mayor importancia económica son: bovinos, equinos, cerdos, ovejas y cabras; también afecta a otros animales domésticos y salvajes como: perros, gatos, venados, mofetas, mapaches, zarigüeyas, musarañas, canguros, mangostas, murciélagos, peces, reptiles, ranas, conejos, zorros, erizos, chacales, ratas así como a ratones (Blood *et al.*, 1983; Thiermann y Handsaker 1985; Bofill *et al.*, 1996; Millán *et al.*, 2008), además constituye una antroponosis (Benenson, 1992; Levett, 2001).

De acuerdo a las características de los animales afectados existen tres tipos de hospederos, los adaptados clínicamente, son asintomáticos y se pueden considerar como reservorios primarios, se infectan fácilmente pero no presentan sintomatología, en el ecosistema sirven para mantener focos de infección al eliminar la bacteria por la orina, tal es el caso de la rata gris y el serovar *Icterohaemorrhagiae* (Caballero y Romero, 1989; Sepúlveda *et al.*, 2002; Heinemann, 2005; Chapola *et al.*, 2005). Hospederos especie-específicos, se consideran también como reservorios por excretar leptospiras durante mucho tiempo e incluso toda la vida, la transmisión intraespecie es importante, existe un grado de adaptación al hospedero sin embargo, a diferencia del reservorio primario, si se encuentran lesiones anatomopatológicas, en este caso existen algunas lesiones que reflejan la cronicidad como en el bovino Harjo y en el perro *Canicola* (Sullivan, 1974; Minke *et al.*, 2009). Hospederos accidentales en los que se presenta un cuadro agudo, debido a que se infectan con una serovariedad diferente a la que habitualmente les afecta ocasionando brotes importantes, tal es el caso de serovar *Pomona* en el ganado bovino e

Icterohaemorrhagiae en el perro; existen serovares universales, como *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae y Canicola, algunos serovares se presentan sólo en ciertas áreas, en este grupo de hospederos se incluyen los seres humanos (Sullivan, 1974; Torres *et al.*, 2016).

#### **1.2.6. FACTORES DE RIESGO Y ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.**

Las regiones naturales de leptospirosis se encuentran generalmente en áreas húmedas y lluviosas (Zwierz, 1951; Zwierz, 1964; Faine, 1994; Kupek *et al.*, 2000), en condiciones con altas temperaturas y humedad (Bielanski y Surujballi, 1996; Moles y Torres, 2000; Luna *et al.*, 2005), con una mayor proporción de agua dulce superficial como lagos, ríos, presas, sistemas de canales entre otros (Jansen *et al.*, 2005; Baranton y Postic, 2006). En la zona climática tropical, las condiciones ambientales son más favorables para la supervivencia de las leptospiras y se observa la mayor morbilidad, los fenómenos meteorológicos extremos como los ciclones y las inundaciones pueden dar lugar a un aumento de la incidencia de la enfermedad, así como la magnitud de los brotes de leptospirosis (Vijayachari *et al.*, 2008; Lau *et al.*, 2010). Los factores socioeconómicos como la migración dan lugar a la transmisión de infecciones adquiridas en países tropicales (van Creel *et al.*, 1994), las personas con menor ingreso económico o comunidades pobres, cuya consecuencia son menores condiciones de higiene (Vinetz *et al.*, 1996). Además del peligro relacionado con los roedores, el reservorio más importante de leptospiras y una fuente de infecciones para otros grupos de animales y para humanos (Faine, 1994), nuevos fenómenos relacionados con la etiología de la leptospirosis en algunas especies de animales domésticos (perros, gatos) puede generar un mayor riesgo de infección en humanos (Prescot *et al.*, 2002; André-Fontaine, 2006; Hernández *et al.*, 2017).

Epidemiológicamente los serovares son muy diversos (Muñoz, 1999), determinados por la ecología, la leptospirosis tiene una alta prevalencia en los países tropicales, donde el suelo es neutro o alcalino (Caballero y Romero, 1989). En general, los brotes en seres humanos se producen por exposición a aguas contaminadas con orina de animales infectados; varios grupos ocupacionales están especialmente expuestos, tales como los trabajadores de arrozales, cañaverales,



minas, alcantarillados y mataderos, cuidadores de animales, médicos veterinarios, militares y durante actividades recreativas (González *et al.*, 1990; Monahan *et al.*, 2009). Las personas que trabajan con ganado, muchas veces están expuestas a la orina de los animales y a secreciones que los pueden contaminar, ya sea de modo directo (abrasiones o piel reblandecida), o por aerosoles, en las mucosas nasales y conjuntivales (CENAVE, 1999). Los trabajadores de arrozales están expuestos al agua contaminada por la orina de roedores que infestan los campos. Entre los trabajadores agrícolas, los que recogen la caña de azúcar constituyen otro grupo de alto riesgo (Fine *et al.*, 1999).

En los animales de compañía, el perro es una fuente común de infección para el hombre por los serovares *Icterohaemorrhagiae* y *Canicola* (González *et al.*, 1990; Luna *et al.*, 2008). Así mismo otras serovariedades de leptospiros las cuales no forman parte de las vacunas que se aplican a las mascotas, pueden infectar a los seres humanos (Geinsen *et al.*, 2007). En una región ganadera (cerdos y bovinos) de Cuba se informó de un brote, donde se diagnosticaron 21 casos en bañistas en el río Clavellina y la presa Maniadero predominaron los serovares *Pomona* y *Australis*; de este último grupo se obtuvieron dos aislamientos del agua del río (Suárez y Bustelo, 1986). En el año de 1995 se presentó en Nicaragua una epidemia de leptospirosis asociada con hemorragia pulmonar, posterior a inundaciones esta epidemia afectó aproximadamente 2000 personas (C.D.C., 1995), así mismo se siguen observando brotes como el ocurrido en soldados Israelíes (Hadad *et al.*, 2007), y persistencia de la enfermedad en animales silvestres (Stokes *et al.*, 2007), o domésticos son esenciales para el mantenimiento de las leptospiros patógenas en la naturaleza (Jung *et al.*, 2007). El número de receptores de transplantes de tejidos esta aumentando, así como los reportes de enfermedades infecciones adquiridas por este medio (Franco *et al.*, 2010). Se han documentado casos de la enfermedad en pacientes transplantados con riñones infectados con *Leptospiras* donde uno de ellos fue fatal (Khosravi y Bastani, 2007; Gerasymchuk *et al.*, 2009), así mismo, se informa de un caso de transplante de hígado con la misma problemática (Katari *et al.*, 2016).

Este agente infeccioso, como la gran mayoría de los patógenos plantean un riesgo potencial para la seguridad en la transfusión sanguínea. A nivel mundial, las zonas de

alto riesgo de la enfermedad se concentran en países en desarrollo donde los criterios de selección de hemodonantes son menos estrictos, por lo que se justifica la evaluación del riesgo de leptospirosis adquirida por transfusión (Semenza *et al.*, 2013; Faddy *et al.*, 2015). Se desconoce el momento en el cual las leptospiras aparecen en torrente sanguíneo, después de la infección, la bacteriemia aguda asintomática previa a la aparición de los primeros síntomas proporciona un potencial para la transmisión por transfusión sanguínea (Ribeiro *et al.*, 1997; OMS, 2008; Tulsiani *et al.*, 2010). La mayoría de los receptores de transfusión están inmunocomprometidos, vulnerables a desarrollar enfermedad grave de leptospirosis (Faddy *et al.*, 2015).

La seguridad de la sangre se basa en medidas básicas, la educación y el aplazamiento de los donantes con factores de riesgo de enfermedad transmisible, análisis de la sangre, intervenciones de reducción de patógenos y manejo de la sangre del paciente (Laperche *et al.*, 2015). Se ha notificado un caso de infección en la India por esta vía (Nedunchellian *et al.*, 1997), así como estudios en bancos de sangre de diferentes partes del mundo que destacan y advierten la importancia de los agentes patógenos que no se prueban, especialmente aquellos responsables de infecciones reemergentes y por supuesto las endémicas (Céspedes, 2005). Gavaldon *et al.* (1995) encuentran una prevalencia del 7% de seropositividad a anticuerpos antileptospira en donadores de sangre en la ciudad de México, Benavides *et al.* (2006) observan una prevalencia de 13.7% en hemodonadores de la misma Ciudad por medio de la prueba de MAT.

#### **1.2.7. FACTORES DE RIESGO EN CANINOS.**

La principal fuente de contagio para los animales y en particular los perros la constituye la orina de animales infectados asintomáticos y portadores, así como vectores, siendo los roedores los más importantes por su condición de reservorio natural (Timoney *et al.*, 1988; Prescott, 1993), para que ocurra la infección en el medio ambiente, las leptospiras requieren de agua, la cual tiene una vinculación estrecha con la humedad y temperatura (Prescott, 1993).

Se han realizado investigaciones dirigidas a conocer cuales son los factores de riesgo en las mascotas los machos de razas de trabajo (en campo) están en mayor riesgo, así como los que se encuentran en áreas suburbanas (Ward *et al.*, 2002; Ward *et al.*, 2004). Meeyan *et al.* (2006), relacionaron las actividades de las mascotas en aguas residuales, permanencia en exteriores y consumo de carne cruda incrementan el riesgo. A diferencia de la infección humana, los factores de riesgo de la leptospirosis canina no se conocen completamente y se requieren más estudios (Kikuti *et al.*, 2012), la edad, la raza y el género pueden representar factores de riesgo para la leptospirosis, asimismo, las características ambientales, aumento de lluvias y temperatura ambiente han demostrado estar relacionadas con la enfermedad (Meeyan *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2007; Alton *et al.*, 2009). El contacto con la calle es un factor de riesgo importante para la población canina, los machos adultos, deambulan más por las calles que las hembras y los cachorros, tienen más contacto con otros animales, aunado a su comportamiento de marcar territorio por donde pasa, dejando leptospiras contribuyendo al ciclo de transmisión (Brandao *et al.*, 1998; Luna *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2017), cabe mencionar al respecto que las vacunas aplicadas tradicionalmente en las clínicas veterinarias, generalmente están compuestas como máximo por cuatro serovares, incluyen Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae y Pomona (Luna *et al.*, 1996<sup>b</sup>; da Silva *et al.*, 2010; Berlios *et al.*, 2010; Shekatkar *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2011; Barmettler *et al.*, 2011) y hasta el momento aún existen controversias en cuanto a si existe o no inmunidad cruzada (González *et al.*, 2004; Cabezas *et al.*, 2005), los serovares más frecuentes en caninos incluyen Icteroahemorrhagiae, Pomona, Canicola, Harjo, Shermani, Bratislava, Tarassovi, Ballum y Grippotyphosa (Luna *et al.*, 1993; Caballero y Romero, 1997).

### **1.2.8 CUADRO CLÍNICO.**

Las leptospiras infectan al organismo penetrando a través de mucosas, piel con laceraciones o reblandecida por la humedad, ingesta de alimentos y agua contaminada. Posteriormente migran por vía hematógica, tienden a localizarse y proliferar en órganos parenquimatosos como el hígado, riñón, bazo y ocasionalmente en las meninges, se mantienen en sitios como son los túbulos renales, humores

oculares y útero, en donde la actividad de anticuerpos es mínima; provocan daño vascular a nivel de endotelios produciendo hemorragias. Los serovares Icterohaemorrhgiae y Pomona producen hemolisinas responsables de hemoglobinuria (Gillespie *et al.*, 1981; Blood *et al.*, 1983; Greenlee *et al.*, 2005; Goldstein *et al.*, 2006).

En el caso del serovar Icterohaemorrhgiae, es causante de un cuadro icterico grave en el perro, muy semejante a la infección que causa en el hombre (Low, 1981; Solano *et al.*, 1996) y suele presentarse con mayor frecuencia en animales menores de dos años, hay un aumento transitorio de la temperatura corporal que generalmente pasa inadvertido, presentación súbita o progresiva de ictericia que va de un color amarillo tenue a un color amarillo naranja manifestado en piel y mucosas, la orina es amarillenta parduzca, se observa debilidad, escalofríos, depresión, anorexia, émesis, polidipsia, emaciación, deshidratación, hemorragias petequiales y equimosis en conjuntiva y cavidad oral así como halitosis (Low, 1981; Ellis, 1994; Van de Maele *et al.*, 2008), la mortalidad puede ser del 50 al 100% (Luna *et al.*, 1996<sup>a</sup>), produce lesiones en hígado, originando un trastorno agudo caracterizado por la acumulación de pigmentos biliares en los conductos hepáticos debido a la oclusión de estos por restos celulares, el grado de ictericia está directamente relacionado con el nivel de obstrucción más que por el daño orgánico, mientras que canicola es reconocida como causante de daño renal, al provocar lesiones como nefritis, nefrosis con consecuente azoemia y uremia final (Hanson, 1976; Ortega *et al.*, 2008).

Los signos clínicos de la leptospirosis producidas por la serovariedad Canicola, conocida como enfermedad de Stuttgart, se presentan principalmente en perros adultos con un periodo de incubación de siete días aproximadamente. La signología se inicia con anorexia, polidipsia, émesis de consistencia mucoide blanquecina que en su última fase es café (sangre digerida), deshidratación marcada, miositis, dolor sublumbar, paresia del tren posterior; renuencia a moverse causada por inflamación muscular, meníngea o renal; adelgazamiento rápido y progresivo, congestión conjuntival, úlceras a lo largo de las encías y halitosis úremica (Hanson, 1976; Luna *et al.*, 1996<sup>a</sup>). Dentro de la variabilidad de cuadros clínicos en la leptospirosis, se puede observar una forma crónica que se manifiesta con uremia sin alteraciones

bucales y con poliuria pasajera, también se puede presentar en forma asintomática, tal vez, debido a que la leptospira se localiza de inmediato en el riñón y por lo tanto la leptospirosis y los anticuerpos circulantes son los únicos datos que existen (Guillespie *et al.*, 1981; Perdomo y Garin, 2002), se desarrolla vómito, inapetencia, postración y anemia debido al fallo renal progresivo (Chamizo, 1998).

### **1.2.9. LEPTOSPIROSIS EN SERES HUMANOS.**

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa de carácter zoonótico (Hutyra *et al.*, 1973; Stokes *et al.*; 2007; Jung *et al.*, 2007), es una patología conocida desde 1886, año en que el médico Alemán Adolf Weil describió una enfermedad a la que denominó Ictericia Hemorrágica, en Heidelberg, entre trabajadores agrícolas alemanes (Vander Hoeden, 1958; Weil, 1886). En 1916 se registra el primer informe que resalta la importancia que tiene la leptospirosis canina en salud pública, al observar la enfermedad de Weill en dos personas que habían estado en contacto con un perro icterico (Merchant y Packer, 1975; Jansen *et al.*, 2005).

El hombre es susceptible a un gran número de serovares de esta bacteria, el período de incubación de la enfermedad dura de una a dos semanas, aunque se conocen casos con incubación de sólo dos días y otros de más de tres semanas (Bofill *et al.*, 1996; Chamizo, 1998; Ginebra, 2001). La enfermedad se caracteriza por dos fases, la primera bacterémica o leptospirémica, tiene un comienzo abrupto de duración de siete a diez días, los signos y síntomas no son patognomónicos por lo que fácilmente se les puede confundir con otros procesos infecciosos de tipo bacteriano o viral, como dengue, influenza, paludismo y brucelosis (NOM, 1999; Adler y Faine, 1978; Flisser *et al.*, 2002; Haake y Levett, 2015).

La segunda fase presenta las características de la fase inmune y se correlaciona con la aparición de anticuerpos circulantes de la clase IgM, las leptospiras invaden órganos vitales (Adler *et al.*, 1982; Barrido *et al.*, 1989; Castillo *et al.*, 1994). En general, se distinguen dos tipos clínicos: el icterico o hepatonefrítico grave, enfermedad de Weil (Wood, 1947) se presenta en aproximadamente en el 10% de los casos, y se relaciona con la infección por el serovar Icterohaemorrhagiae, pero esta

no es el única serovariedad que la puede producir, por otra parte la mayoría de los casos transcurren en forma anictérica (Rothman, 1987; CENAVE, 1999).

La transmisión interhumana es excepcional, tal fue el caso de una epidemia descrita en la selva del noreste de Hanoi, Vietnam, el brote fue en soldados dedicados al talado de árboles y a su transporte por búfalos a través de un área pantanosa, en algunos de los soldados la leptospiruria persistió por más de seis meses (Spinu *et al.*, 1963), un caso de transmisión por la leche materna se describió en los Estados Unidos en donde una médica veterinaria siguió lactando después de que se infectó con el serovar Hardjo, el niño enfermó y presentó fiebre, anorexia, irritabilidad y letargia. (Songer y Thiermann, 1988). También se han descrito varios casos de infección congénita (Faine, 1991). Además ha sido reportada miocardiopatía dilatada secundaria a leptospirosis (Velazco *et al.*, 2009<sup>a</sup>). El tratamiento debe instaurarse inmediatamente a la sospecha de la enfermedad, si es tardío se producen lesiones renales incurables, este consiste en una terapéutica sintomática, con administración de antibióticos que permita mantener al paciente en el mejor estado posible y eliminar al agente infeccioso; se preferirá para la medicación la vía parenteral debido a la émesis que acompaña la enfermedad. En pacientes deshidratados y con alteraciones renales (oliguria, anuria o poliuria), debe aplicarse una terapia de fluidos para reemplazar los líquidos perdidos y evitar una falla renal. El uso de cimetidina o ranitidina son recomendados en caso de sangrado gástrico (Blood *et al.*, 1983; Herrera, 2002).

### **1.2.10 LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES**

Los primeros informes sobre la leptospirosis en los animales proceden de la presencia de leptospirosis humana, datan de 1852 año en que Hofer describió una enfermedad de los perros, antes desconocida que llamó *Tyfus Seu Febris Nervosa Canum*. Keff en 1898 cambió el nombre de esta enfermedad por la enfermedad de los perros de Stuttgard (Vander Hoeden, 1958). Sin embargo, la etiología de ésta enfermedad fue aclarada en 1922 por el checoslovaco Lukes, el cual demostró al agente como una espiroqueta, la primera descripción de las leptospirosis como agentes productores de enfermedad en los animales se realizó en 1933, cuando

Klarenbeck y Schuffner demostraron que *Canicola* era el agente etiológico de la enfermedad Stuttgart en los perros.

La leptospirosis en el perro es causada por los serovares *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae*, estos dos son considerados a nivel internacional como los de mayor importancia en esta especie (Brod *et al.*, 2005; Ortega *et al.*, 2008), a pesar de haberse aislado otras serovariedades como *Autumnalis*, *Grippotyphosa*, *Bratislava*, *Pyrogenes*, que se consideran como accidentales transmitidas por animales de vida silvestre (Stokes *et al.*, 2007). Se manifiesta principalmente en forma subclínica, por lo que son más frecuentes los hallazgos serológicos positivos que la manifestación de la enfermedad, sin embargo, cuando se presenta, es capaz de ocasionar la muerte, los animales recuperados quedan en estado de portador por meses o años (Gillespie, *et al.*, 1981; Low, 1981).

Se ha identificado al perro como la especie doméstica más importante en la transmisión de la leptospirosis al hombre (Merchant y Packer, 1975; Gillespie *et al.*, 1981; Blood *et al.*, 1983; Duque *et al.*, 1988; Venkatamaran y Nedunchelliyan, 1992; Luna, 1997; Brod *et al.*, 2005). Michin y Asinov, (1935), fueron los primeros en notificar la afectación de los bovinos por leptospirosis en la antigua URSS, denominándola como “hemoglobinuria infecciosa aguda” y del serovar aislado *Icterohaemorrhagiae*.

### **1.2.11 PANORAMA MUNDIAL.**

La leptospirosis es la enfermedad zoonótica más difundida en el mundo (Koteeswaran, 2006; Hadad *et al.*, 2007), representa a nivel mundial un problema de salud pública que afecta tanto a los países industrializados como a los que están en vías de desarrollo, el número de casos es difícil de establecer, se estima que aproximadamente 1.03 millones de casos se presentan anualmente en el mundo con 59,900 muertes (Costa *et al.*, 2015). En Europa la incidencia de leptospirosis disminuyó durante la segunda mitad del siglo pasado, sin embargo el resurgimiento de la leptospirosis en los países industrializados sobre todo en las zonas urbanas ha llevado a la decisión de determinar las tendencias actuales y reales en la adopción de políticas pertinentes para su control (Dupouey *et al.*, 2014). En el año 2010 se

reportaron 588 casos confirmados de leptospirosis en 25 países Europeos con una incidencia global de 0.13/100,000 hab. Aún a pesar de que los factores epidemiológicos de riesgo asociados a la enfermedad (clima tropical, inundaciones, falta de saneamiento) que en general no son frecuentes. Las tasas de notificación más altas fueron en Rumania 0.84/ 100,000 hab., Eslovaquia 0.50/100,000 hab., Eslovenia 0.44/ 100,00 hab., Irlanda 0.38/ 100,000 hab. y República Checa 0.38/ 100,000 hab (Dupouey *et al.*, 2014).

El continente Africano cuenta con la más alta incidencia de especies endémicas y la tasa de incidencia en humanos alcanza 95.5/100,000 hab., sin embargo las estimaciones exactas de la infección se desconocen ya que los sistemas de diagnóstico y registro epidemiológicos son difíciles de aplicar (Jobbins *et al.*, 2014). En Asia se observó en un hospital de Malasia una seroprevalencia de leptospirosis en el 8.4% de los pacientes febriles (Noor *et al.*, 2013) así mismo en Korea se llegó a reportar hasta el 12.4% de estos pacientes con seropositividad a *Leptospira* (Kim, 2013), en la India en estudio realizado en pacientes febriles de 15 hospitales y clínicas particulares se registró un 4% de pacientes positivos mediante la prueba de MAT (Basker *et al.*, 2014; Terpstra, 2006). La mayoría de los reportes de brotes de enfermedades bacterianas en el mundo están relacionados con eventos de lluvia extrema principalmente en Norte América, seguido por Asia y Europa encontrándose en primer término los producidos por *Vibrio* spp (28.4%), seguido por *Leptospira* spp (17.6%) de 74 brotes estudiados debidos a fenómenos meteorológicos extremos relacionados con el agua, se identificó a *Leptospira* en el 41.9% de estos eventos (Cann *et al.*, 2013). En un estudio en Colombia para pacientes febriles, se observó que el 43% correspondió a dengue, 4% leptospira y 6.8% para reckettsias (Rodríguez *et al.*, 2016), es determinante la presencia de animales domésticos y roedores infectados su presencia es constante durante todo el año, al parecer no influyen las estaciones del año (Himsworth *et al.*, 2014), los perros y gatos intervienen de manera muy importante en la permanencia de la bacteria en el medio ambiente (Calderón *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2014), las principales bacterias causantes de leptospirosis son: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weill*, *L. kirschneri*, *L. alexanderi* (Evangelista y Coburn, 2010).



### 1.2.12 SEROREVALENCIA EN MÉXICO.

Los primeros trabajos sobre leptospirosis fueron realizados en 1920 en el estado de Yucatán, por Noguchi y Kleiger, quienes aislaron por primera vez a la espiroqueta de pacientes con diagnóstico de fiebre amarilla (Noguchi y Kleiger, 1920<sup>a</sup>. Noguchi y Kleiger, 1920<sup>b</sup>). En otros estudios realizados se encontraron personas y animales seropositivos en Veracruz, Pérez Grovas y Le Blanc entre los años 1921 y 1925 encontraron casos del padecimiento (Zavala *et al.*, 1976), en 1954 el Dr. Gerardo Varela, lleva a cabo las primeras encuestas seroepidemiológicas en Veracruz, y Tampico, posteriormente en otros Estados de la República Mexicana, en 1961 se observó casos en 19 entidades principalmente Campeche, Tabasco, Colima y el Distrito Federal (Varela, 1954; Varela y Zavala, 1961; Varela, 1972; Avendaño y Varela, 1972). Se han realizado estudios de seroprevalencias de leptospirosis en seres humanos, en la Cd. de Puebla, Chihuahua, y Tabasco (Municipio de Balancán) con seroprevalencias del 13.2% al 35% (Higuera *et al.*, 1977). Entre trabajadores del rastro de Guadalajara se encontró una seroprevalencia de 24.7% con un riesgo relativo de 3.7% (Caballero, 1996). Los resultados de estas observaciones en el periodo 1961 a 1996 se pueden resumir en 39,217 muestras analizadas con 19.4% de positividad, se identificaron con mayor frecuencia los serovares Pomona, Icterohaemorrhagiae y Canicola. El instituto Nacional de Referencia Epidemiológica en el periodo de 1997 a 2007, realizó 22,024 evaluaciones serológicas en seres humanos sospechosos de leptospirosis, encontrando un 34% de seropositividad (InDRE, SUIVE, 2007).

Colín *et al.* (1997) en un estudio realizado entre 1961 y 1995, con 9,875 sueros obtenidos en Yucatán, Valle de México y Distrito Federal, encontraron un promedio de 14.4% positivos. En 1991, Caballero y Romero encontraron 39% de seroprevalencia en trabajadores de granjas ganaderas y porcinas del Estado de Jalisco. Se han realizado estudios para determinar la prevalencia de leptospirosis en Hospitales de Veracruz en pacientes con un diagnóstico inicial de dengue observándose que el 18% de los casos positivos correspondían a *Leptospira*, y el 11.7% de los pacientes reaccionaron positivamente a denge y leptospira (Dircio *et al.*,

2012). Actualmente en México se reporta la presencia de pacientes con leptospirosis crónica (Velasco *et al.*, 2009) lo cual únicamente se consideraba para animales reservorios (Caballero y Romero, 1989; Sepúlveda *et al.*, 2002; Heymann, 2005; Chapola *et al.*, 2005). En la Cd. de México 206 sueros de donadores de sangre el 7% resultó positivo (Gavaldón *et al.*, 1995), sin embargo, aun se desconoce su magnitud real (Carrada-Bravo, 2005; García *et al.*, 2013).

### **1.2.13 SEROPREVALENCIA EN HUMANOS Y ANIMALES EN MÉXICO**

En Chiapas el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste menciona seropositividad del 14.5% en seres humanos resultando infectados el 23% de los perros domiciliados y el 55% de los perros callejeros (Zavala *et al.*, 1984). En Yucatán se observó una seropositividad en caninos de 35% (Jiménez *et al.*, 2009), en seres humanos del 14.1%, con una seroprevalencia de 23.4% en porcinos y 11.3% en bovinos, los sueros humanos y de animales reaccionaron contra los serotipos Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Gryppotiphosa. Los sueros humanos también reaccionaron contra Pyrogenes y Australis. La mayor frecuencia de reactividad tanto en sueros humanos como de animales fue contra el serotipo Pomona. (Zavala *et al.*, 1984). Considerando el binomio hombre-perro se informa una seropositividad de 46% en propietarios y en el 62% de sus perros (Caballero, 1997). Moles *et al.* (1990), encuentran en un total de 218 perros del centro antirrábico de Culhuacán de la Cd. de México, el 28.4% de reactores positivos a una o más serovariedades en donde el serovar Canicola presentó la mayor frecuencia con un 22% de seropositividad. Flores y Solana (1992), observaron en caninos una frecuencia de reactores positivos de 61.7%. En el mismo año, García e Ibarra (1992), encontraron una seropositividad del 41.5% en perros provenientes de Toluca, Estado de México. Luna (1993), determinó de un total de 485 sueros provenientes de perros del área de Naucalpan, Estado de México, una seropositividad del 48.4%. La infección en el perro por la serovariedad Canicola se considera como la más común, la serovariedad Icterohaemorrhagiae es menos frecuente y se relaciona a la rata como portadora y transmisora (Vander Hoeden, 1958; Michna, 1970; Timoney *et al.*, 1988; Prescott, 1993). En los animales de compañía, el perro es una fuente común de

infección para el hombre por los serovares Icterohaemorrhagiae y Canicola (Gualtieri *et al.*, 2012). Se ha identificado al perro como la especie doméstica más importante en la transmisión de la leptospirosis al hombre (Venkatamaran y Nedunchellian 1992; Luna 1997; Brod *et al.*, 2005; Allwooda *et al.*, 2014). Es un padecimiento de notificación obligatoria (CIE-10, 1992), la Organización Mundial para la Salud (OMS) y la Organización Panamericana para la Salud (OPS), la tienen clasificada internacionalmente con la clave A 27 Leptospirosis, y la clave A 27.0 Leptospirosis icterohemorrágica, causada por *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae.

#### **1.2.14 SINALOA PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO.**

A partir del año 2000 se inicia en México el registro nacional de los casos de leptospirosis, el estado de Sinaloa ha permanecido históricamente dentro de los primeros lugares, a nivel Nacional durante el periodo 2000-2010 ocupó el tercer lugar de manera general con los siguientes indicadores: 129 casos, 65 defunciones, 4.68 tasa por 100, 000 hrs. mortalidad 51.94% (Sánchez *et al.*, 2015). Durante el periodo 2005-2016 se notificaron 297 casos de Leptospirosis con 124 defunciones (letalidad del 41.7%), durante 16 años ha ocupado el primer lugar nacional en mortalidad por este padecimiento, el mayor número de casos se han registrado en los municipios de Culiacán 177, Mazatlán 45, Ahome 36, Guasave 29, el grupo de edad más afectado corresponde al de 25 a 44 años, por género el 36.7% es femenino (109 casos) 63.3% masculino (188 casos) (DGIS). Las muestras para el diagnóstico de la enfermedad se empezaron a realizar en Sinaloa a partir del año 2015 en el Laboratorio Estatal de Salud Pública en la ciudad de Culiacán Sinaloa. En los donantes de sangre no se realizan pruebas para la detección de anticuerpos para esta bacteria y se desconoce su prevalencia, serovariedades presentes, así como los factores de riesgo, asociados a ellos. Conocer esta información contribuye a proponer mejores políticas en salud pública para un mejor control de la enfermedad.

## CAPÍTULO 2

### PREVALENCE AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH SEROVARS OF *Leptospira* IN DOGS FROM CULIACAN, SINALOA.

Carlos Víctor Hernández Ramírez<sup>1,4</sup>, Soila Maribel Gaxiola Camacho<sup>1</sup>, Ignacio Osuna Ramírez<sup>2</sup>, Idalia Enríquez Verdugo<sup>1</sup>, Nohemí Castro del Campo<sup>1</sup>, Héctor Samuel López Moreno<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>2</sup>Unidad de Investigaciones en Salud Pública Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>3</sup>Titular del Laboratorio de Inmunología Molecular Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>4</sup>Servicios de Salud de Sinaloa, Departamento de Prevención y Control de Vectores y Zoonosis.

**Published in Veterinaria Mexico OA 2017;4(2) doi:10.21753/vmoa.4.2.369**

#### ABSTRACT

Domestic dogs transmit *Leptospira* spp. to humans, and determining the health risk that they represent is of paramount importance. To determine the seroprevalence and main risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs from Culiacan, Sinaloa, we obtained serum samples from 165 dogs. The samples were stored at -40 °C and were analysed by the microbiology laboratory at Centro Nacional de Sanidad Animal using the leptospirosis microscopic agglutination test. Additionally, a survey was performed to identify epidemiological risk factors, and statistical inference was determined using chi-square test, odd ratios, and logistic regression with a statistical significance set at  $P < 0.05$ . The prevalence of *Leptospira* was 9 % (15/165), and we identified seven serovars: canicola 17 (46 %), icterohaemorrhagiae (40 %), bratislava (40 %), grippityphosa (33 %), shermani (33 %), pyrogenes (20 %) and ballum (13 %). Based on our epidemiological survey, the risk factors associated with the detection of antibodies against *Leptospira* include the permanent habitation of pets in courtyards (OR = 4.6,  $P < 0.05$ ) and presence of water stored in drums and basins (OR = 3.25,  $P < 0.05$ ). The prevalence of leptospirosis in dogs indicates that the disease is present in the city of Culiacan and that leptospiral antibodies in dogs increase in poor sanitary conditions with stored water, which increases the potential risk of infection for both humans and animals.

## INTRODUCTION

Dogs are considered to be the most important domestic species that transmit *Leptospira* spp. to humans.<sup>1-6</sup> In the state of Sinaloa, leptospirosis has been diagnosed in humans, ruminants and pigs.<sup>7</sup> However, the extent of this disease is unknown, as is the prevalence of *Leptospira* spp. serovars in dogs. Humans are susceptible to a large number of serovars of this bacterium, but the signs and symptoms of disease are not pathognomonic and can thus be easily confused with other infectious processes of bacterial or viral origin.<sup>8</sup> Therefore, it is important to determine the seroprevalence of this disease and to identify the risk factors associated with various serovars of *Leptospira* in dogs in Culiacan, Sinaloa. This basic information could help in finding alternatives for disease control. Leptospirosis is the most widespread zoonotic disease in the world and has great economic and health implications. In Mexico, it is an infectious disease of mandatory notification. The World Health Organization (WHO) and the Pan American Health Organization (PAHO) classify *Leptospira icterohaemorrhagiae* with the key A 27.0.<sup>9</sup> The Official Mexican Standard NOM-029-SSA2-1999 provides the general procedures for monitoring cases of leptospirosis.<sup>8</sup> This disease is caused by a pathogenic strain of a spirochete of the genus *Leptospira* and affects wild and domestic animals, as well as humans. It is traditionally classified based on its phenotypic properties, serological reactions and pathogenesis into *L. biflexa* and *L. interrogans*, sensu lato. The former is a group of mainly saprophytic species, while the latter is a group of pathogenic species.<sup>10</sup> The current classification of the genus *Leptospira* is based on DNA homology and comprises 17 species.<sup>11-13</sup> Leptospire are strictly aerobic microorganisms. Morphologically, they are spirochetes that are approximately 0.1 µm wide and 6-15 µm long, with flexion, translation, and propulsion movements, as well as active undulation. These bacteria are Gram-negative and divide by binary fission. Reservoir hosts may remain serologically positive for the disease for months or years.<sup>14-16</sup> In dogs, leptospirosis is mainly caused by *L. canicola* or *L. icterohaemorrhagiae*. These serotypes are considered to be the most important serovars in certain regions.<sup>6,17</sup> The main source of infection of animals, especially dogs, is the urine of asymptomatic carrier animals (dog to dog transmission), water,

mud or contaminated fomites, as well as the natural reservoir of the bacteria, rodents.<sup>18,19</sup> Leptospire infect an organism by penetrating through the mucous membranes, skin lacerations or skin softened by moisture or through intake of contaminated food and water. The bacterium then migrates through the blood, tending to localize and grow in parenchymal organs, such as the liver, kidney, spleen, and occasionally, the meninges. The bacterium remains in sites such as the renal tubules, ocular humors and uterus, where antibody activity is minimal. There, they cause vascular damage to the endothelium, which produces bleeding.<sup>17,20,21</sup> The serovars icterohaemorrhagiae and pomona produce hemolysins, which are responsible for hemoglobinuria.<sup>22</sup> The icteric type or severe hepato-nephritic (Weil's disease) occurs in approximately 10 % of cases and is often related to infection with icterohaemorrhagiae, although it is not the only serovar that can produce such symptoms. However, most infections are anicteric.<sup>9,23</sup> The serovar icterohaemorrhagiae causes severe jaundice in dogs, very similar to the infection caused in humans,<sup>24,25</sup> where changes in increases in body temperature usually go unnoticed. The onset of jaundice can be sudden or progressive, ranging from a pale yellow to an orange-yellow colour of the skin and mucous membranes, and other clinical signs include yellowish brownish urine, weakness, chills, depression, anorexia, emesis, polydipsia, emaciation, dehydration, petechial bleeding, ecchymosis of the conjunctiva and oral cavity, and halitosis.<sup>24-26</sup>

Leptospirosis is a zoonotic disease. Humans are susceptible to a large number of serovars of this bacterium. Person-to-person transmission is unusual, but several cases of congenital infection have been described.<sup>11</sup> Furthermore, a case of transmission through breast milk has been described in the United States.<sup>27</sup> In general, outbreaks in humans are caused by exposure to water contaminated with the urine of infected animals.<sup>28</sup> In Mexico, serological studies have been carried out in dogs from various states of the country. Moles et al.,<sup>29</sup> analysed serum from a total of 218 dogs from the Anti-Rabies Centre of Culhuacán in Mexico City and found that 28.44 % were seropositive for one or more serovars. *Leptospira canicola* was the most prevalent, with 22 % seropositivity. Flores and Solana<sup>30</sup> observed a seropositivity of 61.7 % in all dogs studied. In the same year, Garcia and Ibarra<sup>31</sup>

found 41.5 % seropositivity in dogs from Toluca in the State of Mexico. Luna <sup>32</sup> analysed serum from a total of 485 dogs from Naucalpan in the State of Mexico and found 48.4 % seropositivity. The main source of infection for animals, and dogs in particular, is the urine of asymptomatic carrier animals, most importantly rodents, due to their capacity to act as a natural reservoir for the bacteria.<sup>33</sup> In dogs, age, breed and gender are risk factors for leptospirosis, and so are environmental factors, such as increases in rainfall and temperature.<sup>18,34,35</sup> Since the conditions in Sinaloa are like those of many other states in Mexico, where the presence of seropositive dogs has been documented, we hypothesized that Sinaloa also has dogs with similar serovars and seroprevalence rates. To date the seroprevalence of this disease in dogs in Sinaloa has not been reported.

### **Materials and methods**

This study was conducted in the city of Culiacan, Sinaloa, Mexico, located at 24° 48' N and 107° 23' W, 60 meters above sea level. The climate of the region is classified as semi-dry, with a very warm average temperature of 25.5 °C, with maximum temperatures of 45 °C in the months of July and August, minimum temperatures of 7 °C in December and January, and an annual rainfall of 671.14 mm.<sup>36</sup> These meteorological characteristics, and the frequent occurrence of extreme rainfall events (hurricanes) in Sinaloa, <sup>37</sup> create favourable conditions for outbreaks of leptospirosis. The study was conducted during one year, from January to December. Study group and inclusion criteria: Dogs from Culiacan, Sinaloa were included in this study. According to the number of doses of rabies vaccine given during the last ten years, and according to the information from the dog census performed by the Sinaloa Health Services (SSA), it is estimated that there are approximately 44,000 dogs unvaccinated for leptospirosis in Culiacan, Sinaloa. In our study, we included dogs over three months old that received a rabies vaccination or participated in SSA's pet neutering program. Animals vaccinated against leptospirosis or with an ongoing disease were excluded from the analysis. Before taking blood samples, we sent an epidemiological survey to the pet owners to obtain their address, as well as information on the conditions and characteristics of the places where the dogs lived. The questions were directly related to the epidemiological variables that are

determining factors in the transmission of leptospirosis. We also asked for their authorization to take the blood samples.

Blood samples (3 ml) were obtained by venepuncture of the jugular vein. The blood was free of contamination and not hemolyzed, and the serum samples were frozen at  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Once collected, the samples were analysed in the laboratory of the National Animal Health Centre in Tecamac, State of Mexico. Samples were processed using the Microscopic Agglutination Test (MAT). Commonly, the diagnosis of leptospirosis is performed by various methods including direct immunofluorescence, silver staining of fixed tissues, polymerase chain reaction (PCR), culture isolation, evidence of serum antibodies (ELISA), fast plate agglutination and latex agglutination, as well as rapid card tests (LEPTO dipstick). However, MAT is regarded as the gold standard technique, and it determines the presence of agglutinating antibodies against the tested serovars.<sup>9,38</sup> To perform MAT, the serum was initially diluted in saline solution (1:25), and each serum sample that showed an agglutination of at least 50 %

of the leptospire (compared to the control antigen) was considered positive.<sup>9</sup> We used a panel that included the following serovars: ballum, canicola, hardjo, pomona, pyrogenes, icterohaemorrhagiae, bratislava, wolffii, australis, grippityphosa, hebdomadis and shermani.

Determination of sample size The sample size was determined using the formula for estimating proportions.<sup>39</sup> Where:

$n$  = sample size

$N$  = population of susceptible dogs (44000)

$Z$  = value of the standard normal distribution (1.96)

$d$  = coefficient of reliability (0.08)

$p$  = proportion (0.41) <sup>29-32,40-42</sup>

A total of 165 samples were taken in vacutainer tubes without anticoagulant; they were centrifuged for five minutes at 1008 g to obtain serum, which was then frozen. The cut-off points of the tests considered titers of 1:100 or greater as positive.<sup>22,43</sup> To identify risk factors, an epidemiological survey was sent to the owners of the dogs. In the survey we asked for the name of the owner, their address, number of dogs per owner, sex of these dogs, their breed, age, vaccination history, living environment,



types of flooring, presence of rodents, water supply in the house, presence of pools or open water containers, presence of drainage, and number of residents per dwelling. We performed a transverse analytical study, and the answers to the questionnaire were quantified and the homogeneity of proportions was tested using the chi-square test ( $\chi^2$ ). The risks (OR, odds ratio) and confidence intervals were estimated using logistic regression. A value of  $P < 0.05$  was considered statistically significant.<sup>44,45</sup>

## **Results and discussion**

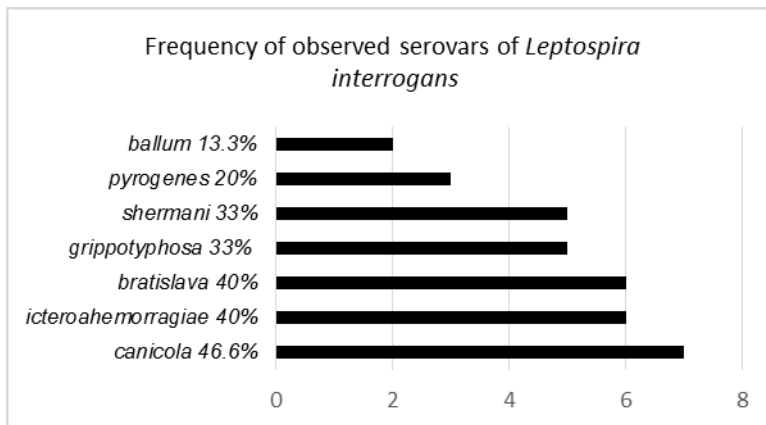
We studied 165 serum samples of dogs from ninety-eight neighbourhoods in Culiacan, ranging medium (97 %) to high (3 %) socioeconomic status, and found fifteen positive titers. The descriptive analysis of the survey data indicated that the average number of pets per owner was 2.6 and that 82 % of households had 1-3 dogs. Thus, it follows that dog owners usually have more than one pet. The age data indicated that most samples were taken from animals between one and two years old, corresponding to a percentage of 42.4 %, followed by animals under one-year-old (15.75 %), and finally by three-year-olds (14.54 %). Ward et al.,<sup>46</sup> reported that animals between 4 and 6.9 years of age are at greater risk of contracting leptospirosis compared to animals under one year of age. Regarding the type of dog breed, we found that 66.7 % of the serum samples were taken from mixed breed dogs, followed by small breeds, such as Poodles and Chihuahuas (20 %). These two groups made up 86.7 % of the samples. Most sampled dogs were females (88.4 %) and only 11.6 % were males. Ward et al.,<sup>35</sup> reported that male dogs used for work and shepherding are at greater risk of contracting the disease. The living environment of the dogs was also considered an important factor related to the epidemiology of leptospirosis; 87.15 % of the dogs lived inside their owners' homes, while 15.07 % of the sampled dogs had contact with the street outside their owners' yards. We observed that 6.6 % of dogs remained exclusively inside the house, 38.74 % lived inside and outside the house, and the majority (40.6 %) remained outside in the yard only. Regarding the flooring type, 41.2 % of dogs lived on floors made of cement and 40 % lived on floors made of both cement and dirt. The remainder lived only on dirt floors. With regards to the water supply in the homes, 97 % had piped water and 11.5 % reported using drums or basins for water storage. Drainage was present in 95.8 % of households.

Regarding the number of people living in each household, four residents per household was most common (33.07 %), followed by households with five residents (24.61 %), and finally those with three residents (20 %). Rodents were reported in 47.7 % of the households. This serological study of 165 samples from dogs living in the city of Culiacan, Sinaloa, indicated a prevalence of *Leptospira* of 9 %. The serovars detected were: canicola, icterohaemorrhagiae, bratislava, grippotyphosa, shermani, pyrogenes and ballum. We also observed the presence of multiple serovars in a single host. It is possible that some animals with high titers (1:1600) were actually infected with the bacterium but did not yet show any clinical manifestations of disease (Table 1). The observed frequency for the serovars, from highest to lowest was as follows: canicola 46.6 %, icterohaemorrhagiae 40 %, bratislava 40 %, grippotyphosa 33.3 %, shermani 33.3 %, pyrogenes 20 %, ballum 13.3 % (Figure 1). *L. canicola* was the most frequently identified, with a 46.6 % seropositivity, which is in agreement with Moles et al.<sup>29</sup> These results are also consistent with those of other authors, who identified serovar icterohaemorrhagiae as the second most important serovar and associated it with rats as carriers and transmitters. The epidemiological variables corresponding to living environment, number of pets per household, age, breed, water supply, drainage and presence of rodents, showed no significant relationships with regard to seroprevalence of *Leptospira* ( $P > 0.05$ ). However, there was a significant difference between the pets that lived only outside and those that remained inside the house, and those that lived in the house but had access to the yard and the street (OR = 4.6,  $P = 0.03$ ; Table 2). The presence of water stored in drums and basins in the yard was significantly related to the seroprevalence of *Leptospira*. The mismanagement of water provides ideal conditions for the survival of bacteria in the household environment (OR = 3.25,  $P = 0.03$ ; Table 3). The type of flooring in the areas inhabited by the pets was marginally significant ( $P = 0.06$ ). Those that stayed on dirt and cement floors were the most affected. We postulate that the accumulation of water on this type of flooring may favour the development of infection (Table 4). There was a significant difference in the seroprevalence of *Leptospira* found in dogs of different sexes (Table 5).

**Table 1 Serovars *Leptospira interrogans* identified in dogs**

Sample number	Serovar	Titles
9	<i>Grippotyphosa</i>	1:200
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1:100
	<i>Bratislava</i>	1:100
12	<i>Grippotyphosa</i>	1:600
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1:600
	<i>Bratislava</i>	1:800
18	<i>Canicola</i>	1:100
	<i>Shermani</i>	1:100
20	<i>Bratislava</i>	1:800
21	<i>Grippotyphosa</i>	1:200
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1:200
26	<i>Canicola</i>	1:100
52	<i>Bratislava</i>	1:800
97	<i>Canicola</i>	1:100
	<i>Pyrogenes</i>	1:100
	<i>Grippotyphosa</i>	1:200
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1:200
100	<i>Canicola</i>	1:100
142	<i>Grippotyphosa</i>	1:200
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1:200
145	<i>Shermani</i>	1:100
151	<i>Canicola</i>	1:200
	<i>Shermani</i>	1:100
161	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1:200
	<i>Bratislava</i>	1:200
162	<i>Canicola</i>	1:1600
	<i>Pyrogenes</i>	1:800
	<i>Bratislava</i>	1:200
	<i>Ballum</i>	1:800
	<i>Shermani</i>	1:1600
171	<i>Canicola</i>	1:800
	<i>Pyrogenes</i>	1:400
	<i>Ballum</i>	1:100
	<i>Shermani</i>	1:200

**Figure 1 Frequency of observed serovars of *Leptospira interrogans***



**Table 2 Place of habitation of pets**

permanence	negative	positive	total
Home/yard	70.00	2.00	72
yard	62.00	10.00	72
street	18.00	3.00	21
Total	150.00	15.00	165
%	90.91	9.09	100

Chi-square of likelihood ratio = 7.0; df = 2; P = 0.030

**Table 3 Presence of drums and basins**

Drums/ Basins	Frequency	Positive	Total
yes	20.00	5.00	25
no	130.00	10.00	140
Total	150.00	15.00	165
%	90.91	9.09	100

Chi-square of likelihood ratio = 3.46; df = 1; P = 0.063  
OR = 3.25, CI 95%: 1.01-10.50

**Table 4 Type of floor where the pet stays**

Floor	Negative	Positive	Total
dirt-cement	61.00	9.00	70
dirt	26.00	4.00	30
cement	63.00	2.00	65
Total	150.00	15.00	165
%	90.91	9.09	100

Chi-square of likelihood ratio = 5.39; df = 2; P = 0.067

**Table 5 Sex pets**

Sex	Negative	Positive	Total
female	131.00	15.00	146
male	19.00	0.00	19
Total	150.00	15.00	165
%	90.91	9.09	100

Chi-square of likelihood ratio = 3.86; df = 1; P = 0.049

The 15 positive samples were distributed evenly among the different neighbourhoods, which had similar characteristics in terms of the quality of the housing construction, access routes and socioeconomic level. Positive animals did not show clinical signs of the disease and their owners did not report having observed any evidence of illness. The vaccines conventionally used in veterinary clinics in Culiacan usually include four

serotypes: canicola, grippityphosa, icterohaemorrhagiae and pomona. Serovar pomona was not detected in this study. The serovars bratislava, pyrogenes, shermani and ballum, which were found in dogs in this study and are pathogenic to humans, are not included in common canine vaccines, creating a potential risk of infection for the pets.<sup>47,48</sup> Of the 15 positive samples, five (33.3 %) contained one serovar and ten contained two or more serovars (66.6 %). Studies conducted in Mexico report up to five serovars detected in different regions, in contrast with the seven serovars found in this study.<sup>49</sup> Two positive samples contained up to five different serovars each. The prevalence observed in this study (9 %) is lower than that reported for Mexico by several other authors because their studies were conducted using animals suspected of having clinical leptospirosis or at high risk for leptospirosis, including stray dogs, animals in veterinary clinics and rabies centres, and dogs in close contact with domestic animals, such as cattle, pigs, goats and sheep.<sup>40,42</sup> By contrast, this study used samples from 'healthy' dogs. However, the prevalence found in this study is close to that reported by Gautam *et al.*<sup>50</sup> in a similar study conducted in the United States that included dogs in veterinary clinics

The serovars identified vary from region to region. Davis *et al.*<sup>51</sup> observed a predominance of the serovars autumnalis, icterohaemorrhagiae and canicola in healthy dogs in the state of Washington, with a seroprevalence of 17 %. We found no specific studies to compare the other variables that were found to be significant in this study, such as keeping pets in yards (OR = 4.6, P < 0.05). The presence of water stored in drums and basins was statistically significant compared to households without standing water (OR = 3.25, P < 0.05). The presence of standing water favoured the possibility of spills and puddles of water, which provide ideal conditions for the survival of leptospires.<sup>52,53</sup> The sex of pets was also statistically significant ( $X^2 = 3.8$ , P = 0.049), with females having a higher prevalence compared to males. Positive female dogs in this study were in contact with 56 people who may be at risk of transmission of *Leptospira* from their pets.

## **Conclusions**

We identified dogs that were seropositive for *Leptospira* spp. in Culiacan, Sinaloa. Seropositivity was associated with risk factors in their environment include the

permanent habitation of pets in courtyards (OR = 4.6, P < 0.05) and presence of water stored in drums and basins (OR = 3.25, P < 0.05). These animals can eliminate the bacteria through their urine and led to the possibility of transmission to other animals and humans.

## References

1. Gillespie JH, Timoney JF. Hagan y Bruner: enfermedades infecciosas de los animales domésticos con especial referencia a: etiología, patogenia, inmunidad, epidemiología, diagnóstico y terapéutica biológica. 4 ed. DF (MX): La Prensa Médica Mexicana; 1983.
2. Blood DC, Henderson JA, Radostis OM. Medicina veterinaria. 5 ed. DF (MX): Interamericana; 1983.
3. Duque BM, Moreno MJ, Gómez D. Leptospirosis en edad pediátrica. DF (MX): Infectología Práctica; 1988.
4. Venkataraman KS, Nedunchellian S. Epidemiology of an outbreak of leptospirosis in man and dog. *Comp Immun Microbiol Dis*. 1992; 15(4):243-7.
5. Luna AMA, editor Aspectos clínicos reportados en leptospirosis canina. Primer Seminario Taller Nacional sobre el diagnóstico y control de la leptospirosis; 1997 23-25July; México: DF (MX).
6. Brod CS, Aleixo JA, Jouglard SD, Fernandes CP, Teixeira JL, Dellagostin OA. Evidence of dog as a reservoir for human leptospirosis: a serovar isolation, molecular characterization and its use in a serological survey canine leptospirosis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005; 38(4):294-300. doi: 10.1590/ S0037-86822005000400003.
7. Luna AM, Moles CL, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar GF. Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México, considerando las regiones ecológicas. *Rev Cubana Med Trop*. 2005; 51(1):28-31.
8. Secretaría de Salud, Sagarpa, IMSS, UNAM, UAM, UADY. NOM-029-SSA2-1999, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de la leptospirosis en el humano. DF (MX): Diario Oficial de la Federación; 2001.
9. Organización Mundial de la Salud (OMS). Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control / Organización Mundial de la Salud; traducción del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Rio de Janeiro (BR): OMS; 2008.

10. Céspedes M. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2005; 22(4):290-307.
11. Faine S. Leptospirosis. *Bacterial infections of humans*. 2 ed. New York (US): Brachman, Plenum Medical Book; 1991.
12. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis*. 2003;3(12):757-71. doi: 10.1016/S1473-3099(03)00830-2.
13. Brenner DJ, Kaufmann AF, Sulzer KR, Steigerwalt AG, Rogers FC, Weyant RS. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new leptospira genomospecies. *Int J Syst Bacteriol*. 1999;49(2):839-58.
14. Caballero A. Leptospirosis canina y su relación con el hombre. XXII Congreso Internacional de la Asociación de Microbiología Clínica 1997. p. 86.
15. Sepúlveda MA, Dimas JS, Preciado RFJ. La rata y el perro importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco. *Rev Cubana Med Trop*. 2002; 54(1):21-3.
16. Chapola EG, dos Santos MG, Bessa TA, de Oliveira ML. Human and canine leptospirosis: serological data of Sao Paulo City, Brazil, 2000 to 2003. *Rev Cubana Med Trop*. 2005; 57(1):61-2.
17. Ortega PA, Colín FRF, Gutiérrez BE, Jiménez CM. Frequency and type of renal lesions in dogs naturally infected with *Leptospira* species. *Ann NY Acad Sci*. 2008; 1149:270-4.
18. Meeyam T, Tablerk P, Petchanok B, Pichpol D, Padungtod P. Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in dogs. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2006;37(1):148-53.
19. Alton GD, Berke O, Reid-Smith R, Ojkic D, Prescott JF. Aumento de la seroprevalencia de leptospirosis y sus factores de riesgo, Ontario 1998-2006. *Can J Vet Res*. 2009; 73(3):167-75.
20. Greenlee JJ, Alt DP, Bolin CA, Zuerner RL, Andreasen CB. Experimental canine leptospirosis caused by *Leptospira interrogans* serovars pomona and bratislava. *Am J Vet Res*. 2005; 66(10):1816-22.

21. Van de Maele I, Olaus A, Haesebrouck F, Daminet S. Leptospirosis in dogs; a review with emphasis on clinical aspects. *Vet Rec.* 2008; 163(14):409-13. doi: 10.1136/vr.163.14.409.
22. Goldstein RE, Lin RC, Langston CE, Scrivani PV, Erb HN, Barr SC. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. *J Vet Intern Med.* 2006; 20(3):489-94. doi: 10.1111/j.1939-1676.2006.tb02886.x.
23. Barrido EM, Alexanderson E, Halabe CA. Enfermedad de Weil, cinco casos en el Valle de México. *Rev Invest Clin (Méx).* 1989; 41:253-7.
24. Low DG. Leptospirosis canina en: *Terapéutica veterinaria.* 3 ed. DF (MX): Continental; 1981.
25. Solano-Chinchilla A, Boza-Cordero R, Saenz-Bolaños E. Leptospirosis en humanos. . *Rev Cost de Ciencias Médicas.* 1996; 17(2):41-60.
26. Ellis WA. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1994; 10:463-78.
27. Songer JG, Thiermann AB. Leptospirosis. Zoonosis update. *J Am Vet Med Assoc.* 1988; 193:1250–4.
28. Spinu I, Topcin V, Trinh Thi Hang Quy, Vo Van Hung, Mgyuen Sy Quoe, Long CX, et al. L'homme comme réservoir de virus dans une épidémie de leptospirose survenue dans la jungle. *Arch Roum Path Exp.* 1963; 22:1081–100.
29. Moles CL, Salomón S, Munguía A, editors. Estudio serológico para detectar anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en perros de la ciudad de México. XXI Congreso Nacional de Microbiología; 1990; Villahermosa, Tabasco, México.
30. Flores CR, Solana MP, editors. Problemática de la vacunación contra la leptospirosis canina. XXII Congreso Nacional de AMVEPE 56 63; 1992.
31. García SC, Ibarra ZS. Estudio serológico de Leptospirosis canina en la ciudad de Toluca: Universidad Nacional Autónoma del Estado de México; 1992.
32. Luna AM. Frecuencia serológica de leptospirosis canina en el municipio de Naucalpan de Juárez, Estado de México. Edo. de México (MX): Universidad Nacional Autónoma de México; 1993.



33. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. The spirochetes. Hagan & Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8 ed. Ithaca (US): Comstock Publishing Associates; 1988. p. 45-57.
34. Prescott JF. Leptospirosis. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, editors. Pathology of domestic animals. (US): Elsevier Academic Press, Inc; 1993. p. 503-11.
35. Ward MP, Glickman LT, Guptill LF. Prevalence of and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970–1998). J Am Vet Med Assoc. 2002; 220:53–8.
36. INEGI. Información del Estado de Sinaloa. DF (MX): Instituto Nacional de Geografía y Estadística; 1999.
37. Comisión Nacional del Agua. Análisis de las temporadas de huracanes de los años 2009, 2010 y 2011 en México. D F (MX) 2012.
38. Fernández C, Obregón A, Rodríguez G, editors. Nuevas tecnologías desarrolladas e incorporadas en el diagnóstico de la leptospirosis humana en Cuba. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 2002; La Habana (CU): Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias.
39. Weyne D. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. 4th ed. DF (MX): Limusa Willey; 2006.
40. Zavala J, Pinzón J, Flores M, Damián A. La leptospirosis en Yucatán. Estudio serológico en humanos y animales. Rev Salud Públ Méx. 1984; 26:254-6.
41. Rivera F, Peña MA, Roa RM, Ordóñez BM. Seroprevalencia de leptospirosis en perros callejeros del norte de la Ciudad de México. Vet Mex. 1999; 30(1):105-7.
42. Cárdenas MM, Vado SI, Ortega PA, Rodríguez BJ. Prevalencia de leptospirosis canina en el municipio de Mérida Yucatán. Enfermedades infecciosas y microbiología. 2003; 23(3).
43. Luna AM, Moles CL, Urrutia VR, Torres BJ, editors. Diferencia en la prueba de aglutinación microscópica para el diagnóstico de leptospirosis empleando dos serovariedades del mismo serogrupo. XXVIII Congreso Nacional de Microbiología; 1997; Culiacán, Sinaloa (MX).
44. Pfeiffer DU. Veterinary epidemiology an introduction. London (GB): University of London; 2002.

45. Pita FS, Pertegas DS, Valdez CF. Medidas de frecuencia de enfermedad: Elsevier; 2004 [Available from: [www.fisterra.com](http://www.fisterra.com)].
46. Ward MP, Guptill LF, Prah A, Wu CC. Serovar-specific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 cases (1997-2002). *J Am Vet Med Assoc* 2004;224(12):1958-63.
47. Cabezas H, Cabezas O, Bencomo L, Quintana P. Aislamiento de cepa del complejo patógeno Bataviae en paciente vacunado contra copenhageni, canicola y mozdok. *Rev Cubana Med Trop*. 2005; 57(7):73-4.
48. Geisen V, Stengel C, Brem S, Müller W, Greene C, Hertmann K. Canine leptospirosis infections clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). *J Small Anim Pract*. 2007; 48(6):324-8. doi: 10.1111/j.1748-5827.2007.00324.x.
49. Luna AM, Moles CL, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar GF. La leptospirosis canina y su problemática en México. *Rev Salud Anim*. 2008; 30(1):1-11.
50. Gautam R, Wu CC, Guptill LF, Potter A, Moore GE. Detection of antibodies against *Leptospira* serovars via microscopic agglutination tests in dogs in the United States, 2000-2007. *J Am Vet Med Assoc*. 2010; 237(3):293-8.
51. Davis MA, Evermann JF, Petersen CR, VancerSchalie J, Besser TE, Huckabee J, et al. Serological survey for antibodies to *Leptospira* in dogs and raccoons in Washington State. *Zoonoses Public Health*. 2008; 55(8):436-42. doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01137.x.
52. González J, Tamayo S, Machado A. Leptospirosis. La Habana (CU): Centro de Información y Documentación Agropecuaria; 1990.
53. Monahan AM, Miller IS, Nally JE. Leptospirosis risks during recreational activities. *J Appl Microbiol*. 2009; 107(3):707-16. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04220.x.

## CAPÍTULO 3

### PREVALENCE AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH SEROVARS OF *Leptospira* IN DOGS, RELATED HUMAN SEROPOSITIVE.

Carlos Víctor Hernández Ramírez<sup>1,3</sup>, Soila Maribel Gaxiola Camacho<sup>1</sup>, Idalia Enríquez Verdugo<sup>1</sup>, Ignacio Osuna Ramírez<sup>2</sup>. José Ramón Rivas Llamas<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>2</sup>Unidad de Investigaciones en Salud Pública Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>3</sup>Servicios de Salud de Sinaloa, Departamento de Prevención y Control de Vectores y Zoonosis. <sup>4</sup>Servicios de Salud de Sinaloa. Departamento de Hemovigilancia.

**Published in Dairy, Vet Anim Res 6(2):00174 DOI 10.15406/jdvar.2017.06.00174**

#### ABSTRACT

To determine the seroprevalence and the main risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs from Culiacan, Sinaloa, we obtained serum from the blood samples of 106 dogs, related humans seropositive (blood donors of public hospitals). The samples were stored at -40 °C until use and were analyzed by the microbiology laboratory of the Centro Nacional de Sanidad Animal (CENASA) using the leptospirosis microscopic agglutination test (MAT). An epidemiological survey was conducted in order to identify risk factors. Statistical analyzes were done using the chisquare test. The risk (OR: odds ratio) and the confidence intervals were calculated using the logistic regression model. A value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant. The prevalence of *Leptospira* was 17% (18/106), and we identified eleven serovars and their respective frequency: wolffi (66.6%), bratislava (22.2%), australis (16.6%), canicola (11.1%), grippotyphosa (11.1%), pyrogenes (11.1%), hardjo (5.5%), icterohaemorrhagiae (5.5%), pomona (5.5%), hebdomadis (5.5%), shermani (5.5%). The risk factors associated with the detection of antibodies to this bacteria, based on epidemiological surveys, include the sex of pets female ( $p < 0.05$ ; OR= 2.9) and the dogs who stay at home and have access to the street was marginally significant ( $p= 0.06$ ).

Keywords: Leptospirosis; *Leptospira*; Dog; Prevalence; Risk factors; Blood donors

## INTRODUCTION.

Leptospirosis is the most widespread zoonotic disease in the world, with great economic and health importance. Infection is typically transmitted through direct contact of oral or nasal mucosa, with contaminated urine or water, and dogs are at risk of infection from drinking contaminated water.<sup>1,2</sup> Dogs play an important role as potential indicators of areas with high endemicity for leptospirosis. Thus, recognizing and preventing canine leptospirosis has implications for human health as well as dogs.<sup>3</sup> This disease is caused by a spirochete of pathogenic strains of the genus *Leptospira*, affecting wild and domestic animals, as well as man. Despite being a treatable disease, human leptospirosis is a significant public health problem.

Leptospire are classified into pathogenic, non-pathogenic, and intermediate species based on DNA hybridization. The old phenotypic classification system based on agglutination absorption test identified approximately 250 serovars among the *Leptospira* species and serogroups.<sup>4</sup> Humans are incidental hosts and get infected by exposure to an environment contaminated with the urine of an animal reservoir. Leptospire are strictly aerobic microorganisms. Morphologically, they are spirochetes that are approximately 0.1 µm wide and 6-15 µm long, with flexion, translation, and propulsion movements, as well as active undulation. These bacteria are Gram-negative and divide by binary fission. *Leptospira* spp. are spirochetes that can rapidly move through the blood, reaching the kidneys, heart, lungs and liver. These bacteria damage tissues while moving within organs and can cause multiorgan failure in a few weeks.<sup>5,6</sup>

Rodents are the most frequent reservoirs, with wild carnivores,<sup>7</sup> no mammal can be excluded as a possible host.<sup>8</sup> The pathogenic *Leptospira* lives in the proximal renal tubules of the kidneys of carriers,<sup>9,10</sup> other tissues and organs may serve as a source of infection. From the kidneys, leptospire are excreted into the urine and can contaminate mud, water, streams and rivers<sup>11</sup> for this reason, this disease is occasionally epidemic outbreak, especially in situations of great abundance of rodents and floods.<sup>12</sup>

The diagnosis of leptospirosis is performed by various methods, however, plate microagglutination (MAT) is regarded as the gold standard. The reactions determine

the presence of agglutinating antibodies against the tested serovars.<sup>13</sup> Antibodies generally appear between the sixth and twelfth day of infection and increase rapidly until the second or fourth week, subsequently manifesting a gradual decline of levels.<sup>14</sup>

The main source of infection for animals, especially dogs, is the urine of asymptomatic carrier animals (dog to dog), as well as vectors, rodents being a natural reservoir.<sup>15,16</sup> The serovars icterohaemorrhagiae and pomona produce hemolysins, which are responsible for hemoglobinuria. In the case of the serovar icterohaemorrhagiae, it causes severe jaundice in dogs. Person-to-person transmission is exceptional, but several cases of congenital infection have been described. Furthermore, a case of transmission through breast milk has been described in the United States. In Mexico, serological studies have been carried out in dogs from various states of the country. Moles *et al.* 1990,<sup>17</sup> analyzed sera from a total of 218 dogs from the anti-rabies center of Culhuacán, Mexico City, and found that 28.44% were seropositive to one or more serovars; *Leptospira canicola* was the most prevalent, with 22% seropositivity. Flores and Solana (1992),<sup>18</sup> observed a frequency of seropositivity of 61.7% in all dogs studied. In the same year, Garcia and Ibarra (1992),<sup>19</sup> found 41.5% seropositivity in dogs from Toluca, in the State of Mexico. Luna (1993),<sup>20</sup> analyzed a total of 485 sera from dogs in the area of Naucalpan, State of Mexico, and found 48.4% seropositivity. The main source of infection for animals, and dogs in particular, is the urine of asymptomatic carrier animals, and vectors, of which the most important are rodents, due to their capacity to act as natural reservoir for the bacteria. Dogs are considered the most important domestic species in the transmission of leptospirosis to man.<sup>21,14</sup> In the state of Sinaloa, this disease has been diagnosed in humans, ruminants and pigs.<sup>22</sup> The real extent of the disease is unknown, as is the presence of leptospira serovars in dogs. Thus, it is important to determine the seroprevalence of the disease and to identify risk the factors associated with serovars of *Leptospira Interrogans* in dogs of Culiacan, Sinaloa, this information could help find alternatives for controlling the disease. The state of Sinaloa is endemic zone of Leptospirosis, and occupies the first National place in mortality by this disease with 117 deaths in the period 2005-2014 (48% of lethality). As for morbidity, it occupies the third national place with 201

cases in the mentioned period below only the states of Tabasco and Veracruz.<sup>23</sup> Leptospirosis in dog is caused by *L. canicola* and *L. icterohaemorrhagiae*, these two serovars are considered in some areas, the most important in this species.<sup>24,25</sup> Other serovars are considered accidental transmitted by wildlife,<sup>26</sup> it manifests mainly in subclinical form, so that the serological findings are more frequent than the manifestation of the disease, however when it is present, it can cause death, the recovered animals remain in the carrier for months or years.<sup>27,28</sup> In 1916, the first report published highlighting the importance of canine leptospirosis in public health by observing Weill's disease in two individuals who had been in contact with an icteric dog.<sup>29,30</sup> The dog has been identified as the most important domestic species in the transmission of leptospirosis to man.<sup>27,29,31,32</sup>

Infection in dogs by serovar *canicola* is considered the most common, serovar *icterohaemorrhagiae* is less frequent and is related to the rats as carrier and transmitter.<sup>33-36</sup>

Leptospirosis can be transmitted after a subclinical or clinical infection, as well as in the last stage of acute disease and the chronic phase, since infected dogs excrete leptospire through the urine. The quantity of leptospire is greater in the first weeks post-infection and elimination can last up to four years, thus achieving the transmission of animal to animal and animal to human.<sup>27,37</sup> The habits of dogs (sniffing, lick, cortege) , and the places where they habit favor the transmission of infection and dog-to-dog disease.<sup>38-40</sup>

**Materials and Methods** This study was conducted in the city of Culiacan, Sinaloa, Mexico, located at 24° 48' N and 107° 23' W, 60 meters above sea level; the climate of the region is classified as semi-dry, with a very warm average temperature of 25.5 °C, maximum temperatures of 45 °C in the months of July and August, minimum temperatures of 7 °C in December and January, and an annual rainfall of 671.14 mm. Blood samples were collected from 106 canine in domicile and colonies where seropositive blood donors from public hospitals in Culiacán, Sinaloa were identified, the dogs not vaccinated against leptospirosis. Before taking the blood samples, we applied a questionnaire to the pet owners in order to obtain their address and information related to the conditions and characteristics of the place where the dogs

lived; the questions were directly related to the epidemiological variables that are determining factors in the transmission of leptospirosis. We also asked for their authorization to take the blood samples through an informed consent form; the samples (3 ml) were obtained by puncturing the jugular vein, were deposited in a vacutainer tube without anticoagulant and centrifuged for five minutes at 1008 g. The blood was free of pollutants, not hemolyzed, and the serum samples thus obtained were frozen at -40 °C in an ultra-freezer. Once collected, the samples were taken to the laboratory of the National Animal Health Centre in Tecamac, State of Mexico, where they were processed using the Microscopic Agglutination Test (MAT), with specific reactions for each serovar; we used a panel that included the following serovars: ballum, canicola, hardjo, pomona, pyogenes, icterohaemorrhagiae, bratislava, wolffi, australis, grippityphosa, hebdomadis and shermani, 106 samples were taken in vacutainer tubes without anticoagulant; they were centrifuged for five minutes at 1008 g to obtain serum, which was then frozen. The cut-off points of the tests considered titers of 1:100 or greater as positive<sup>43</sup> The questionnaire asked for the name of the owner, address, number of dogs per owner, sex, race, age, vaccinations applied place of habitation, types of floor, presence of rodents, water supply in the house, presence of pools, open water containers, presence of drainage and number of residents per dwelling. We performed a transversal analytical study. An epidemiological survey was applied to the people responsible for the dogs in order to identify risk factors. The homogeneity of proportions was tested using the chi-square statistic test; the risks (OR, odds ratio) and the confidence intervals were estimated using the logistic regression model. A value of  $P < 0.05$  was considered statistically significant. All analyzes were performed using the statistical package Stata Intercooled V.13.1.

**Results and discussion** We studied 106 serological samples from dogs associated with seropositive blood donors from public hospitals of Culiacán, resulting in 18 canine positive cases. The descriptive analysis of the survey data indicates the number of pets with owner was 96% as well as 201 dogs related to sampled animals and 444 humans. The age data sampled indicate that 53% were taken from animals older than two years, and 47% pets under that age. Regarding the type of dog breed, we found

that 50% of the serum samples corresponded to mixed breeds, followed by crosses of small breeds such as poodle and chihuahua (29%); these two groups made up 79% of the samples, the sex of the sampled animals, 55% correspond to males and 45% to females. The place of habitation of the dogs was also considered an important factor related to the epidemiology of the disease; 94.34% of the dogs lived within the home, while 53% of the sampled dogs had contact with the street. We observed that 10.38% of the dogs remained inside the house, 38.68% inhabited both the interior and exterior of the house, and the majority (45.28%) remained only in courtyards. Regarding the type of floor in the place inhabited by the dogs, 36% corresponded to cement and 39% to cement and dirt; the rest of the animals stayed only on dirt (25%). With regard to the water supply in the homes, 88% have piped water, and 12% reported using drums or basins for water storage. Drainage was present in 90% of the households. Regarding the number of people living in each household, the most frequent value was five residents per household (25.47%), followed by households with four inhabitants (23.58%) as well as other with less people. Rodents were reported in 75% of the households. A serological study of 106 samples from dogs living in the city of Culiacan, Sinaloa, indicated a prevalence of *Leptospira Interrogans* of 17%; the serovars detected were: wolffi, bratislava, australis, canicola, grippotyphosa, pyrogenes, hardjo, icterohaemorrhagiae, pomona, hebdomadis y shermani. (Table 1)

The observed frequency for serovars, from high to low was: Wolffi 66.6%, Bratislava 22.2%, Australis 16.6%, Canicola 11.1%, Grippotyphosa 11.1%, Pyrogenes 11.1%, Hardjo 5.5% Icterohaemorrhagiae 5.5%, Pomona 5.5%, Hebdomadis 5.5%, Shermani 5.5%. (Figure 1)

The epidemiological variables corresponding to neighborhoods (socioeconomic stratum), number of pets per household, dogs with or without owner age, breed, stay of pets type of floors water supply, drainage, water stored in drums and basins and presence of rodents showed no significant differences ( $P < 0.05$ ). There was a significant difference in the sex of pets female ( $P < 0.05$ ; OR= 2.9) and the dogs who stay at home and have access to the street was marginally significant ( $P = 0.06$ ).

Serological positive samples were found in colonies with similar characteristics, of housing construction, access routes and similar socioeconomic status, unpaved



streets with garbage presence in yards and street, with accumulation of "pots", with poor basic sanitation and poor management of stored water all these characteristics are risk factors for the disease.<sup>16</sup>

**Table 1 Serovars *Leptospira interrogans* identified in dogs**

Sample number	Serovar	Titles
CI-05	Canicola	1:400
	Pomona	1:100
	Bratislava	1:100
	Grippotyphosa	1:400
	Pyrogenes	1:800
C4-04	Grippotyphosa	1:200
	Icterohaemorrhagie	1:100
	Bratislava	1:200
	Canicola	1:200
	Pyrogenes	1:400
	Hardjo	1:100
C5-01	Wolffi	1:200
C5-02	Wolffi	1:200
C5-03	Wolffi	1:200
C5-04	Wolffi	1:200
C5-05	Wolffi	1:400
	Australis	1:100
C5-06	Wolffi	1:100
C5-07	Wolffi	1:100
	Shermani	1:100
C5-08	Wolffi	1:200
	Australis	1:100
C5-10	Wolffi	1:100
C5-15	Australis	1:100
	Shermani	1:100
C5-17	Wolffi	1:100
	bratislava	1:200
C5-18	Hebdomadis	1:100
	Bratislava	1:100
	Australis	1:100
	Wolffi	1:200
C5-19	Wolffi	1:200
C6-01	Wolffi	1:100
C8-03	Wolffi	1:100
C8-13	Bratislava	1:100

The eleven identified serovars include those mentioned as very pathogenic to humans of their characteristics of hemolysins production mainly by serovars Icterohaemorrhagiae and Pomona, which are responsible for hemoglobinuria and vascular damage.<sup>41</sup> Positive animals no presents clinical signs characteristic of the

disease and their owners not mention sign them sick. We also observed the presence of multiple infections in a single host( up to six serovars).The vaccines conventionally applied in veterinary clinics in Culiacan usually include four serovars: canicola, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae and pomona but the serovars, bratislava, pyrogenes, shermani, ballum, australis, hardjo y hebdomadis which were found in the study and are pathogenic to humans, are not included, creating the potential risk that pet owners could get infected by these serovars.<sup>42</sup> The observed prevalence (17%) is higher than that reported by Hernández *et al.*,(2017)<sup>43</sup> In Culiacan in apparently healthy dogs from a general population, without association with seropositive humans. However, it is close to that reported for Mexico by several authors in other studies were conducted with animals suspected of leptospirosis or at high risk, including stray dogs, animals in veterinary clinics and rabies centers, and dogs in close coexistence with domestic animals such as cattle, pigs, goats and sheep.<sup>44</sup> The serovars vary from region to region,<sup>45</sup> observed a predominance of the serovars autumnalis, icterohemorrhagiae and canicola in healthy dogs of the state of Washington, in Mexico in the state of Veracruz the serovars detect tarassovi, canicola pyrogenes y autumnalis with a seroprevalence of Sinaloa have detected 20 serovars between humans and animals, Studies in Mexico refer up to five serovars in dogs detected in the different regions studied<sup>46</sup> unlike the eleven serovars found in this study .The sex of pets was also statistically significant ( $P < 0.05$ ; OR= 2.9),with females having a higher prevalence compared to males<sup>40</sup>; Ward *et al.*, (2002)<sup>41</sup> reported male dogs used for work and shepherding are in greater risk of contracting the disease. (Table 2) The dogs who stay at home and have access to the street was marginally significant ( $P= 0.06$ ), (Table 3) to have contact with other animals, urine or contaminated water, can be inferred there is a greater risk of infected with bacteria.<sup>15,16,43,47</sup>

**Conclusions** In the city of Culiacan Sinaloa, there are seropositive dogs to antileptospira interrogans antibodies related to seropositive humans associated to risk factors in the streets that favor the contact with the bacteria while maintaining the possibility of contagion to other animals and humans. The prevalence observed was higher in dogs associated with human cases, than in the general population, in the

same area studied, it is probable that these animals have an important role in the transmission to humans.

**Table 2 Sex pets**

Sex	Negative	Positive	Total
female	36.00	12.00	48
male	52.00	6.00	58
Total	88.00	18.00	106
%	83.02	16.98	100

Pearson chi-square = 4.001; GL = 1; P value = 0.045

Chi-square likelihood rate = 4.019; GL = 1; P value = 0.045

**Table 3 dogs have access to the street**

Sex	Negative	Positive	Total
Home/street	43.00	13.00	56
home	45.00	5.00	50
Total	88.00	18.00	106
%	83.02	16.98	100

Pearson chi-square = 3.272 GL = 1; P value = 0.070

Chi-square likelihood rate = 3.389; GL = 1; P value = 0.066

## References

- 1 Nelson RW, Couto CG. 2003 Small Animal Medicine, 3rd Ed. Mosby, St. Louis, MO
- 2 Heymann D. 2008 Control of Communicable Diseases Manual, 19th Ed. American Public Health Association, Washington DC.
- 3 White AM, Zambrana-Torrel C, Allen T, Rostal MK, Wright AK., Ball EC; *et al.* 2017. Hotspots of canine leptospirosis in the United States of America. *Veterinary Journal*; 222 (2017) 29–3
- 4 Brenner DJ, Kaufmann AF, Sulzer KR, Steigerwalt AG, Rogers FC, Weyant RS. 1999. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. *Int J Syst Bacteriol.*; 49: 839-858.
- 5 Faine S, Adler B, Bolin C. and Perolat P. 1999. *Leptospira and leptospirosis*. 2nd Ed. Melbourne, Australia. Med. Sci.
- 6 Levet PN. 2001. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews* 14(2): 296-326.
- 7 Yalin W, Lingbing Z, Hongliang Y, Jianmin X, Xiangyan Z, Xiaokui G, Utpal P, Jinhong Q 2011. High prevalence of pathogenic *Leptospira* in wild and domesticated

animals in an endemic area of China *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 841-845.

8 Hirsh DC, MacLachlan NJ, Walker RL. 2004. *Veterinary Microbiology*. 2 Ed. Blackwell Publishing Professional 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014 USA; 148-152.

9 Quinn P, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 1 Ed. Blackwell Science Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK (Pág. 175-179, Cap 31).

10 Songer J, Post KW. 2005. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*. 1 Ed. Elsevier Saunders. 11830 Westline Industrial Drive, St. Louis, Missouri 63146 (Pág. 244-250. Cap 31.)

11 Adler B, de la Peña Moctezuma. A. 2010. *Leptospira and Leptospirosis*. *Veterinary Microbiology* 140: 287-296.

12 Arango J, Cittadino E, Agostini A, De Mazzonelli GD, Alvarez C, Colusi M, *et al.* 2001. Prevalencia de leptospirosis en *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Ecología Austral* 11:25-30

13 Organización Mundial de la Salud, (OMS) 2008. *Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control / Organización Mundial de la Salud*. Traducción del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. - Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa VP/OPS/OMS.

14 Luna AM. 1997. Aspectos clínicos reportados en leptospirosis canina. Primer Seminario Taller Nacional sobre el diagnóstico y control de la leptospirosis. Universidad Metropolitana Xochimilco. 23-25 julio.

15 Alton GD, Berke O, Reid-Smith R, Ojkic D, Prescott J.F. 2009. Aumento de la seroprevalencia de leptospirosis y sus factores de riesgo, Ontario 1998-2006. *Can J Vet Res* 73 (3):167-175.

16 Meeyam T, Tablerk P, Petchanok B, Pichpol D, Padungtod P. 2006. Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in dogs. *Southeast Asian J Trop. Med Public Health* 37(1):148-53.

- 17 Moles CL, Salomón S, Munguía A. 1990. Estudio serológico para detectar anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en perros de la ciudad de México. Memorias del XXI Congreso Nacional de Microbiología. Villahermosa Tabasco 39.
- 18 Flores CR, Solana MP. 1992. Problemática de la Vacunación contra la Leptospirosis Canina. Memorias del XXII Congreso Nacional de AMVEPE. 56-63.
- 19 García SC, Ibarra ZS. 1992. Estudio serológico de Leptospirosis canina en la ciudad de Toluca. (Tesis de Licenciatura), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma del Estado de México.
- 20 Luna AM. 1993 Frecuencia serológica de Leptospirosis canina en el Municipio de Naucalpan de Juárez, Estado de México. (Tesis de Licenciatura) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.
- 21 Venkataraman K.S, Nedunchellian S. 1992 Epidemiology of an Outbreak of Leptospirosis in Man and Dog. Comp. Immun. Microbiol. Dis 15 (4) 243-247.
- 22 Luna AM, Moles CL, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar GF. 2005. Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México, considerando las regiones ecológicas. Rev Cub Med Trop 2005: 51 (1).
- 23 DGIS Cubo de Defunciones 1979-2014/DGIS/Secretaria de Salud (consultado julio 2016). Disponible en <http://pda.salud.gob.mx/cubos/cmortalidadxp.html>
- 24 Brod CS, Aleixo JA, Jouglard SD, Fernández CP, Teixeiras JL, Dellagostin OA. 2005. Evidence of dog as a reservoir for human leptospirosis: a serovar isolation, molecular characterization and its use in a serological survey Canine Leptospirosis. Rev. Soc. Bras. Med. Trop 38(4):294-300.
- 25 Ortega PA, Colín FRF, Gutiérrez BE, Jiménez CM. 2008. Frequency and type of renal lesions in dogs naturally infected with leptospira species. Ann N.Y. Acad. Sci 1149: 270-4.
- 26 Stokes JE, Kaneene JB, Schall WD, Kruger JM, Miller R, Kaiser L, Bolin CA .2007. Prevalence of serum antibodies against six *Leptospira* serovars in healthy dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 230 (11): 1657-1664.
- 27 Gillespie J, Timoney JH, Timoney JF; Jagan y Bruner. 1981. 4ª. Ed. La Prensa Médica Mexicana México. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos.

- 28 Low DG. 1981. 3ª Ed. Continental, México. Leptospirosis canina en: Terapéutica Veterinaria.
- 29 Merchant IA, Packe RA. 1975. 3ª ed. Ed. Acribia, Zaragoza, España. Bacteriología y Virología Veterinarias.
- 30 Jansen A, Schoneberg I, Frank C, Alpers K, Schnaider T, Stark K. 2005. Leptospirosis in Germany, 1962-2003. *Emerg. Infect. Dis.* Jul.11 (7):1048-54.
- 31 Blood DC, Henderson JA, Radostis OM. 1983. 5ª edición. Ed. Interamericana México, D.F. Medicina Veterinaria.
- 32 Duque BM, Moreno MJ, Gómez D. 1988. Leptospirosis en Edad Pediátrica. *Infectología Práctica*, México D.F.
- 33 Vander Hoeden J. 1958 Epizootiology of Leptospirosis. *Adv. Vet. Sci.*4; 278-339.
- 34 Michna SW. 1970. Leptospirosis. *Vet. Rec.* (86) 484-496.
- 35 Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. 1988. 8th edition Comstock Publishing Associates, Ithaca, USA. The Spirochetes, in: Hagan & Bruner's *Microbiology and infectious diseases of domestic animals* (45-57).
- 36 Prescott JF 4th edition Academic Press, Inc. 1993. Leptospirosis, In: Jubb K.V.F., Kennedy P. C., Palmer N. *Patology of domestic animals.* (503-511).
- 37 Hanson LE. Ed. Academic Press. New York. 1976. *The Biology of Parasitic Spirochetes.* Editor Johnson Russell C.
- 38 Luna AMA, Moles CLP, Torres BJI. 1996. Leptospirosis un problema importante en perros. CENID-Microbiología INIFAP, SAGAR, DPA, UAM Xochimilco desplegable técnico.
- 39 Ward, M. P., Glickman L., Guptill LE. 2002. Prevalence of and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970-1998). *J. Am. Vet. Assoc.* 1; 220(1):53-8.
- 40 Ward, M. P., Guptill L F., Wu CC. 2004. Evaluation of environmental risk factors for leptospirosis in dogs: 36 cases (1997-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1; 225(1):72-7.
- 41 Goldstein RE, Lin RC, Langston CE, Scrivani PV, Erb HN, Barr SC. 2006. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. *J Vet. Intern. Med.* 20(3):489-94.

- 42 Geinsen V, Stengel C, Brem S, Müller W, Greene C, Hertmann K. 2007. Canine leptospirosis infections clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). *J. Small Anim Pract* 48(6):324-8.
- 43 Hernández Ramírez CV, Gaxiola Camacho SM, Osuna Ramirez 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. *Veterinaria México OA* 4(2). doi: 10.21753/vmoa.4.2.369
- 44 Cárdenas MM, Vado SI, Ortega PA, Rodríguez BJ. 2003. Prevalencia de leptospirosis canina en el municipio de Mérida Yucatán. *Enfermedades infecciosas y microbiología*. 23:3.
- 45 Davis MA, Evermann JF, Petersen CR, VanderSchalie J, Besser TE, Huckabee J. *et.,al.* 2008. Serological Survey for Antibodies to *Leptospira* in Dogs and Raccoons in Washington Journal compilation Blackwell Verlag Zoonoses Public Health. 55 436–44
- 46 Luna AM, Moles CL, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar GF. 2008. La leptospirosis canina y su problemática en México. *Rev. Salud Anim.* 30 (1):1-11
- 47 Kikuti M, Langoni H, Nóbrega DN, Correa APFL, Ullman LS. 2012. Ocurrencia y factores de riesgo asociados con la leptospirosis canina. *J. Venom. Anim.Trop.* (18):1.

## CAPÍTULO 4

### PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LAS SEROVARIEDADES DE *Leptospira interrogans* EN DONADORES DE SANGRE EN UN ÁREA ENDÉMICA DE MÉXICO.

Carlos Víctor Hernández Ramírez<sup>1,3</sup>, Soila Maribel Gaxiola Camacho<sup>1</sup>, Idalia Enríquez Verdugo<sup>1</sup>, Ignacio Osuna Ramírez<sup>2</sup>, José Ramón Rivas Llamas<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>2</sup>Unidad de Investigaciones en Salud Pública Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>3</sup>Servicios de Salud de Sinaloa, Departamento de Prevención y Control de Vectores y Zoonosis. <sup>4</sup>Servicios de Salud de Sinaloa. Departamento de Hemovigilancia.

#### RESUMEN

**Objetivo.** Determinar la seroprevalencia e identificar los factores de riesgo asociados a la infección por *Leptospira interrogans* en donadores de sangre de hospitales públicos de Sinaloa. **Material y Métodos.** Se realizó un estudio observacional, transversal, analítico y prospectivo. Los resultados se analizaron con la prueba *Ji* cuadrado de *Pearson* y análisis de regresión logística. Se obtuvieron 247 muestras, serológicas que se estudiaron mediante la técnica de microaglutinación (MAT). Cada participante contestó una encuesta epidemiológica para identificar los factores de riesgo de adquirir la infección. **Resultados.** La seroprevalencia en los donadores de sangre fue de 3.2% (8/247); los serovares encontrados fueron: Canicola 50% Icterohaemorrhagiae 37% Pyrogenes 25%, Autumnalis 25% y Pomona 25%, seropositivos con multiinfección el 75%. La ocupación laboral, es el factor de riesgo estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ). **Discusión.** La seroprevalencia observada en donadores de sangre de distintos hospitales, indica la posibilidad de riesgo de transmisión de la enfermedad para el receptor, por lo cual consideramos urgente y necesario realizar cambios al marco legal de la NOM-253-SSA1-2012 con el fin de evitar la posible transmisión de *Leptospira interrogans* mediante esta vía. Así mismo mantener la higiene y limpieza en las áreas de trabajo (factor de riesgo asociado) puede contribuir a disminuir los riesgos de contacto con la bacteria.

**Palabras clave:** Leptospirosis, *Leptospira Interrogans*, donantes de sangre, prevalencia, factores de riesgo.



## ABSTRACT

**Objective.** Determine the prevalence and the main risk factors associated with serovars of *Leptospira interrogans* in blood donors of public hospitals in Sinaloa.

**Material and methods.** An observational, transversal, analytical and prospective study was carried out. The results were analyzed with Pearson's Chi-square test and logistic regression analysis. The study of 247 serum samples with their respective epidemiological survey. blood donors, public hospitals at state of Sinaloa, were

analyzed by Micro Agglutination Technique (MAT). **Results.** The observed prevalence was 3.2%, the detected serovars and frequency were Canicola (50%) Icterohaemorrhagiae, (37%) Pyrogenes, (25%) Autumnalis, (25%) Pomona (25%).

Associated risk factors ( $p < 0.05$ ) occupation. **Discussion.** The seroprevalence observed in blood donors of different hospitals, indicate the possibility risk transmission the disease to receptor, for which we consider urgent and necessary to make changes to NOM-253-SSA1-2012 to avoid the possible transmission of *Leptospira interrogans* through this route. Same, maintaining hygiene and cleanliness in the work areas (associated risk factor) can help to reduce the risks of contact with the bacteria.

**Key words:** Leptospirosis, *Leptospira Interrogans*, blood donors, prevalence, risk factors.

## INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa causada por serovares pertenecientes a *Leptospira interrogans*, representa a nivel mundial un problema de salud pública que afecta tanto a los países industrializados como a los que están en vías de desarrollo, el número de casos es difícil de establecer, se estiman aproximadamente 1.03 millones de casos se presentan anualmente en el mundo con 59,900 muertes.<sup>1</sup> En Europa, su incidencia disminuyó durante la segunda mitad del siglo pasado, sin embargo, su resurgimiento en zonas urbanas ha llevado a plantear nuevas políticas en salud pública para su control.<sup>2</sup> En el año 2010 se reportaron 588 casos de leptospirosis en 25 países europeos con una incidencia global de 0.13/100,000 habitantes.<sup>3</sup> Las cifras exactas de la infección en el mundo se desconocen ya que los sistemas de diagnóstico y registro epidemiológicos son difíciles de aplicar.<sup>4</sup> La leptospirosis es producida por una bacteria del género *Leptospira*, son microorganismos aerobios obligados que presentan movimientos característicos, el diagnóstico de leptospirosis puede realizarse por varios métodos, la prueba de microaglutinación en placa (MAT), es la prueba de referencia para la Organización Mundial de la Salud (OMS) en ella, las reacciones determinan la presencia de anticuerpos aglutinantes para los serovares y esta técnica permite determinar en forma cuantitativa el título de anticuerpos positivos títulos  $\geq 1:100$ .<sup>5</sup> Se realizaron estudios donde determinaron la prevalencia de leptospirosis en pacientes con un diagnóstico inicial de dengue, observándose un 18% de los casos positivos correspondían a leptospira,<sup>6</sup> así mismo, se han documentado dos casos de la enfermedad en pacientes trasplantados con riñones infectados con *Leptospiras* donde uno de ellos fue fatal.<sup>7,8</sup> En general, se distinguen dos tipos clínicos: el icterico y el anictérico. El icterico o hepatonefrítico (enfermedad de Weil), sucede aproximadamente en 10% de los casos, por otra parte numerosas infecciones transcurren en forma anictérica.<sup>9,10</sup>

En México la leptospirosis es un padecimiento de notificación obligatoria, por ello la OMS la considera en el Catálogo Internacional de Enfermedades, versión 10 (CIE-10) con la clave A 27 Leptospirosis<sup>11</sup>. En materia de vigilancia epidemiológica, según la Norma Oficial Mexicana NOM-029-SSA2-1999, los gobiernos estatales deben realizar

actividades de prevención y control de la Leptospirosis.<sup>12</sup> Este agente infeccioso, plantea un riesgo potencial para la seguridad en la transfusión sanguínea. A nivel mundial, las zonas de alto riesgo de la enfermedad se concentran en países en desarrollo donde los criterios de selección de hemodonantes son menos estrictos, lo que se justifica la evaluación del riesgo de leptospirosis adquirida por transfusión.<sup>13-15</sup> La seguridad de la sangre se basa en medidas básicas, la educación y el aplazamiento de los donantes con factores de riesgo de enfermedad transmisible, análisis de la sangre, intervenciones de reducción de patógenos y manejo de la sangre del paciente.<sup>16</sup> Se ha notificado un caso de infección en la India por esta vía<sup>17</sup> así como estudios en bancos de sangre de diferentes partes del mundo que destacan y advierten la importancia de los agentes patógenos que no se prueban, especialmente aquellos responsables de infecciones reemergentes y por supuesto las endémicas.<sup>18</sup> Gavaldon *et al;* (1988)<sup>19</sup> encuentra una prevalencia del 7% de seropositividad a anticuerpos antileptospira en donadores de sangre en la ciudad de México, Benavides *et al;* (2006)<sup>20</sup> observan una prevalencia de 13.7% en hemodonadores de la misma Ciudad.

A partir del año 2000 se inicia en México el registro nacional de este padecimiento, el estado de Sinaloa ha permanecido históricamente dentro de los primeros lugares, a nivel nacional, durante el periodo 2000-2010 ocupó el tercer lugar de manera general con los siguientes indicadores: 129 casos, 65 defunciones, 4.68 tasa por 100,000 hbs mortalidad 51.94%.<sup>21</sup> Durante el periodo 2005-2016 se notificaron 297 casos de leptospirosis con 124 defunciones (letalidad del 41.7%), durante 16 años ha ocupado el primer lugar nacional en mortalidad por este padecimiento, el mayor número de casos de la enfermedad se ha registrado en los municipios de Culiacán 177, Mazatlán 45, Ahome 36, Guasave 29, el grupo de edad más afectado corresponde al de 25 a 44 años, por género el 36.7% es femenino y 63.3% masculino.<sup>22</sup> En los donadores de sangre no se realizan pruebas para la detección de anticuerpos para esta bacteria se desconoce su prevalencia, serovariedades así como los factores de riesgo, asociados a ellos por lo cual determinar la seroprevalencia e identificar los factores de riesgo asociados a la infección por *Leptospira interrogans* en donadores

de sangre de hospitales públicos de Sinaloa puede contribuir al control de la enfermedad.

## Material y Métodos

El estudio se realizó en Culiacán, Sinaloa, México que se encuentra ubicado a 24° 48' latitud Norte y 107° 23' longitud Oeste, a una altitud sobre el nivel del mar de 60 metros; el clima de la región se clasifica como semi seco muy cálido BS1(h´) con una temperatura anual promedio de 25.5°C con máximas de 45°C en los meses de julio y agosto, mínimas de 7°C en Diciembre y Enero, con una precipitación pluvial anual de 671.14 mm, con precipitaciones máximas en los meses de julio, agosto y septiembre, y ocupa el segundo lugar en número de eventos meteorológicos (huracanes) que impactan sus costas.<sup>23</sup>

**Población objetivo y criterios de inclusión.**- Donadores de sangre de la ciudad de Culiacán en dos hospitales públicos sin distinción de género ni edad aceptados como donadores conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012.<sup>24</sup> A cada uno de los participantes se le aplicó una encuesta epidemiológica donde se incluyó preguntas relacionadas con los principales factores de riesgo asociados a la enfermedad (Anexo 1).

**Tamaño de la muestra.** Se determinó tomando en consideración una prevalencia de reactividad antileptospira a nivel Nacional de 18% en la población mexicana, de acuerdo a la fórmula para estimación de las proporciones para muestras finitas.<sup>25</sup>

$$n = \frac{N * Z * p * (1 - p)}{d * (N - 1) + Z * p * (1 - p)}$$

Donde

n = tamaño de la muestra

N = población susceptible donadores de sangre promedio anual (6,000)

Z = valor distribución normal estándar (1.96)

d = coeficiente de confiabilidad (0.05)

p= proporción (0.18) <sup>19, 26-30</sup>

Se realizó un muestreo al azar durante un periodo de seis meses (junio-diciembre) en bancos de sangre de dos hospitales públicos, se obtuvieron 247 muestras de donadores de sangre con sus respectivas encuestas epidemiológicas (ANEXO 1) una vez obtenidas las muestras se centrifugaron durante 10 min a 3000 rpm, el suero se mantuvo en ultracongelación a  $-40^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. El estudio de las muestras serológicas se llevó a cabo en el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Veracruz mediante la prueba de MAT. Las muestras de sangre de los donadores fueron obtenidas, previo autorización por medio de consentimiento informado conforme a lo establecido por el comité de Ética e Investigación de los Hospitales (ANEXO 2). Para evidenciar si existe diferencia estadísticamente significativa entre las distintas serovariedades identificadas de leptospirosas, los resultados se analizaron por la prueba de *Ji* cuadrado de *Pearson* para homogeneidad de proporciones considerando un valor estadísticamente significativo de  $P < 0.05$ . Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico Stata intercooled versión 13.1.

## **Resultados**

La prevalencia general, observada en los donantes de sangre seropositivos fue de 3.2%, sin embargo, por unidad hospitalaria la prevalencia fue distinta, en un hospital público, en donde mayormente se atienden adultos, fue de 2.2% y para un hospital pediátrico se observó el 6% de prevalencia. Estos casos seropositivos se localizaron distribuidos en la ciudad de Culiacán con una tendencia marcada hacia el nororiente. Ocho muestras, resultaron seropositivas, dos de éstas, a un serovar (25%) las restantes a dos o más serovares (75%), identificándose; de mayor a menor frecuencia: Canicola (50%), Icterohaemorrhagiae (37%), Pyrogenes (25%), Autumnalis (25%), Pomona (25%), (Figura 1). Los títulos más altos (1:360) se observaron para los serovares Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes (Cuadro I).

El análisis descriptivo de las encuestas aplicadas a los donantes de sangre tiene relación con las principales características epidemiológicas de la transmisión de la Leptospirosis que incluyen variables relacionadas con datos del propietario y sus perros en caso de poseerlos. Las muestras serológicas provienen de 138 colonias y fraccionamientos del municipio de Culiacán divididas en tres estratos, popular 83%, medio 15% y alto 2%, respecto a su ocupación laboral se observó lo siguiente: el 5%

realiza actividades dentro del área de la agricultura y ganadería, el 63% realiza algún tipo de oficio y el 32% es profesionalista, el número de moradores por domicilio en promedio fue 4.3 personas, el 53% de los participantes manifestó ser propietario de perros el 47% no los tiene, el 53% son perros criollos y el 47% de alguna raza, la mayoría posee perros menores de 13 meses (94%), el 70% cuenta con vacuna antirrábica, respecto al sexo de los animales el 64% corresponde a machos. La permanencia de las mascotas indica que el 10% permanece dentro de la casa, patios 32% y en ambos 58%. El 59% de las encuestas revela la presencia de roedores en casas o calles, el 94% de las personas encuestadas refiere la presencia de perros en la calle, la permanencia de las mascotas refiere el 49% esta con pisos de cemento, 30% en tierra y 21% en ambos, en los domicilios se observa al 99% con agua entubada, el 65% maneja tambos o piletas, y el 95% cuentan con drenaje, el número de mascotas encontradas en los domicilios que las tienen, indica que los propietarios tienen en promedio 1.4 perros por domicilio, para el número de gatos, el promedio indica 1.6.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas para la presentación de la infección, en las variables relacionadas con: su estrato socioeconómico, número de habitantes en el domicilio, si poseen perros o no, edad de las mascotas, raza, sexo, si permanecen en la casa en los patios en ambos espacios, tampoco se observaron diferencias significativas relacionadas con la permanencia en la calle y la casa, presencia de roedores, presencia de otros perros en la calle, en los tipos de piso en que permanecen las mascotas (cemento, tierra, ambos), si los domicilios cuentan con agua entubada, tambos, piletas y drenaje. En relación a su ocupación laboral, las personas con algún oficio fueron significativas ( $p < 0.05$ ), (Cuadro 2).

### **Discusión**

Se desconoce el momento en el cual las leptospiras aparecen en torrente sanguíneo, después de la infección, la bacteriemia aguda asintomática previa a la aparición de los primeros síntomas proporciona un potencial para la transmisión por transfusión sanguínea.<sup>5, 31,32</sup>

La alta prevalencia observada (3.2%) y en especial en un hospital pediátrico (6%), puede representar un riesgo mayor en estas instituciones, como consecuencia de su

uso, una sola unidad de sangre puede ser utilizada en varios pacientes. En tropas estadounidenses, desplegadas en ambientes tropicales se determinó una prevalencia en donadores de sangre del (1.4%)<sup>33</sup>, en estudios realizados en Australia se identificó al 1.44% de los hemodonadores seropositivos<sup>34</sup>, en Brasil Ribeiro *et al.* (1977)<sup>31</sup> encuentran 1.01% de positividad en 2368 muestras estudiadas por MAT con títulos a partir de  $\geq 50$ . El significado de los títulos en muestras únicas es un tópico de debate, y en diferentes áreas geográficas, distintos puntos de corte pueden ser utilizados, sin embargo la OMS indica que títulos a partir de 1:100 se pueden considerar positivos. Los Ministerios de Salud de algunos países como Argentina<sup>35</sup> considera que “títulos  $\geq 1:200$  es positivo en primera muestra, o incluso la primera muestra negativa y la segunda positiva, en Perú “Título mayor de 1:100 es muestra positiva. Si el título es de 1:50 se considera positivo cuando en la segunda muestra corrida conjuntamente con la primera hay, un incremento de 4 veces o más”.<sup>36</sup> Mateo *et al.* (1996)<sup>37</sup> informaron un caso de fallecimiento por Leptospirosis icterica encontrando un título de anticuerpos de únicamente de 1:160. En México conforme a los lineamientos para la vigilancia epidemiológica de leptospirosis mediante aglutinación microscópica del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos el título de la primera muestra, para ser considerado positivo debe ser 1:1280 en caso de no alcanzarlo el resultado se informa como indeterminado aún teniendo títulos de hasta de 1:640 a uno o más serovares, el médico tratante en este momento puede perder el diagnóstico acertado, al pensar en otras patologías con cuadros clínicos semejantes, si no cuenta con la experiencia necesaria o si desconoce el procedimiento que sigue la muestra en el laboratorio, la segunda muestra del paciente generalmente se dificulta o bien puede ser demasiado tarde para obtenerla ya que el paciente puede fallecer.

Las ocho muestras seropositivas de los donadores de sangre se localizaron en distintas colonias, las cuales tienen características similares en cuanto a calidad de construcción de la vivienda, vías de acceso, calles sin pavimento con presencia basura en patios y calle, con mal saneamiento básico y con deficiente manejo del agua almacenada, con nivel socioeconómico (bajo), considerados todos estos como factores de riesgo y cuya consecuencia son menores condiciones higiene.<sup>38</sup> Además

del peligro relacionado con los roedores, el reservorio más importante de leptospiras y una fuente de infecciones para otros grupos de animales y para humanos<sup>39</sup> se observó una tendencia de los casos hacia el nororiente de la ciudad de Culiacán en donde se registraron tres casos en colonias contiguas, localizadas cerca del basurero Municipal, en donde se encuentran corrales improvisados frente a la entrada principal, en el cual conviven perros, porcinos, ovinos y caprinos alimentados con desechos orgánicos y que toman agua de las mismas charcas junto con aves carroñeras. La persistencia de la enfermedad en animales silvestres<sup>40</sup> o domésticos es esencial para el mantenimiento de las leptospiras patógenas en la naturaleza.<sup>41</sup>

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las variables evaluadas, relacionadas con la presencia de mascotas en los hogares ni fue determinante la presencia de ellas en los domicilios para el presente estudio. Se observó una  $P < 0.05$  para las personas que tienen como ocupación laboral un oficio, no relacionado con actividades de agricultura o ganadería (Cuadro 2). Sin embargo, la limitante de este hecho es la participación de donadores con residencia en la ciudad, por lo que es necesario investigar más en este aspecto. Para que existan anticuerpos antileptospira los seres humanos tuvieron que haber sufrido una infección ya que en nuestro país no se utilizan vacunas para prevención de la enfermedad.

Los títulos más altos observados en este estudio correspondieron a los encontrados para los serovares Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes, considerados dentro de los más patógenos para el humano.<sup>42,43</sup> En Culiacán Sinaloa, Hernández *et al.* (2017)<sup>44</sup> observaron que los serovares más frecuentes en el perro son Canicola e Icterohaemorrhagiae. En el Municipio de Culiacán se realizan más de 24,000 donaciones de unidades de sangre al año, de acuerdo a la prevalencia general del 3.2%, 758 de ellas pudieran ser seropositivas.

### **Conclusión**

En esta área endémica de leptospirosis en México, se observaron anticuerpos antileptospira en donadores de sangre, se identificaron cinco serovares de *Leptospira interrogans* y factor de riesgo asociado a su ocupación laboral, se observó existe un diagnóstico que puede ser mal interpretado por el área médica, así como una probable transmisión de leptospirosis por vía transfuncional.



## Referencias

- 1 Costa F, Hagan JE, Calcagno J., Kane M., Torgerson P., Martinez-Silveira MS. *et al.* Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis* 2015 9(9): e0003898.doi:10.1371/journal.pntd.0003898
- 2 Socolovschi C, Angelakis E, Renvoisé A, Fournier PE, Marié JL, Davoust B. *et al.*, Stikes, flooding, rats and Leptospirosis in Marseille, France. *Int. J. of Infec. Dis* 2011; 15:e710-5
- 3 Dupouey J, Faucher B, Edouard S, Richet H, Kodjo A., Drancourt M. *et.,al.* Human Leptospirosis: An Emerging Risk. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2014 Mar;37(2):77-83.
- 4 Jobbins SE, Sanderson CE, Alexander KA. *Leptospira Interrogans* at the Human–Wildlife Interface in Northern Botswana: A Newly Identified Public Health Threat. *Zoonoses and Public Health*, 2014; (61), 113–123
- 5 Organización Mundial de la Salud, (OMS). *Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control / Organización Mundial de la Salud.* 2008. Traducción del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa VP/OPS/OMS.
- 6 Dircio MS, González FE, Verdale GM, Soler HE, Rivas SB, Altuzar AV. *et al.*, Leptospirosis prevalence in patients with initial diagnosis of dengue. *J. Trop. Med*; 2012. ID 519701.
- 7 Khosravi M, Bastani B. Acute renal failure due to leptospirosis in a renal transplant patient: a brief review of the literature. *Transplantation proceedings* 2007;39(4):1263-6.
- 8 Gerasymchuk L, Swami A, Carpenter CF., Samarapungavan D, Batke M, Kanhere *et.,al.* Case of fulminant leptospirosis in a renal transplant patient. *Transplant infectious disease. an Official Journal of the Transplantation Society*; 2009: 11(5):454-7
- 9 Barrido EM, Alexanderson E, Halabe CA. Enfermedad de Weil, cinco casos en el Valle de México. *Rev. Invest. Clin. (Méx.)* 1989: 41:253-257.
- 10 García GR, Reyes TA, Basilio HD, Ramírez PM, Rivas SB. Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev. Latinoamer. Patol. Clin.* 2013; 60 (1):57-70.

11. Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud. Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud. 1992 CIE-10
- 12 Norma Oficial Mexicana. NOM-029-SSA2-1999. Para la Vigilancia Epidemiológica, Prevención y Control de la Leptospirosis en el Humano .DOF.
- 13 Faddy H, Seed C, Lau C, Racloz V, Flower R, *et al.* Antibodies to *Leptospira* among blood donors in higher-risk areas of Australia: possible implications for transfusion safety *Blood Transfus* 2015; 13: 32-6
- 14 Zappa A, Amendola A, Romanò L, Zanetti A. Emerging and re-emerging viruses in the era of globalisation. *Blood Transfus* 2009; 7: 167-71.
- 15 Semenza JC, Domanovic D. Blood supply under threat. *Nature Clim. Change* 2013; 3: 432-5.
- 16 Laperche S, Lefrère JJ, Morel P, Pouchol E, Pozzetto B. Blood transfusion: control of infectious risks *Presse Med.* 2015, ;44(2):189-99.
- 17 Nedunchellian S, Venugopalan, A.T. Blood transfusion and leptospirosis. *Indian Vet J* 1997; 74: 790-1.
- 18 Céspedes M. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2005. 22(4).
- 19 Gavaldón D, Cisneros M, Rojas N, Moles-Cervantes L. La importancia de la Leptospirosis humana en México. Detección de anticuerpos antileptospira en una población de donadores de sangre. *Gac Med Mex.* 1988; 131: 289–292
- 20 Benavides L., López E., Torres J. Niveles de anticuerpos antileptospira en la población humana aparentemente sana de la Ciudad de México *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas.* 2006 Volumen 37 (2).
- 21 Sánchez, M. S., Espinosa M. D. V., Ríos M. C. A., Berzunza C. M., Becker I. (2015) Leptospirosis in Mexico. *Epidemiology and Potential Distribution of Human Cases.* *PLoS ONE* 10 (7): e0133720.doi:10.1371/journal.pone.0133720
- 22 Cubo de Defunciones 1979-2017/DGIS/Secretaria de Salud (consultado agosto 2017). Disponible en <http://pda.salud.gob.mx/cubos/cmortalidadxp.html>
- 23 Instituto Nacional de Geografía y Estadística .Información del Estado de Sinaloa. (INEGI) 1999.

- 24 Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos
- 25 Weyne D. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4a edición. México DF: Limusa Willey 2006.
- 26 Higuera, A., Flores F., Ortiz G. Montesano R. 1977. Seroprevalencia de Leptospirosis en Balancan, Tabasco. Abril Memorias, XXII Cong. Inter. Asoc. Mex. Infect. Microbiol. Clin; 17(5); 79.
- 27 Caballero, A., Romero G. 1989. Leptospirosis en zonas Rurales y Urbanas. Rev. de Higiene 38:7-10.
- 28 Colín, O. J. R., Caballero S. A., Alarcón-V. J. A., Pérez, S. J. C., Bernal, V. C., Cuellar, E. A. 1997. Estudios sobre leptospirosis en México (1961-1995). Higiene; 5:142-150.
- 29 De Igartua, L. E., Coutiño R. M., Velásco C. O. 2005. Revisión breve de leptospirosis en México. Altepepaktli Salud para la Comunidad 1: 52-58.
- 30 Caballero, S.A., Romero G. J. 1991. Leptospirosis en México. Premio Canifarma. Ind Farmaceut Vet 1: 107-124.
- 31 Ribeiro, M. A., Cliquet M. G., Santos M. G. S. 1997. Leptospirosis: a problem for transfusion medicine? Serodiagn Immunotherapy Infect Dis 8: 185-9.
- 32 Tulsiani, S. M., Lau C. L., Graham G. C., *et al.*, 2010. Emerging tropical diseases in Australia. Part 1. Leptospirosis. Ann Trop Med Parasitol 104: 543-56.
- 33 Lettieri C, Moon J, Hickey P, Gray M, Berg B, Hospenthal D. Prevalence of leptospira antibodies in U.S. Army blood bank donors in Hawaii. Mil Med. 2004 Sep; 169(9):687-90
- 34 Tulsiani SM, Lau CL, Graham GC, et al. Emerging tropical diseases in Australia. Part 1. Leptospirosis. Ann Trop Med Parasitol 2010; 104: 543-56.
- 35 Guía para el equipo de salud No 9 ISSN 1852-1819 / ISSN 1852-219X (en línea) Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación Av. 9 de Julio 1925 (C1073ABA), Cdad. Autónoma de Bs. As., República Argentina Web: [www.msal.gov.ar](http://www.msal.gov.ar) Impresión: Abril/2014

- 36 Leptospirosis Modulos Tecnicos serie documentos Monograficos No. 2 Lima (2000) Ministerio de Salud Oficina, General de Epidemiologia. Instituto Nacional de Salud,
- 37 Mateo-Balmelli T, Santos-Preciado J, Pérez-Miravete A, Peña-Alonso R. "Leptospirosis icterica (síndrome de Weil) en un niño con linfoma". Bol Med Hosp Infant Mex 1996; 53: 411-414.
- 38 Vinetz, J. M., Glass G. E., Flexne C. E., Mueller P., Kaslow D. C. 1996. Sporadic urban leptospirosis. Ann Intern Med. 125: 794–798.
- 39 Faine, S. 1994. Leptospira and leptospirosis. 1st ed., Boca Raton; CRC Press.
- 40 Stokes, J. E., Kaneene J. B., Schall W. D., Kruger J. M., Miller R., Kaiser L., Bolin C. A. 2007. Prevalence of serum antibodies against six Leptospira serovars in healthy dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 230 (11): 1657-1664.
- 41 Jung, B. Y., Choi J. S., Kim K. T., Song Y. K., Lee S. H., Kim J. Y. *et al.*, 2007. Seroprevalence of Leptospirosis in Korean Municipal Zoo Animals. J. Vet. Med. Sci. 69 (8): 861-863.
- 42 Health, C. W., Alexander A. D., Galton M. Leptospirosis in the United States. N. Engl J Med 1965; 273:857-864
- 43 Romero, V. C., Falconar, A. K. 2016. Leptospira spp. y leptospirosis humana Salud Uninorte, vol. 32, núm. 1, 2016, pp. 123-143
- 44 Hernández, C. V., Gaxiola S.M., Osuna I., Enríquez I., Castro N., López H. S. 2017. Prevalence and risk factors associated with serovars of Leptospira in dogs from Culiacan, Sinaloa Veterinaria Mexico OA 4(2) doi:10.21753/vmoa.4.2.369

## ANEXO 1

### Encuesta epidemiológica

Datos del donador, propietario o responsable de la mascota.

Nombre _____ Fecha _____
Domicilio _____ Telefono _____
Ocupación _____ No. Personas en la vivienda _____
Número de mascotas _____ perros _____ gatos _____ otros _____

Identificación de la mascota

Nombre _____ Edad _____ Raza _____
Sexo M ___ H ___ Vacunas _____

Permanencia de la mascota

Interior de la casa _____ Patios _____ Interior y Patios _____
Calle _____ Calle y Casa _____ Presencia de roedores _____

Pisos.

Cemento _____ Tierra _____ Ambos _____
--

Fuente de abastecimiento de Agua

Entubada _____ Tambos y Piletas _____ Drenaje Si _____ No _____
---

Firma de autorización de datos y toma de muestra

\_\_\_\_\_

### Operacionalización de las Variables.

Sección	Variable	Concepto	Tipo	Operacionalización
Datos del donador	Nombre del donador	Nombre del habitante del domicilio	Cualitativa Nominal	Anotar el nombre del habitante
	Domicilio	Lugar del domicilio	Cualitativa Nominal	Anotar el domicilio
	Ocupación laboral	Actividad diaria	Cualitativa Nominal	Anotar ocupación laboral
	Número de personas que habitan el domicilio	Número de habitantes en el domicilio	Cuantitativa Discreta	Anotar el número de habitantes en el domicilio
Datos de mascotas	Número de mascotas	Número de mascotas en el domicilio	Cuantitativa Discreta	Anotar el número de mascotas
	Número de perros	Número de perros en el domicilio	Cuantitativa Discreta	Anotar el número de perros
	Gatos	Número de gatos en el Domicilio	Cuantitativa Discreta	Anotar el número de gatos
	Número de otros animales	Número de otros animales en el domicilio	Cuantitativa Discreta	Anotar el número y especie animal
Identificación de las mascotas	Nombre del animal	Nombre de la mascota	Cualitativa Nominal	Anotar el nombre de la mascota
	Edad	Periodo de vida medida en meses	Cuantitativa Continua	Anotar la edad
	Raza	Características específicas, fenotípicas de la mascota	Cualitativa Nominal	Anotar la Raza
	Sexo	Características biológicas que diferencian al macho de la hembra	Cualitativa Dicotómica	Anotar Macho Hembra
	Vacunas	Inmunizaciones aplicadas a la mascota	Cualitativa Nominal	Anotar el nombre de la vacuna aplicada

Sección	Variable	Concepto	Tipo	Operacionalización
Permanencia de la mascota	Interior del domicilio	Permanencia de la mascota únicamente dentro de la vivienda	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Patios del domicilio	Permanencia de la mascota únicamente en el patio	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Interior y patios del domicilio	Permanencia de la mascota dentro y fuera del domicilio	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Calle	Permanencia de la mascota en la calle	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Calle y casa	Permanencia de la mascota en el domicilio y en la calle	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Presencia de roedores	Se observan roedores en el domicilio o patios	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
Piso en que permanece la mascota	Cemento	Permanencia de la mascota en pisos de cemento	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Tierra	Permanencia de la mascota en pisos de tierra	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Ambos	Permanencia de la mascota en pisos de cemento y tierra	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No

Sección	Variable	Concepto	Tipo	Operacionalización
Fuente de Abastecimiento de Agua	Entubada	Tipo de fuente abastecimiento de agua en el domicilio	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Tambos y piletas	Presencia de tambos y piletas almacenamiento de agua	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No
	Drenaje	El domicilio cuenta con drenaje	Cualitativa Dicotómica	Anotar Si No



## ANEXO 2

### Consentimiento informado para participantes de investigación

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como, de su papel en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por el MC. Carlos Víctor Hernández Ramírez de la Universidad Autónoma de Sinaloa. El objetivo del estudio es la determinación de seroprevalencia y serovariedades de *Leptospira interrogans*, en donadores de sangre y probable fuente de infección.

Si usted accede a participar en este estudio, se le pedirá responder preguntas en una encuesta, esto tomara aproximadamente 5 minutos de su tiempo y se le realizarán preguntas relacionadas con sus mascotas (perros y gatos).

En caso de que en su muestra de sangre se detecten anticuerpos contra la leptospirosis acudiremos a su domicilio a realizar un estudio mediante una muestra de sangre en sus mascotas para detectar las posibles fuentes de infección hacia usted. A los perros y gatos diagnosticados positivos se les proporcionara tratamiento contra la enfermedad de forma gratuita con la finalidad de evitar posibles transmisiones a otros familiares o vecinos. La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usara para ningún otro propósito fuera de esta investigación.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en el, igualmente puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en alguna forma. Si alguna de las preguntas durante la entrevista le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Acepto participar voluntariamente en esta investigación, conducida por el MC. Carlos Víctor Hernández Ramírez.

He sido informado (a) de que la meta en este estudio es la determinación de seroprevalencia y serovariedades de *Leptospira interrogans*, en donadores de sangre Me han indicado también que tendré que responder preguntas relacionadas con mis mascotas (perros y gatos) y que contestare una encuesta de duración aproximada de 5 minutos.

Reconozco que la información que yo provea en el curso de esta investigación es estrictamente confidencial y que no será usada para ningún otro propósito fuera de los que este estudio, sin mi consentimiento. He sido informado de que puedo hacer preguntas sobre el proyecto en cualquier momento y que puedo retirarme del mismo cuando así lo decida sin que esto acarree perjuicio alguno para mi persona.

De tener preguntas sobre mi participación en este estudio, puedo contactar al MC. Carlos Víctor Hernández Ramírez al teléfono celular \_\_\_\_\_ o al teléfono local \_\_\_\_\_.

Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada y que puedo pedir información de los resultados de este estudio cuando este haya concluido. Para esto, puedo contactar a los teléfonos anteriormente mencionados.

-----

Nombre del participante

-----

Firma del participante

-----

Fecha

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIÓN GENERAL

En donadores de sangre de la ciudad de Culiacán la seroprevalencia de *Leptospira interrogans* fue de 3.2%. Se observaron anticuerpos para cinco serovares: Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Autumnalis y Pomona.

Se asoció un factor de riesgo que fue su ocupación laboral ( $p=0.02$ ).

En los caninos relacionados a estos casos seropositivos, se observaron anticuerpos antileptospira de once serovares de *Leptospira interrogans* que incluyen a las identificadas en los donadores de sangre: Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Autumnalis y Pomona (serovar Autumnalis no se probó en caninos), además, los serovares Wolffi, Bratislava, Australis, Grippotyphosa, Hardjo, Hebdomadis, y Shermani. Se observó que existe una diferencia estadísticamente significativa relacionada con el sexo de los caninos hembras ( $p=0.04$ ; OR=2.9), los perros que permanecen en casa y tienen acceso a la calle fueron marginalmente significativos ( $p=0.06$ ).

Entre seres humanos y caninos se identificaron en esta región en total de 12 serovares.

La alta mortalidad de la enfermedad en Sinaloa la identifica como un importante problema de Salud Pública, promover las condiciones de sanidad en áreas de trabajo, domicilios y la vacunación rutinaria de los perros puede contribuir a la disminución de la morbimortalidad de la enfermedad. Ampliar el tamiz de las enfermedades vigiladas en los bancos de sangre, es recomendable para evitar una probable transmisión de leptospirosis por esta vía, por cierto tema poco investigado.

## CAPÍTULO 6

### LITERATURA CITADA

- Abuauada, M. C., Osorio S. G., Rojas P. M., Pino V. L. 2005. Leptospirosis: Presentación de una infección fulminante y revisión de la literatura. *Rev Chil Infect* 22: 93-97.
- Acosta, H., Moreno C., Viafara D. 1994. Leptospirosis. *Colombia Médica*. 25: 36-42.
- Adesiyun, A. A., Hull-Jackson C., Mootoo N., Halsall S., Bennett R., Clarke N. R., *et al.*, 2006. Sero-epidemiology of canine Leptospirosis in Trinidad: serovars, implications for vaccination and public health. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis Vet. Public Health*. 53 (2):91.
- Adler, B. and Faine S. 1978. The antibodies involved in the human immuneresponse to leptospiral infection. *J. Med. Microbiol*. 11:387-400.
- Adler, B., Chappel R. J., Faine S. 1982. The sensitivities of different inmunoassays for detecting leptospiral antigen. *Zentbl. Bakteriol*. 252:405-413.
- Adler, B. 1986. Development of and improve selective medium for isolation of leptospires from clinical material. *Vet. Microbiol*. 121: 377-381.
- Adler, B., de la Peña A. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology* 140 287–296
- Ahmed, A., Anthony R. M., Hartskeerl R. A. 2010. A simple and rapid molecular method for *Leptospira* species identification *Infection, Genetics and Evolution* 10 955–96
- Alexander, A. D. W. E. Gochenour Jr., K. R., Reinhard M. K., Ward R.H. Yagen. 1970. Leptospirosis. : Bodily, H. L., ed. *Diagnostic Procedures for Bacterial, Mycotic and Parasitic Infections*. 5th Ed. New York: American Public Health Association.
- Alton, G. D., Berke O., Reid-Smith R., Ojkic D., Prescott J.F. 2009. Aumento de la seroprevalencia de leptospirosis y sus factores de riesgo, Ontario 1998-2006. *Can J Vet Res* 73 (3):167-175.
- Allwooda, P., Muñoz-Zanzi C., Chang M., Brown P.D. 2014. Knowledge, perceptions, and environmental risk factors among Jamaican households with a history of Leptospirosis. *J Infect Public Health*. (322); 9
- A. H. D., 2000 *American Heritage Dictionary of the English Language*. Fourth Edition. Bartleby. com.

- Ancha, N. P. and Cifres B. 2001. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y los animales 3rd Ed., OPS/OMS.
- André-Fontaine, G. 2006. Canine leptospirosis – Do we have a problem? *Vet Microbiol.* 117: 19–24.
- Arango, J., Cittadino E., Agostini A., De Mazzonelli G.D., Alvarez C., Colusi M, *et al.* 2001. Prevalencia de leptospirosis en *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Ecología Austral* 11:25-30
- Arias, R., Obregón A., Fernández M. 2002. Taxonomía de las Leptospiras. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias Habana Cuba. Resúmen.
- Aviat, F., B., Blanchard V., Michel B., Blanchet C., Branger J., Hars F., *et al.*, 2009. *Leptospira* exposure in the human environment in France: A survey in feral rodents and in fresh water. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 32; 463–476
- Avendaño, E., Varela G. 1972. Serología de la Leptospirosis en la República Mexicana. *Rev. Invest. Púb. (Méx).* 32:340-343.
- Baranton, G., Postic D., 2006. Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty-six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003. *Int J Infect Dis.* 10: 162–170.
- Barlough, J., N. 1998. *Manual of Small Animal Infectious Diseases.* Ed.Churchil Livigtone.New York.
- Barmettler, R., Schweighauser A., Bigler S., Grooters A. M., Francey T. 2011. Assessment of exposure to *Leptospira* serovars in veterinary staff and dog owners in contact whit infected dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*; 238(2):183-8.
- Barr, S. C., McDonough P. L., Scipioni-Ball R. L., Starr J. K. 2005. Serologic responses of dogs given a comercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar pomona and *Leptospira kirschneri* serovar gripphotyphosa. *Am. J. Vet. Res.* 66(10):1780-4.
- Barrido, E. M., Alexanderson E., Halabe C. A. 1989. Enfermedad de Weil, cinco casos en el Valle de México. *Rev. Invest. Clin. (Méx.)* 41:253-257.
- Basker, P., Pichai K., Gounder K. K. 2014. Study on the prevalence of Leptospirosis among fever cases reported from private clinics in the urban areas of Villupuram district, Tamil Nadu, India. *Osong. Public Health Res. Perspect* 5(1); 54-67
- Benenson, A. S. 1992. *Leptospirosis. Enfermedades transmisibles al hombre.* 15ta Ed., OPS.

- Berlios, A. A., Guillard B., Goarant C., Hem S. 2010. Hospital-based active surveillance of human leptospirosis in Cambodia. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 103(2):111-8.
- Bharti, A .R., Nally J .E., Ricaldi J. N., Matthias M. A., Diaz M. M., Lovett M. A., *et al.*, 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases*.3 (12):757–71. doi:10.1016/s14733099(03)00830-2 PMID:14652202
- Benavides, L., López E., Torres J. 2006. Niveles de anticuerpos antileptospira en la población humana aparentemente sana de la Ciudad de México *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. Volumen 37 (2).
- Bielansky, A and Surujballi O. 1996. Association of *Leptospira borgpetersenii* serovar *harjo* type *harjo* bovis with bovine ova and embryos produced by in vitro fertilization. *Theriogenology*, 46:45-55.
- Bofill, P., Rivas A., Ramírez W., Montañez J., Martínez A., Quincoces T. *et al.*, 1996. *Manual de Enfermedades Infecciosas*. Tomo # 1. Talleres Gráficos de la Dirección de Publicaciones y Materiales Educativos del Instituto Politécnico Nacional, México, 139-187.
- Blood, D. C., Henderson J. A., Radostis O. M. 1983. *Medicina Veterinaria*. Ed. Interamericana, 5ª Edición, Mexico, D.F.
- Borg-Petersen, C. 1949. Experience of leptospirosis in Denmark. From: Discussion of leptospirosis. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 42:714-718.
- Brandao, A. P., Camargo E. D., Da Silva E. D., Silva M. V., Abrao R. V. 1998. Macroscopic agglutination test for diagnostic of human leptospirosis. *J.of Clinical Microbiology* (36):11. 3138-3142.
- Brenner, D. J., Kaufmann A. F., Sulzer K. R., Steigerwalt A. G., Rogers F. C., Weyant R. S. 1999. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new leptospira genomospecies. *Int J Syst Bacteriol.*; 49(2):839-58.
- Brihuega, B. 2008. Leptospirosis: Diagnóstico y tipificación de Leptospiras. En: Cacchione R, Durlach R, Martino P (eds). *Tema de Zoonosis IV*. Buenos Aires, Arg: Asociación Argentina de Zoonosis, 224-227.
- Brod, C. S., Aleixo J. A., Jouglard S. D., Fernández C. P., Teixeiras J. L., Dellagostin O. A. 2005. Canine Leptospirosis *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38(4):294-300.
- Bunnell, J. E., Hice C. L., Watts D. M., Montrueil V., Tesh R. B., Vinetz J. M. 2000. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured

in the Peruvian Amazon basin region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 63 (5,6): 255-258.

Caballero, A., Romero G. 1989. Leptospirosis en zonas Rurales y Urbanas. *Rev. de Higiene* 38:7-10.

Caballero, S. A., Romero G. J. 1991. Leptospirosis en México. Premio Canifarma. *Ind Farmaceut Vet* 1: 107-124.

Caballero, A. 1996. Seropositividad a leptospiras en trabajadores del rastro de la Ciudad de Guadalajara, Jalisco, México. *Memorias. XXII Cong. Inter. Microbiología Clin.* 16(5):86.

Caballero, A. 1997. Leptospirosis canina y su relación con el hombre. *Memorias. XXII Cong. Inter. Asoc. Microbiol. Clin.* 17(5):86.

Caballero, A., Romero J. 1997. Leptospiras. *Manual de Procedimientos de Laboratorio del InDRE.* 8 SS. México.

Cabezas, H., Cabezas O., Bencomo L., Quintana P. 2005. Aislamiento de cepa del complejo patógeno *Bataviae* en paciente vacunado contra *copenhageni*, *canicola* y *mozdok*. *Rev. Cubana Med Trop.* 57(1):73-4

Cann, K. F., Thomas D. Rh., Salmon R. L., Wyn-Jones, A. P., Kay, D. 2013. Extreme water-related weather events and waterborne disease. *Epidemiol. Infect.* 141, 671–686

Calderón, A., Rodríguez V., Máttar 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.

Cárdenas, M. M., Vado S. I., Ortega P. A., Rodríguez B. J., 2003. Prevalencia de leptospirosis canina en el municipio de Mérida Yucatán. *Enfermedades infecciosas y microbiología.* 23:3.

Carvajal, G. V., Murillo O., Campo N., Barrantes B. M. 2010 Anemia hemolítica autoinmune con prueba de Coombs negativa. *RMSS (Internet).* Disponible en: <http://www.Binasss.sa.cr/revistas/rmcc/552/art8.htm>

Carrada-Bravo, T. 2005. Leptospirosis humana. Historia natural, diagnóstico y tratamiento. *Rev. Méx. Patol. Clínica,* 4:246-256.

Castillo, M., Araiza A., Caballero A. 1994. Leptospirosis. Informe de 61 casos en el Valle de México. *Rev. Med. IMSS.* 32: 571-577.

- C D C. 1995. Outbreak of acute febrile illness and pulmonary hemorrhage. Nicaragua. MMWR 44:841-843.
- CENAVE, Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica 1999. ¿Que lo orienta a pensar en Leptospirosis? Memorias del Taller Teórico, Práctico.
- Céspedes, Z. M. 2005. Leptospirosis: Enfermedad zoonótica reemergente. Rev Peru Med Exp Salud Pública 22: 290-307.
- CIE-10. 1992 Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud. Décima Edición vol. 3 OPS. Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud.
- Cinco, M. 2010. New insights into the pathogenicity of leptospire: evasion of host defences. New Microbiologica 33; 283-292, 2010
- Cole, J. R., Sulzer C. R., Pursell A. R. 1973. Improved microtechniques for the leptospiral agglutination test .Applied Microbiology, 25;976-980
- Comisión Nacional del Agua. (CONAGUA) Análisis de las temporadas de huracanes de los años 2009, 2010 y 2011 en México. D F (MX) 2012.
- Costa, F., Hagan J. E., Calcagno J., Kane M., Torgerson P., Martinez-Silveira M. S. *et al.*, 2015. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. PLoS Negl Trop Dis 9(9): e0003898. doi:10.1371/journal.pntd.0003898
- Chamizo, E. 1998. Manual de Patología Veterinaria Especial. Ed. ISCAH. 269-271.
- Chapola, E. G., dos Santos M. G., Bessa T. A., de Oliveira M. L. 2005. Human and canine leptospirosis: serological data of Sao Paulo City, Brazil, 2000 to 2003 .Rev.Cubana Med. Trop. 57(1):61-2
- Cumberland, P., Everard C. O., Wheeler J. G., Levett P.N. 2001. Persistence of anti-leptospiral IgM, IgG and agglutinating antibodies in patients presenting with acute febrile illness in Barbados 1979–1989. European journal of epidemiology. 17(7):601–8. PMID:12086073
- da Silva, E. F., Félix S. R., Cerqueira G. M., Fagundes M. Q., Neto A. C., Grassman A. *et al.*, 2010. Preliminary characterization of *Mus musculus*-derived pathogenic strains of *Leptospira borgpetersenii* serogroup Ballum in a hamster model. Am.J.Trop Med. Hyg. 83(2):336-7.
- Davis, M. A, Evermann J. F., Petersen C. R., VancerSchalie J., Besser T. E., Huckabee J, *et al.*, 2008. Serological survey for antibodies to *Leptospira* in dogs and raccoons in Washington State. Zoonoses Public Health. 55(8):436-42. doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01137.x.



- DGIS Cubo de Defunciones 1979-2017/DGIS/Secretaria de Salud (consultado agosto 2017). Disponible en <http://pda.salud.gob.mx/cubos/cmortalidadxp.html>
- Dias, J. P., Teixeira M. G., Costa M. C., Mendes C. M., Guimaraes P., Reis M. G. 2007. Factores asociados a *Leptospira* sp. Infeccion en un gran centro urbano en el noroeste de Brasil. *Rev.Soc.Bras. Med. Trop.* 40 (5) :499-504.
- Dikken, H., Kmety E. (1978). Serological typing methods of leptospires. *Methods Microbiol* 11; 260–295
- Dircio, M. S., González F.E., Verdale G. M., Soler H. E., Rivas S. B., Altuzar A. V. *et al.*, 2012. Leptospirosis prevalence in patients with initial diagnosis of dengue. *J. Trop. Med*; Article ID 519701.
- Dirk, U. P. 2002 *Veterinary Epidemiology An Introduction*. Epidemiology Division Departament of Veterinary Clinical Scienses, the Royal Veterinary College, University of London.September.
- Dolhnikof, M., Mauad T., Bethlem E. P., Ribeiro C. R. 2007. Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis. *Bras J Infect Dis* 11: 142-148.
- Dong H, Hu Y., Xue F, Sun D., Oicius D. M., Mao Y. *et al.* 2008. Characterization of the *ompL1* gene of pathogenic *Leptospira* species in China and cross-immunogenicity of the *OmpL1* protein. *BMC Microbiol* 8: 223-234.
- Duque, B. M., Moreno M. J., Gómez D. 1988. Leptospirosis en Edad Pediátrica. *Infectología Práctica*, México D.F.
- Dupouey, J., Faucher B., Edouard S., Richet H., Kodjo A., Drancourt M. *et al.*, 2014, Human Leptospirosis: An Emerging Risk. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 37(2):77-83. doi: 10.1016/j.cimid.2013.12.002. Epub 2013 Dec 1
- Ellis, W. A. 1986. The diagnosis of leptospirosis in farm animals. In: Ellis W. A., Litle T. W. A. Present state of leptospirosis diagnosis and control. *Martinus Nijhoff Publishers*, 13-31.
- Ellis, W. A. 1994. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North. Am., Food Anim. Pract.* 10:463-478.
- Ellis, W. A. 1996. Leptospirosis. *OIE Manual.Amedment* 1: 1-8.
- Erosa, B. G. 2001. Leptospirosis. *Rev Biomed* 12: 282287.
- Evangelista, K. V., Coburn J. 2010. *Leptospira* as an emerging pathogen a review of its biology, pathogenesis and host immune responses *N H Public Access. Future Microbiol*; 5(9): 1413-1425.

- Faddy, H., Seed C., Lau C., Racloz V., Flower R. *et al.* 2015. Antibodies to *Leptospira* among blood donors in higher-risk areas of Australia: possible implications for transfusion safety *Blood Transfus* 13: 32-6
- Faine, S. 1982. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization. (Offset Publication 67).
- Faine, S. 1991. Leptospirosis. En: Evans, A. S., P. S. Brachman, eds. *Bacterial Infections of Humans*. 2nd ed. New York: Plenum Medical Book. .
- Faine, S. 1994. *Leptospira and leptospirosis*. 1st ed., Boca Raton; CRC Press.
- Faine, S., Adler B., Bolin C., Perolat P. 1999. *Leptospira and leptospirosis*, 2nd ed. Med. Sci. Melbourne, Australia.
- Fernández, C., Obregón A., Rodríguez G. 2002. Nuevas Tecnologías desarrolladas e incorporadas en el diagnóstico de la leptospirosis humana en Cuba. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias Habana Cuba. Resumen.
- Flisser A, Velasco V. A., Martínez C. C., González D. F., Briseño G. B., García S. R. *et al.*, 2002. Infectious Diseases in Mexico. A Survey from 1995–2000 *Archives of Medical Research* 33 343–350.
- Flores, C. R., Solana M. P. 1992. Problemática de la Vacunación contra la Leptospirosis Canina. *Memorias del XXII Congreso Nacional de AMVEPE Mayo 20-23, Acapulco Gro.* p. 56 63.
- Franco, P. C., Jacob, J. T., Hidron A., Rodriguez M. A., Kuhar D., Caliendo A. M. 2010. Transplantation and tropical infectious diseases. *Int. Jour. of Infec. Diseases* (14) 3;189-196.
- García, S .C., Ibarra Z. S. 1992. Estudio serológico de Leptospirosis canina en la ciudad de Toluca. Tesis de Licenciatura, Fac. Med, Vet, y Zoot. Universidad Nacional Autónoma del Estado de México, Toluca México.
- García, G. R., Reyes T. A., Basilio H. D., Ramírez P. M., Rivas S. B. 2013. Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev. Latinoamer. Patol. Clin.* 60 (1):57-70.
- García, P. R. 2009. *Leptospirosis humana*. La Habana: Editorial Científico Técnica;
- Gautam, R., Wu C.C., Guptill L. F., Potter A., Moore G. E. 2010. Detection of antibodies against *Leptospira* serovars via microscopic agglutination tests in dogs in the United States, 2000-2007. *J. Am. Vet.Med. Asosc.* 1; 237(3):293-8.

- Gavaldón, D. G., Cisneros M. A., Rojas N., Moles C. L. P. 1995. La importancia de la leptospirosis humana en México. Detección de anticuerpos antileptospira en una población de donadores de sangre. *Gaceta. Med. Méx.*; 131:289-292.
- Geinsen, V., Stengel C., Brem S., Müller W., Greene C., Hertmann K. 2007. Canine leptospirosis infections – clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). *J. Small Anim. Pract.* 48(6):324-8.
- Gerasymchuk, L., Swami A., Carpenter C. F., Samarapungavan D., Batke M., Kanhere *et al.*, 2009. Case of fulminant leptospirosis in a renal transplant patient. *Transplant infectious disease. an Official Journal of the Transplantation Society.* 11(5):454-7.
- Gillespie, J., Timoney J. H., Timoney J. F.; Jagan y Bruner. 1981. *Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos.* Ed. La Prensa Médica Mexicana 4<sup>a</sup>. Ed. México.
- Ginebra, G. A. 2001. Microorganismos Espirales. En: Llop H. Alina, Valdés-Dapena V. M., Zuazo, S.J. *Microbiología y Parasitología Médicas Tomo 1.* Ed. Ciencia Médica Cd. de La Habana. 37:388-415.
- Goldstein, R. E., Lin R. C., Langston C. E., Scrivani P. V., Erb H. N., Barr S.C. 2006. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. *J Vet. Intern. Med.* 20(3):489-94.
- González, J., Tamayo S., Machado A. 1990. Centro de Información y Documentación Agropecuaria. La Habana, Cuba.
- González, G. J. A., 1989. Leptospirosis. Monografía. Univ. Central de las Villas, Cuba.
- González, M., Batista N., Machado M., Savournin O., Saltrén A., Sanamé A. *et al.*, 2004. *Biotecnología Aplicada* 21:77-81.
- Greenlee, J. J. 2002. The diagnosis and description of experimental leptospirosis in dogs. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias Habana Cuba. *Memorias.*
- Greenlee, J. J., Alt D. P., Bolin C. A., Zuerner R. L., Andreasen C. B. 2005. Experimental canine leptospirosis caused by *Leptospira interrogans* serovars pomona and bratislava. *Am.J.Vet Res.* 66(10):1816-22.
- Gautam, R., Wu C.C., Guptill L. F., Potter A., Moore G. E. 2010. Detection of antibodies against *Leptospira* serovars via microscopic agglutination tests in dogs in the United States, 2000-2007. *J. Am. Vet.Med. Asoc.* 1;237(3):293-8.

- Gualtieri, C. A., Carlín C., Peralta L., Peirone C., Gattarello V., Marc L. *et al.*, 2012. Evaluación clínica, bioquímica y hematológica de Caninos seropositivos a distintos serovares de *Leptospira interrogans*. In. Vet. 14(2): 131-139
- Guía para el equipo de salud No 9 ISSN 1852-1819 / ISSN 1852-219X (en línea)  
Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación Av. 9 de Julio 1925 (C1073ABA), Cdad. Autónoma de Bs. As., República Argentina Web: [www.msal.gov.ar](http://www.msal.gov.ar) Impresión: Abril/2014
- Hadad, E., Pirogovsky A., Bartal C., Gilad J., Barnea A., Yitzhaki S. *et al.*, 2007. Outbreak of leptospirosis among Israeli troops near the Jordan River. Am. J. Trop. Med. Hyg. 74 (1) 127-131.
- Haake, D. A., and Levett P. N. 2015. Leptospirosis in Humans. Curr Top Microbiol Immunol. 387: 65–97. doi:10.1007/978-3-662-45059-8\_5
- Hanson, L. E. 1976. The Biology of Parasitic Spirochetes. Editor Johnson Russell C. Ed. Academic Press. New York.
- Hartman, E. G. 1986. Detection of leptospiral antibodies by the solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. In: The present state of leptospirosis diagnosis and control. Ellis W. A., Little T. W. A. Martinus Nijhoff Publishers.
- Health, C. W., Alexander A. D., Galton M. Leptospirosis in the United States. N. Engl J Med 1965; 273:857-864
- Heinemann, M. B., García J. F., Monjas C. M., Las Gregori F., Higa Z. M., Vasconcellos *et al.*, 2000. La detección y diferenciación de *Leptospira* sp. en la esperma vacuna por reacción en cadena polimerasa y la restricción fragmentada. Microbiol. Vet. 73(4): 261-267.
- Hernández, N. J., Hernández M. A., Tello C.V. 2009. Seroprevalencia de leptospirosis en perros callejeros y personas de alto riesgo ocupacional en la ciudad de Tunja. Rev. Teoría y Praxis Investigativa (4): 1.
- Hernández, C. V., Gaxiola S. M., Osuna I., Enríquez I., Castro N., López H. S. 2017. Prevalence and risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs from Culiacan, Sinaloa Veterinaria Mexico OA 4(2) doi:10.21753/vmoa.4.2.369
- Herrera, B. 2002. Guía de control y manejo de leptospirosis. OPS/HCP/HCV/URU. ZOO. 27-34.
- Heymann, D. L. 2005. El control de las enfermedades transmisibles. 18ava Ed. OPS.
- Hutyra, F., Marek J., Manninger R., Mocsy J. 1968. Patología y Terapéutica Especiales de los Animales domésticos. Tomo 1. Ed. Labor (Barcelona), 309-314.

- Higuera, A., Flores F., Ortiz G. Montesano R. 1977. Seroprevalencia de Leptospirosis en Balancan, Tabasco. Abril Memorias, XXII Cong. Inter. Asoc. Mex. Infect. Microbiol. Clin; 17(5); 79.
- Himsworth, C. G., Jardine C. M., Parsons K. L., Feng A. Y., Patrick D. M. 2014. The characteristics of wild rat (*Rattus* spp.) populations from an Inner-city neighborhood with a focus on factors critical to the understanding of rat-associated zoonoses. Plos One Volume 9 | Issue 3 | e91654.
- Hirsh, D. C., MacLachlan N. J., Walker R. L. 2004. Veterinary Microbiology. 2 Ed. Blackwell Publishing Professional 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014 USA; 148-152.
- Hutyra, F., Marek J., Maninger R., Mocsy J. 1973. Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. 3a Ed. Edit. Labor, S. A, 1,308-312.
- INDRE “Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica de Leptospirosis mediante Aglutinación Microscópica” version No.01 INDRE 2015 (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”).
- INEGI. 1999 .Instituto Nacional de Geografía y Estadística .Información del Estado de Sinaloa.
- Jansen, A., Schoneberg I., Frank C., Alpers K., Schnaider T., Stark K. 2005. Leptospirosis in Germany, 1962-2003. Emerg. Infec. Dis. Jul; 11(7):1048-54.
- Jiménez, C. M., Ortega P. A., Guzmán M. E., Guiris A. D., Martínez F. L., Acosta V. K. 2009. Stray Dogs as Reservoirs of the Zoonotic Agents *Leptospira interrogans*, *Trypanosoma cruzi*, and *Aspergillus* spp. in an Urban Area of Chiapas in Southern Mexico. Vector Borne Zoonotic Disc. Jun. 10
- Jobbins, S. E., Sanderson C. E., Alexander K. A. 2014. *Leptospira Interrogans* at the Human–Wildlife Interface in Northern Botswana: A Newly Identified Public Health Threat. Zoonoses and Public Health, (61), 113–123
- Johnson, R. C., Faine S. 1984 a. *Leptospira*, 62-67. En: N. R. Krieg, and J. G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Jubb, K. V., Kennedy P. C. 1973. Patología de los animales domésticos. Ed. Cienc. y Tec., 1, 367 .(Instituto Cubano del libro).
- Jung, B. Y., Choi J. S., Kim K. T., Song Y. K., Lee S. H., Kim J. Y. *et al.*, 2007. Seroprevalence of Leptospirosis in Korean Municipal Zoo Animals. J. Vet. Med. Sci. 69 (8): 861-863.

- Katari, S., Narreddy S., Varma M., Shrimal A., Barigala, R. K., Balasubramaniam *et al.*, 2016. *International Journal of Infectious Diseases* 45S:1–477
- Khosravi, M., Bastani B. 2007. Acute renal failure due to leptospirosis in a renal transplant recipient: a brief review of the literatura. *Transplantation proceedings*. 39(4):1263-6.
- Kikuti, M., Langoni H., Nóbrega D. N., Correa A .P., Ullman L. S. 2012. Ocurrencia y factores de riesgo asociados con la leptospirosis canina. *J. Venom. Anim.Trop.* (18):1.
- Kim, M. J. 2013. Leptospirosis in the Republic of Korea: Historical Perspectives, Current Status and Future Challenges. *Infect Chemother* 45(2):137-144.
- Kmety, E., Dikken H. 1993. Clasification of the species of *Leptospira interrogans* and history of its serovars. University Press Groningen. Groningen The Neatherlands.
- Ko AI, Goarant C, Picardeau. 2009. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* 7: 736-747.
- Kositanont, U. P., Naigowit U., Imvithaya C., Singchai P., Puthavathana. 2003. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in rodents and shrews trapped in low and high endemic areas in Thailand. *J Med Assoc Thai.* 86(2):136-142
- Koteeswaran, A. 2006. Seroprevalence of Leptospirosis in man and animals in Tamil Nadu. *Indian Journal of Medical Microbiology* (24): 4. 329-330.
- Kupek, E., de Sousa Santos Faversoni M. C., de Souza Philippi J. M. 2000. The relationship between rainfall and human leptospirosis in Florianópolis, Brazil, 1991–1996. *Braz J Infect Dis.* Jun; 4(3):131–134.
- Laperche, S., Lefrère J. J., Morel P., Pouchol E., Pozzetto B. 2015. Blood transfusion: control of infectious risks *Presse Med.* 44(2):189-99.
- Lettieri, C., Moon J., Hickey P., Gray M., Berg B., Hospenthal D. 2004. Prevalence of leptospira antibodies in U.S. Army blood bank donors in Hawaii. *Mil Med.* Sep; 169(9):687-90
- Leptospirosis Modulos Tecnicos serie documentos Monograficos No. 2 Lima (2000) Ministerio de Salud Oficina, General de Epidemiologia. Instituto Nacional de Salud,
- Levett, P. N. 2001. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14(2):296-326.
- Low, D. G. 1981. Leptospirosis canina en: *Terapéutica Veterinaria* 3ª edición, Ed. Continental, México.

- Luna, A. M. A. 1993. Frecuencia serológica de Leptospirosis canina en el Municipio de Naucalpan de Juárez, Estado de México. Tesis de Licenciatura Fac. Med. Vet. Y Zoot. UNAM. México D.F.
- Luna, A. M. A. 1997. Aspectos clínicos reportados en leptospirosis canina. Primer Seminario Taller Nacional sobre el diagnóstico y control de la leptospirosis. Universidad Metropolitana Xochimilco. 23-25 julio.
- Luna, A. M. A., Moles C. L. P., Torres B. J. I. 1996 (a). Leptospirosis un problema importante en perros. CENID-Microbiología INIFAP, SAGAR, DPA, UAM Xochimilco desplegable técnico No 10.
- Luna, A. M. A., Moles C. L. P., Urrutia V. R. M., Torres B. J. 1996 (b). Elaboración de una bacteria eficaz a partir de una cepa aislada en México de *L. interrogans* serogrupo canicola serovariedad Pórtland-vere origen canideo. Memorias, 1994-1995, Premio CANIFARMA industria Farmacéutica Veterinaria vol. 3 No. 3 p. 42.
- Luna, A. M. A., Moles C. L. P., Urrutia V. R. M., Torres B. J. 1997. Diferencia en la prueba de aglutinación microscópica para el diagnóstico de leptospirosis empleando dos serovariedades del mismo serogrupo. Memorias XXVIII Congreso Nacional de Microbiología.136. Culiacán, Sinaloa México.
- Luna, A. M. A., Moles C .L. P., Banda R. V. M, Torres B. J. 1993. Primer reporte del aislamiento de *L. interrogans* serovariedad *L. portland-vere* en México. En memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Guadalajara, Jal.
- Luna, A. M. A., Moles C .L. P., Gavaldón R. D., Nava V. C., Salazar G. F. 2005. Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México, considerando las regiones ecológicas. Rev. Cubana Med. Tropical 51 (1).
- Luna, A. M. A., Moles C .L. P., Gavaldón R. D., Nava V. C., Salazar G. F. 2008. La leptospirosis canina y su problemática en México. Rev. Salud Anim. 30 (1):1-11
- Martin, L., Pettit A. 1918. Sero-diagnostic de la spirochaetose icterohaemorrhagique. Bulletin et Mémoires de la Société Médicale des Hopitaux de Paris, 42:972-675.
- Martinelli, R. M., Luna A., Rocha H. 1994. Is rhabdonyolisis an additional factor in the patogénesis of acute renal failure in leptospirosis? Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 36 (2):p.111-14.
- Mateo B. T., Santos P. J., Pérez M A., Peña-Alonso R. 1996. "Leptospirosis icterica (síndrome de Weil) en un niño con linfoma". Bol Med Hosp Infant Mex 53: 411-414

- Meeyam, T., Tablerk P., Petchanok B., Pichpol D., Padungtod P. 2006. Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in dogs. *Southeast Asian J Trop. Med Public Health* 37(1):148-53.
- Merchant, I. A., Packe R. A., 1975. *Bacteriología y Virología Veterinarias*. 3ª edición, Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- Michin, N. A., Asinov S. A. 1935. Spieochaetal jaundice of cattle in North Caucasus. *Sov. Med.*10: 23-27.
- Michna, S. W. 1970. Leptospirosis. *Vet. Rec.* (86) 484-496.
- Min, Ja Kim. 2013. Leptospirosis in the Republic of Korea: Historical Perspectives, Current Status and Future Challenges. *Infect. Chemother* 45(2):137-144
- Minke, J. M., Bey R., Tronel J. P., Latour S., Colombet G., Yvorel J. *et al.*, 2009. Onset and duration of protective immunity against clinical disease and renal carriage in dogs provided by a bi-valent inactivated leptospirosis vaccine. *Vet. Microbiol.* 137(1-2):137-145.
- Millán, J., Candela M. G., López-Bao J. V., Pereira M., Jiménez M. A., León V. L. 2008. Leptospirosis in wild and domestic carnivores in natural areas in Andalusia Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis.* Oct 30.
- Moles, C. L .P. y Torres B. J. 2000. Frecuencia de *Leptospira interrogans* en ganado bovino de la región de la Frailesca, comprendiendo cuatro municipios del estado de Chiapas México. *Memorias del congreso Nacional de Buiatria* pp.141.
- Moles, C .L. P., Salomón S. A., Munguía A. R. 1990. Estudio serológico para detectar anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en perros de la ciudad de México. *Memorias del XXI Congreso Nacional de Microbiología*. Villahermosa Tabasco.39
- Monahan, A. M., Miller I. S., Nally J. E. 2009. Leptospirosis risks during recreational activities. *J Appl Microbiol* 2009 Mar 3.
- Muñoz, M. E. 1999. Leptospirosis: revisión bibliográfica y análisis de la enfermedad en Costa Rica. Tesis de licenciatura. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. Costa Rica.
- Murray, P. R., Rosenthal, K.S., Pfaller, A. 2009. *Microbiología Médica* 6ª Ed. Elsevier Mosby 416-419.
- Musso, D. L. S. B. 2013 Laboratory diagnosis of leptospirosis. A challenge. *Journal of Microbiology Immunology and Infection* =Wei mian yu gan ran za zhi.46(4):245–52. doi:10.1016/j.jmii.2013.03.001 PMID:23639380.



- Myers, D. M. 1985. Leptospirosis manual of laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis. Pan. Am. Health Org. 30: 5-36.
- Narita, M., Fujitani S., Haake D. A., Paterson D. L. 2005. Leptospirosis after recreational exposure to water in the Yaeyama Islands, Japan. Am. J. Trop. Med. Hyg. 73 (4):652-656.
- Nascimento, A. L., Ko AI, Martins E. A., MonteiroVitorello C.B., Ho P. L., Haake D. A, *et al.* 2004. Comparative genomics of two *Leptospira interrogans* serovars reveals novel insights into physiology and pathogenesis. J Bacteriol 186(7): 2164-2172.
- Navarrete, J., Acevedo J., Huerta E., Torres J., Gavaldón D.G. 2006. Prevalencia de anticuerpos contra dengue y *Leptospira* en la población de Jáltipan, Veracruz. Sal Pub Mex 48: 220-228.
- Nedunchellian, S., Venugopalan A.T. 1997. Blood transfusion and leptospirosis. Indian Vet J 74: 790-1.
- Nelson, R. W., Couto C. G. 2003 Small Animal Medicine, 3rd Ed. Mosby, St. Louis, MO
- Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos
- Norma Oficial Mexicana. NOM-029-SSA2-1999 Para la Vigilancia Epidemiológica, Prevención y Control de la Leptospirosis en el Humano.
- Noguchi, H., Kligler J. 1920 (a). Experimental studies on yellow fever occurring in Merida. Yucatán. J Exp Med 32: 601-625.
- Noguchi, H., Kligler J. 1920 (b). Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated from a case of yellow fever in Merida, Yucatán. J Exp Med 32: 627-637.
- Noor, R. A., Rafizah B. D., Aziah Y. N., Azwany M., Kamarul I. M., Mohamed R. A. *et al.*, 2013. A Hospital-Based Study on Seroprevalence of Leptospirosis among Febrile Cases in Northeastern Malaysia. Inter. J. Infec. Diseases (17) 394–397.
- Organización Mundial de la Salud, 2001. El control de las enfermedades Transmisibles. Decimoséptimo edición. Publicación Científica y Técnica num. 581. OPS.
- Organización Mundial de la Salud e International Leptospirosis Society. Organización Panamericana de la Salud, Leptospirosis humana: Guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Serie de Manuales Técnicos, 12. VP/OPS/OMS, 2008. Disponible en: [www.paho.org/hq/dndocuments/WHO-Guia-Lepto-2003-spa.pdf](http://www.paho.org/hq/dndocuments/WHO-Guia-Lepto-2003-spa.pdf)

- O P S., Organización Panamericana de la Salud. 2003. Ed. Organización Panamericana de la Salud.
- Ortega, P. A., Colín F. R. F., Gutiérrez B. E., Jiménez C. M. 2008. Frequency and type of renal lesions in dogs naturally infected with leptospira species. *Ann N.Y. Acad. Sci* 1149: 270-4.
- Perdomo, E., Garin A. 2002. Leptospirosis animal. Guía de Control y Manejo de Leptospirosis. OPS/ HCP/ HCV/URU.ZOO.24-26.
- Perolat, P. F., Grimont F. R. 1990. rRNA gene restriction patterns of *Leptospira*: a molecular typing system. *Res Microbiol* 141:159–171.
- Pfeiffer, D. U. *Veterinary epidemiology an introduction*. London (GB): University of London; 2002.
- Pita, F. S., Pertegas D S., Valdez C. F. 2004. Medidas de frecuencia de enfermedad. Unidad de Epidemiología y Bioestadística. Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo. Coruña España. *pidemiologia Clinica*
- Postic, D., Merien, F., Perolat, P., Baranton, G. 2000. *Diagnostic biologique leptospirose – borréliose de Lyme/Biological diagnosis leptospirosis- lyme borreliosis*, 2nd ed. Paris, collection des Laboratoires de Référence et d'Expertise. Institut Pasteur á Paris, 177-186.
- Prescott, J. F. 1993. Leptospirosis, In: Jubb K.V.F., Kennedy P. C., Palmer N. *Patology of domestic animals*. Academic Press, Inc, 4th edition. 503-511.
- Quinn, P. B. K., Markey M. E., Carter W. J., Donnelly F.C., Leonard. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. First edition. Blackwell Science Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK (Pág. 175-179, Cap 31.)
- Radostits, O. M., Leslie K. E., Fetrow J. 1994. *Herd Healt. Food Animal Production Medicine*. Ed. W. B. Saunders Company, USA 2nd. Ed.
- Ren, S. X., Fu G., Jiang X. G., Zeng R., Miao Y. G., Xu H., *et al.* 2003. Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 422(6934): 888-93.
- Ribeiro, M. A., Cliquet M. G., Santos M. G. S. 1997. Leptospirosis: a problem for transfusion medicine? *Serodiagn Immunotherapy Infect Dis* 8: 185-9.
- Rivera, F., Peña M. A., Roa R. M., Ordóñez B. M. 1999. Seroprevalencia de Leptospirosis en perros callejeros del norte de la Ciudad de México *Vet. Mex.* 30 (1).

- Rodriguez, M. J., Blais C., Lapointe C., Arsenault J., Carioto L., Harel J. 2014. Serologic and urinary Pcr survey of Leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. *J Vet Intern Med* 28:284–293.
- Rodriguez, C. A., Recalde D. P., Gonzales M. M., Padilla L., Gallego J. C. *et al.*, 2016 Manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio de una serie de casos febriles agudos con diagnostico presuntivo por el virus dengue. Quindío Colombia. *Infectio* 20(2): 84-92.
- Rodríguez, I., Rodríguez J. E., Fernández C. 2005. Alcalinización de la orina humana para el aislamiento experimental de Leptospiras. *Rev Cubana Med Trop* 57: 55-56.
- Romero, V. C., Falconar, A. K. 2016. *Leptospira* spp. y leptospirosis humana *Salud Uninorte*, vol. 32, núm. 1, 2016, pp. 123-143
- Romero, V. C., Cuello P. M., Agudelo F. P., Thiry D., Levett P. N., Falconar A. K. I. 2013. Cross-Sectional Study of *Leptospira* Seroprevalence in Humans, Rats, Mice, and Dogs in a Main Tropical Sea-Port City. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 88(1), 2013, pp. 178–183
- Rothman, K. J. 1987. *Epidemiología Moderna*. Edit. Díaz Santos.
- Rothman, K. J., Greenland S. 1998. *Modern Epidemiology*. 2a Ed. Lipincott-Raven.
- Sánchez, M. S., Espinosa M. D. V., Ríos M. C. A., Berzunza C. M., Becker I. (2015) Leptospirosis in Mexico. Epidemiology and Potential Distribution of Human Cases. *PLoS ONE*10(7): e0133720.doi:10.1371/journal.pone.0133720
- Schüffner, W., Mochtar A. 1926. Experiments on the differential characters of *Leptospira*-strains with introductory remarks on the process of agglutination and lysis. *Proceedings of the Imperial Academy of sciences, Amsterdam*, 30 (1): 25-32.
- SSA Secretaria de Salud.2012. *Manual de Procedimientos Estandarizados para la Viilancia Epidemiologica de la Leptospirosis*.
- Semenza, J. C., Domanovic D. 2013. Blood supply under threat. *Nature Clim. Change* 3: 432-5.
- Sepúlveda, M. A., Dimas J. S., Preciado R. F. J. 2002. La rata y el perro importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco. *Rev. Cubana Med. Trop.* 54 (1): 21-23.
- Shekatkar, S.B., Harish B. N., Menezes G. A., Parija S. C. 2010. Clinical and serological evaluation of Leptospirosis in Puducherry, India. *J- Infect.Dev. Ctries.* 29;4 (3):139-43.

- Socolovschi, C. E., Angelakis A., Renvoisé P., Fournier J. L., Marié B., Davoust A. *et al.*, 2011. Strikes, flooding, rats, and leptospirosis in Marseille, France. *International Journal of Infectious Diseases* 15 (2011) e710–e715
- Solano, C. A., Boza C. R., Saenz B. E. 1996. Leptospirosis en humanos. . *Rev Cost de Ciencias Médicas*. 17(2):41-60.
- Songer, J., Post K. W. 2005. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*. 1 Ed. Elsevier Saunders. 11830 Westline Industrial Drive, St. Louis, Missouri 63146 (Pág. 244-250. Cap 31.)
- Songer, J. G., Thiermann A. B. 1988. Leptospirosis. Zoonosis update. *J Am Vet Med Assoc* 193:1250–1254.
- Spinu, I. V., Topcin., Trinh Thi Hang Quy., Vo Van Hung., Mnguyen Sy Quoe., Chu Xnan Long. 1963. L'homme comme réservoir de virus dans une épidémie de leptospire survenue dans la jungle. *Arch Roum Path Exp* 22:1081–1100.
- Srivastava, S. K., Chaudhuri P., Thangapandian E., Mariya R., Amutha R. 2006. Evaluation of recombinant *Leptospira interrogans* serovar *canicola* outer membrane proteins as diagnostic antigen. *Indian Journal of Medical Microbiology* 24 (4): 346-348.
- Stokes, J. E., Kaneene J. B., Schall W. D., Kruger J. M., Miller R., Kaiser L., Bolin C. A. 2007. Prevalence of serum antibodies against six *Leptospira* serovars in healthy dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230 (11): 1657-1664.
- Suárez, M., Bustelo J. 1986. Leptospirosis en humanos. Prevalencia serológica en dos grupos diferentes en la provincia de Formosa. *Rev. Arg. Microbiol.* 18: 75-78.
- Sugunan, A. P., Natarajaseenivasan K., Vijayachari P., Sehgal S. C. 2004. Percutaneous exposure resulting in laboratory-acquired leptospirosis a case report. *Journal of medical microbiology*. 53(Pt12):1259–62. doi:10.1099/jmm.0.45735–0PMID:15585507.
- Stallman, N. D. 1987. International committee on systematic bacteriology subcommittee on the taxonomy of *Leptospira*. Minutes of the meeting, 5 and 6 September 1986, Manchester, England. *Int J Syst Bacteriol* 37, 472–473.
- Sullivan, N. D. 1974. Leptospirosis in animals and man. *Aus. Vet. J.* 50:216-223.
- Swain, R. H. A. 1957. The electron-microscopical anatomy of *Leptospira canicola*. *J. Pathol. Bacteriol.* 73:155-158.
- Taucher, E. 1999. *Bioestadística*. 2a Ed. Editorial Universitaria.

- Terpstra, W. J. 2006. Historical perspectives in leptospirosis. *Indian J Med Microbiol* 24: 316-320
- Thiermann, A. B., Handsaker A. L. 1985. Experimental infection of calves with *Leptospira interrogans* serovar harjo: conjunctival versus intravenous route of exposure. *Am. J. Vet. Res.* 46:329-331.
- Tian, Y.C., Jung C.C., Ly I.J., Chen Y.C., Chang M.Y., Yen T. H. *et al.*, 2011 *Leptospira santarosai* serovar shermani detergent extract induces an increase in fibronectin production through a Toll-like receptor 2-mediated pathway. *Infection and Immunity* 79 (3).
- Timoney, J. F., Gillespie J. H., Scott F. W., Barlough J. E. 1988. The Spirochetes, in: Hagan & Bruner's *Microbiology and infectious diseases of domestic animals*. Comstock Publishing Associates, Ithaca, USA, 8th edition 45-57.
- Torres, C. M., Hernández B. S., Agudelo F. P., Arroyave S. E., Zavala C. J. *et al.*, 2016. Revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2016;54(5):620-5
- Trueba, G., Zapata S., Madrid K., Cukken O., Haake D. 2004. Cell aggregation a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. *Int Microbiol* 7: 35-40.
- Tulsiani, S. M., Lau C. L., Graham G. C., *et al.*, 2010. Emerging tropical diseases in Australia. Part 1. Leptospirosis. *Ann Trop Med Parasitol* 104: 543-56.
- Vanasco, N. M. F., Schmeling J., Lottersberger F., Costa A. I., Ko, H. D. Tarabla. 2008. Clinical characteristics and risk factors of human leptospirosis in Argentina (1999–2005). *Acta Tropica* 107 (2008) 255–258
- Van de Maele, I., Olaus A., Haesebrouck F., Daminet S. 2008. Leptospirosis in dogs; a review with emphasis on clinical aspects. *Vet. Rec.* 8;163 (19); 579.
- Vander Hoeden, J. 1958. Epizootiology of Leptospirosis. *Adv. Vet. Sci.* 4:278-339.
- Varela, G. 1954. Estudios de leptospirosis en las Ciudades de: Veracruz, Tampico y México, en la Republica Mexicana. *Rev. del Inst. de Salubridad y Enfs. Trop. México.* 14:123-131. Varela G, Zavala VJ.1961 Estudio serológico de la leptospirosis en la República Mexicana. *Rev Inst Salubr Enf Trop* 1961; 21: 49-52.
- Varela, G. 1972. Serología de la Leptospirosis en la República Mexicana. *Rev. Inst. Salubridad Púb.* 32 (1).

- Velasco, C. O., Rivas S. B., Sánchez S. M., Soriano J., Rivera R. H., Garibay S. V. 2009. Leptospirosis crónica en México: diagnóstico microscópico y evidencias que respaldan su existencia e importancia Rev Mex Patol Clin, 56(3): 157-167.
- Velasco, C.O., Rivas S. B., Soriano J., Rivera R. H. 2009. (a) Daño miocárdico grave por leptospirosis. Informe de un caso fatal en México. Arch. Cardiol. Méx. 79 (4) México.
- Veloso, I. F., Corre M. T., Salas C. E., Moreira C. E. 2000. Una comparación de tres procedimientos extractivos de ADN con *Leptospira* para polymerase análisis de reacción en cadena. Memorias Hacia. Instituto Oswaldo Cruz Brasil 95 (3): 339-343
- Venkataraman, K. S., Nedunchellian S. 1992. Epidemiology of an Outbreak of Leptospirosis in Man and Dog. Comp. Immun. Microbiol. Dis 15 (4): 243-247.
- Vinetz, J. M., Glass G. E., Flexne C. E., Mueller P., Kaslow D. C. 1996. Sporadic urban leptospirosis. Ann Intern Med. 125: 794–798.
- Ward, M. P., Glickman L. T., Guptill L. E. 2002. Prevalence of and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970-1998). J. Am. Vet. Assoc. 1; 220(1):53-8.
- Ward, M. P., Guptill L. F., Wu C. C. 2004(a). Evaluation of environmental risk factors for leptospirosis in dogs: 36 cases (1997-2002). J. Am. Vet. Med. Assoc. 1; 225(1):72-7.
- Ward, M. P., Guptill L. F., Prah A., Wu C. C. 2004 (b). Serovar-specific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 cases (1997-2002). J. Am. Vet. Med. Assoc. 15; 224(12):1958-63.
- Watt, G., Alquiza L. M., Padre L .P., Tuazon M L., Laughlin L.W. 1988. The rapid diagnosis of leptospirosis: a prospective comparison of the dot enzyme-linked immunosorbent assay and the genus-specific microscopic agglutination test at different stages of illness. Journal of Infectious Diseases, 157:840-842.
- Wayne, D. 2006. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Ed Limusa Willey 4a. Edición Mexico D.F.
- Weil, A. 1886. Ueber eineeigentumliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit. Dtsche .Arch. Klin .Med. 39:209-232.
- White, A. M., Zambrana C., Allen T., Rostal M. K., Wright A. K., Ball E. C. *et al.*, 2017. Hotspots of canine leptospirosis in the United States of America. Veterinary Journal; 222 (2017) 29–3

- Wolf, J. W. 1954. The laboratory diagnosis of leptospirosis. Springfield, IL, Charles C. Thomas.
- Wood, W. B., 1947. Enfermedad de Weil. En: Cecil, Rusell, (eds). Tratado de Medicina Interna. México: Interamericana 578-583.
- Yalin, W. Z., Lingbing Y., Hongliang X., Jianmin Z., Xiangyan G., Xiaokui P. *et al.*, 2011. High prevalence of pathogenic *Leptospira* in wild and domesticated animals in an endemic area of China. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 841-845
- Yan, K.T., Ellis W. A., Mackie, D. P., Taylor, M. J., McDowell S. W., Montgomery J. M. 1999. Development of an ELISA to detect antibodies to a protective lipopolysaccharide fraction of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo in cattle. *Vet. Microbiol.* 69:173-187.
- Zappa, A., Amendola A., Romanò L., Zanetti A. 2009. Emerging and re-emerging viruses in the era of globalisation. *Blood Transfus* 7: 167-71.
- Zavala, J., Bolio A., Suárez G. 1976. Leptospirosis en Yucatán. *J. Exp. Med.* 14:131-135.
- Zavala, J., Pinzón J., Flores M., Damián A. 1984. La Leptospirosis en Yucatán. Estudio Serológico en Humanos y Animales. *Rev. Salud Pùb. Méx.* 26:254-256.
- Zunino, E., Pizarro R. 2007. Leptospirosis. Puesta al día. *Rev Chil Infectol* [Internet] jun. 24(3):[http://www.s.cl/scielo.php?script=sci\\_arttx&pid==S071610182007000300008&&Ing=es](http://www.s.cl/scielo.php?script=sci_arttx&pid==S071610182007000300008&&Ing=es)
- Zúñiga, C. I. R., Caro L. J. 2013. Epidemiological overview of Leptospirosis, United Mexican States 2000– 2010. *EnfInfectMicrobiol.* 33:71–76.

## CUADROS

**Cuadro 1 Serovariedades de *Leptospira interrogans* identificadas en donadores de sangre.**

Caso Seropositivo Colonia	Serovariedad	Titulo
El Mirador	Canicola	1:80
	Icterohaemorrhagiae	1:80
Adolfo López Mateos	Canicola	1:80
	Icterohaemorrhagiae	1:160
Rafael Buelna	Canicola	1:320
	Pyrogenes	1:320
Pemex	Canicola	1:80
	Pyrogenes	1:80
Buenavista	Pomona	1:80
Fracc. Nueva Galicia	Pomona	1:160
Rosario Uzárrega	Autumnalis	1:80
Fracc. San Fernando	Icterohaemorrhagiae	1:320
	Autumnalis	1:80

**Cuadro 2. Ocupación laboral.**

Ocupación	Negativos	Positivos	Total
Agricultura y Ganaeria-	79	0	79
Oficios	148	8	156
Profesionistas	12	0	12
Total	239	8	247
%	100.	100	100

C Chi-cuadrada de Pearson = 4.823, GL = 2

Chi-cuadrada de la tasa de verosimilitud = 7.508, GL = 2

OR=8.2



## FIGURAS

Figura 1 Frecuencia de serovares de *Leptospira* donadores de sangre.

