



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS

SEROGRUPOS DE LEPTOSPIRA EN CANES DOMÉSTICOS (*Canis familiaris*) DE LA COMUNIDAD NATIVA INFIERNO EN LA REGIÓN DE MADRE DE DIOS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICO VETERINARIO

GARCÍA VIDAL ANGELA
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA

LIMA-PERÚ

2016

ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria.....	i
Agradecimiento.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	
2.1. <i>Leptospira</i> spp.	3
2.1.1. Taxonomía	3
2.1.2. Morfología	4
2.1.3. Hospederos y reservorios	5
2.1.4. Serovares	7
2.1.5. Epidemiología	8
2.1.5.1. Estudios Internacionales	9
2.1.5.2. Estudios Nacionales	11
2.1.6. Factores predisponentes	15
2.1.7. Transmisión	16
2.1.8. Patogenia	17
2.1.9. Signos Clínicos	19
2.1.9.1. En caninos	19
2.1.9.2. En humanos	20
2.1.10. Patología	21

2.1.11. Diagnóstico	21
2.1.11.1. Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)	22
2.1.10.2 Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)	22
2.1.11.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	23
2.1.12. Tratamiento y Control	23
2.2. Caninos en Comunidades Nativas como transmisores de enfermedades	
2.2.1. Generalidades	25
2.2.2. Comunidades Nativas	25
2.2.3 Control Veterinario	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Espacio y Tiempo	27
3.2 Población y muestra	27
3.3 Diseño de investigación	28
3.4 Equipos y procedimiento	28
3.4.1 Equipos	28
3.4.2 Procedimiento	29
3.5 Diseño estadístico	32
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSIÓN	36
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	42
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	51

DEDICATORIA

) A mi padre por darme la educación como herencia, a mi madre y mi familia por enorgullecerse y apoyarme en cada paso que doy.

) A mi compañero incondicional, por ayudarme a materializar mi sueños.

AGRADECIMIENTO

-) A la MV. Nancy Carlos, por su paciencia, apoyo a nivel profesional y confianza para realizar este trabajo, a quien expreso mi admiración por la pasión que pone en su trabajo.

-) A mis profesores que influyeron en mi formación profesional.

-) Al Dr. Raúl Rosadio (decano de la FMV UNMSM) y al laboratorio de Microbiología y Parasitología de la misma institución, dado que gracias a su apoyo fue posible la obtención de los resultados

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de serogrupos de *Leptospira* spp. presentes en canes domésticos (*Canis familiaris*) de la Comunidad Nativa Infierno, ubicada en el distrito de Tambopata, departamento de Madre de Dios. Para el estudio se contó con una población de 80 canes, al visitar las casas e invitar a los dueños a participar en el estudio se contó con una muestra de 30 canes, 16 machos y 14 hembras, 16 adultos, 13 cachorros y un geronte. Se tomaron 3 ml de sangre de la vena cefálica con la ayuda de una jeringa de 3 ml y aguja de 21G 1 ½", la muestra fue colocada en un frasco sin anticoagulante y conservada en refrigeración hasta el laboratorio. En un Laboratorio Privado de la ciudad de Puerto Maldonado se centrifugó la muestra para obtener el suero y conservarlo en un tanque de nitrógeno. La muestra se envió a la Ciudad de Lima, para analizarla en el laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las muestras se analizaron mediante la técnica de aglutinación microscópica (MAT), considerando positivo a títulos mayores 1:100 empleando los siguientes serovares de *Leptospira* spp.: Bratislava (40%), canicola (13,3%), grippothyphosa (16,67%), icterohaemorrhagiae (10%) y pomona (0%). Se encontró un 56,66% (17/30) de animales positivos a *Leptospira* spp. Los canes machos tuvieron mayor prevalencia (62,65%) que las hembras (50,00%), así como los adultos (62,50%) con respecto a los cachorros (46,16%). Sin embargo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la prevalencia y el sexo ni el grupo etario.

PALABRAS CLAVE: comunidad nativa, MAT, Leptospirosis, serovares

ABSTRACT

The aim of this study was to determinate the presence of serogroups of *Leptospira* spp. present in dogs at the Infierno native community, located in the district of Tambopata and Madre de Dios department. For the study counted with a population of 80 dogs, to visit homes and invited owners to participate was counted with a sample of 30 dogs, 16 males and 14 females, 16 adults, 13 puppies and one geronte. 3 ml were taken blood from the cephalic vein with the aid of syringe and needle 3ml 21G 1½", the sample was placed in a flask without anticoagulant and kept refrigerated until the laboratory. In a private laboratory in the city of Puerto Maldonado sample was centrifuged to obtain serum and keep it in a nitrogen tank. The sample was sent to the City of Lima, for analysis at the veterinary microbiology laboratory and parasitology of the National Univesity of San Marcos. The samples were analyzed using the technique of microscopic agglutination test (MAT), positive considering higher titers of 1:100 using the following serovars *Leptospira* spp.: Bratislava (40%), canicola (13,33%), grippothyphosa (16,67%) icterohaemorrhagiae (10%), Pomona (0%). Of all animals analyzed were 56,6% (17/30) positive for *Leptospira* spp. Male dogs had higher prevalence (62,65%) than females (50,00%), as did adults (62,50%) with respect to puppies (46,16%). However, we did not find a statistically significant association between prevalence and sex nor the age group.

KEYWORDS: MAT, leptospirosis, native community, serovars

I. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de importancia y distribución mundial, causada por *Leptospira interrogans* que agrupa más de 240 serovares patógenos (1). El cuadro clínico producido por la especie patógena de leptospira (*L. interrogans*) es variable, pudiéndose presentar infecciones asintomáticas, con sintomatología general e inespecífica y hasta formas graves ictericas y hemorrágicas con diversos grados de insuficiencia renal y hepática (2). Para el diagnóstico, la técnica estandarizada como prueba serológica a nivel internacional es la aglutinación microscópica (MAT) (3).

Los perros son una fuente importante para la infección humana en muchos países tropicales y puede ser una fuente importante para el inicio de un brote (4,5). En caninos la infección puede ser desde asintomática hasta con cuadros clínicos graves. Se contagia al estar en contacto con órganos y orina contaminadas con leptospira, convirtiéndose así en uno de los principales reservorios intermediarios de la transmisión entre el hombre y los reservorios silvestres en esta población (6). Se ha reportado seroprevalencias de 14,8% (59/400) y 66,7% (18/27) de canes estudiados en Chile y Perú, respectivamente (7,8).

La leptospirosis es más frecuente en áreas tropicales, donde las condiciones para su transmisión son particularmente favorables (9). Sin embargo, el fenómeno de globalización, los cambios climáticos y las migraciones de animales y personas hacia

nuevas zonas, han propiciado que la leptospirosis sea considerada como un problema latente para cualquier población (10).

Por otro lado, las poblaciones indígenas en la amazonía peruana practican diferentes estrategias económicas como la agricultura, caza, pesca, recolección de castaña, crianza de animales, entre otros. Es el caso de la Comunidad Nativa de Infierno, ubicada en el departamento de Madre de Dios, que realiza sus actividades acompañados de animales como los canes domésticos (11). Estos animales cuentan con escaso cuidado veterinario, lo que favorecería a que puedan infectarse o enfermarse de cualquier patógeno como *Leptospira* spp.

En busca de conocer el estado sanitario de los canes domésticos en comunidades, y su implicancia en el medio silvestre que lo rodea, se llevó a cabo el proyecto de investigación titulado “Caninos domésticos como centinelas de salud en una Comunidad Nativa de Madre de Dios: Evaluación de agentes infecciosos en la interfaz humano – animal bajo el enfoque de una Salud”, a cargo del Programa de Ecología de enfermedad y Medicina de la Conservación del Centro de Ornitología y Biodiversidad (CORBIDI).

Debido a la importancia de la leptospirosis, el especial escenario de los canes domésticos en comunidades (interface canino- humano- fauna silvestre) y como parte del proyecto mencionado en el párrafo anterior, el objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de serotipos de leptospira spp. en perros de la comunidad Nativa Infierno, ubicada en la Región Madre de Dios. Esta información será útil para determinar el potencial riesgo de transmisión hacia los humanos y animales silvestres. Así como, instaurar programas de medicina preventiva para los canes, con el fin de mejorar su bienestar animal.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. *Leptospira* spp.

La leptospirosis fue descrita la primera vez por A. Weil en 1886, como una enfermedad infecciosa aguda comprendida entre las zoonosis. Es de importancia global y distribución mundial, pero es más frecuente en las áreas tropicales donde las condiciones para su transmisión son particularmente favorables (9, 12). Es causada por espiroquetas del género *Leptospira* que, clásicamente, comprende dos especies: *L. interrogans* y *L. biflexa*, siendo la primera patógena y la segunda saprófita. *L. interrogans* agrupa más de 240 serovares, mientras que la segunda incluye alrededor de 60 serovares. Esta clasificación se basa en técnicas de microaglutinación (10, 11). A continuación se realiza una breve descripción de la bacteria y la enfermedad que produce.

2.1.1. Taxonomía

El género *Leptospira* (Gr. Lepto = fino y espira = espiral) pertenece a la familia Leptospiraceae y al orden Spirochaetales, las cuales se diversificaron tempranamente en la evolución de las bacterias. Actualmente, la clasificación del género *Leptospira* está basada en la homología del ADN y está dividido en 17 especies; definido en 70% de homología y 5% de divergencia en el ADN. El avance en la biología molecular ha permitido también secuenciar su genoma que consiste de dos cromosomas circulares (10, 13).

Estudios más recientes de ADN, aún en desarrollo, han establecido algunos cambios taxonómicos con respecto a esta clasificación, de modo que el género *Leptospira* spp. comprende tres especies no patógenas: *L. biflexa*, *L. meyerii*, *L. wolbachii*, y las siguientes siete especies patógenas: *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* y *L. weilii*; distribuidas en 24 serogrupos y 237 serovares (12) *L. alexanderi*, *L. fainei*, *L. Levett* (14) y *L. parva* como no patógena y otras cuatro genoespecies (5).

2.1.2 Morfología

Esta bacteria es de forma helicoidal, aeróbico obligatorio, presenta en uno o ambos extremos una curvatura en forma de gancho. Tiene una gran movilidad, dada por un axostilo, el cual está formado por dos filamentos axiales insertados en un disco o protuberancia al final del cuerpo citoplasmático y cuyo extremo libre está unido a la región media de la bacteria (15).

Tiene un diámetro aproximado de 0,25 μm y una longitud variable entre 6 y 25 μm , es por ello que puede pasar por membranas de filtración de poro, esta característica hace que la leptospira sea observable únicamente en un microscopio de campo oscuro o de fase de contraste y además que no se pueda colorear con anilinas. Su sobrevivencia se ve favorecida por un ambiente cálido, húmedo y un pH neutro o ligeramente alcalino (15).

2.1.3 Hospederos y reservorios

Las leptospiras de distintos serovares, pueden ser mantenidas por 20 diferentes especies animales quienes eliminan el microorganismo por la orina, esto incluye, especies domésticas y silvestres que comparten el mismo hábitat (15).

Los reservorios de las leptospiras son animales que mantienen una relación de comensales con las bacterias y no sufren o sufren muy levemente la enfermedad. Transfieren las leptospiras a sus crías en el útero o el periodo neonatal, favoreciendo la cadena de transmisión. Los portadores mantienen las leptospiras viables y con capacidad de multiplicarse en sus riñones, excretándolas intermitentemente por la orina. Es necesario tener en cuenta que muchos de estos portadores pueden tener serología negativa (13). En el ambiente urbano estos reservorios son los caninos y las ratas, así como los bovinos, porcinos y equinos en el campo. La leptospira se adaptó además a "huéspedes reservorios primarios", los cuales comúnmente son animales salvajes que hacen más difícil su control y aumentan la prevalencia de esta enfermedad (16).

Estudios en animales de vida libre en muchas partes del mundo han revelado que las leptospiras están ampliamente distribuidas en una gran cantidad de animales, particularmente en roedores, insectívoros y carnívoros, los que pueden actuar como portadores. Además, debe considerarse a otras especies que albergan la espiroqueta, entre las cuales se pueden citar a osos, bisontes de vida libre, coipos, pequeños marsupiales, artiodáctilos, quirópteros, incluso aves, batracios, lobos marinos y reptiles, pero no se puede olvidar que algunas especies domésticas también son reservorios (13).

En el Perú varias especies de fauna silvestre han sido identificadas como reservorios potenciales de leptospira y se considera que pueden estar contribuyendo al mantenimiento y transmisión de la enfermedad (17, 18,19). Algunos de estos estudios han determinado una alta prevalencia de *Leptospira* sp en la población de animales silvestres, como el ronsoco (*Hydrochoerus hydrochaeris*) y el sajino (*Tayssu tajacu*), criados en cautiverio (18, 20).

Es así que Cueva y col. determinaron la incidencia de la infección de *Leptospira* sp. en 36 individuos de ronsoco (*H. hydrochaeris*) de un zocriadero ubicado en la ciudad de Iquitos. De las 13 serovariedades analizadas, encontraron que la de mayor frecuencia fue *georgia* (100,0%) seguida por *ballum* (36,3%), *canicola* (25,8%) y *tarassovi* (16,6%) Las muestras resultaron negativas a anticuerpos contra las serovariedades: *icterohemorrhagiae*, *wolffi*, *hardjo*, *bratislava*, *grippotyphosa* y *javanica* (20). Los resultados del presente estudio sugieren que el ronsoco podría ser el reservorio de este serovar, ya que la *Leptospira* sp. no induce infección aguda ni altos títulos de anticuerpos pero el animal elimina la bacteria por la orina contaminando el medio ambiente (5, 20).

En Piura, se evaluaron canes domésticos (3 individuos) y roedores (12 individuos) utilizando la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para la detección de anticuerpos y el cultivo de tejido de riñón para el estudio bacteriológico. Se obtuvo que el 16,6% (2/12) de los roedores y 33,3% (1/3) de los canes fueron positivos. En roedores se aisló el serovar *grippotyphosa* a un título de 1/200 y 1/400; lo que indica que los roedores han estado en contacto con la bacteria, pudiendo constituirse en fuente de su diseminación (21).

El hombre es huésped accidental, pero es sensible, a todos los serovares de leptospira y puede presentar desde una enfermedad leve y autolimitada hasta una enfermedad mortal con insuficiencia multiorgánica (22).

Según Céspedes (2005) en el poblado Los Delfines en Iquitos (Perú) se reportó un brote que afectó a la población, debido a que los animales domésticos (cerdos y perros) eliminaban Leptospiras por la orina contaminando la Quebrada (Shushuna), de donde la población extraía agua para su consumo y también se bañaba (23).

2.1.4 Serovares

Es la unidad taxonómica de la *Leptospira*, tradicionalmente han sido clasificadas tomando como base a sus determinantes antigénicos en dos especies. La mayoría de leptospiras patógenas se agruparon dentro del “complejo interrogans” (después *L. interrogans sensu lato*), las otras se pusieron en el “complejo biflexa” (después *L. biflexa sensu lato*) que agrupa a las saprofitas principalmente (13). Dentro de las patógenas se encuentra la especie *L. interrogans* donde se encuentran los serovares más importantes como *australis*, *bratislava*, *canicola*, *pomona* *pyrogena* entre otros. En las saprofitas se encuentran *L. biflexa* y *L. wolbachii* (Anexo 1) (23).

Los serovares varían con el tipo de reservorio, es así que los roedores pueden ser reservorios de diferentes serovares, pero las ratas generalmente presentan serovares como *Ictohaemorrhagiae* y *Ballum*, y los ratones son reservorios para el serogrupo *Ballum* (5,13). Recientes estudios muestran que algunos mamíferos y marsupiales presentan serovares inusuales como el caso de serovar *Bim* en el ratón doméstico (*Mus musculus*) de Barbado (5, 24).

Sin embargo, se conoce que una sola especie podría ser reservorio de serovares diferentes en áreas geográficas diferentes. Como la mangosta pequeña asiática (*Herpestes auropunctatus*) que mantiene el serovar *Sejroe* e *Icterohaemorrhagiae* en Hawaii (10), serovar *Icterohaemorrhagiae* y *Djatzi* en Puerto Rico (25), serovar *Icterohaemorrhagiae* en Jules en Jamaica (26), serovar *Icterohaemorrhagiae* y *Brasiliensis* en Granada 19, y serovar *Canicola* en Trinidad (27).

Los animales domésticos como los cerdos albergan a los serovares *Pomona*, *Tarassovi* y *Bratislava*; las ovejas *Hardjo* y *Pomona*; los perros *Canicola* y el ganado vacuno pueden albergar serovares como *Grippotyphosa*, *Pomona* y *Hardjo* (Anexo 2) (1, 5, 13).

El serovar *Hardjo* causa infección en el ganado vacuno en todo el mundo, y produce brotes de mastitis y aborto; también se puede encontrar en fetos abortados y en terneros prematuros. Además, se ha aislado en fetos sanos, descarga vaginal y en el tracto genital, urinario y en semen de toros (28).

Los principales serovares implicados en la leptospirosis canina son *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola* (29). El hombre es sensible a todos los serovares, siendo la forma más grave *L. icterohaemorrhagiae* la cual produce enfermedad hepática y renal (30).

2.1.5 Epidemiología

Desde 1921 hasta 1991, en el Perú se han aislado *Leptospiras* correspondientes a los serogrupos: *Pomona*, *Hebdomadis*, *Canicola*, *Tarassovi*, *Icterohaemorrhagiae*, *Cynopteri*, *Bataviae*, *Grippotyphosa*, *Ballum*, *Pyrogenes*, *Australis*, *Shermani*, *Javanica*, *Autumnalis* y

Panamá. Los principales reservorios domésticos definidos incluyeron al cerdo, los perros y los bovinos, y entre los silvestres, la rata de los desagües (*Ratus norvegicus*) y los marsupiales (Marsupialia) en la selva (6, 31)

Los estudios sobre Leptospirosis en personas, realizados en nuestro país, han revelado seroprevalencias que varían de 13 a 36% con variaciones de acuerdo con el medio geográfico, la ocupación y la época del año en que se realizó el estudio. Estos evidencian que el mayor número de casos humanos se ha producido entre agricultores, personas que trabajan con aguas servidas, mineros o entre los que se bañan o caen accidentalmente en ríos, lagos, pozos o riachuelos (26). A continuación se hace una reseña de los estudios llevados a cabo a nivel nacional e internacional (Anexo 3 y 4).

2.1.5.1 Estudios Internacionales

Según Alve y col. (2014) quienes investigaron la seroprevalencia leptospira en los perros de caza en el estado de Paraíba (Brasil), utilizando la prueba de microaglutinación (MAT), evaluando 23 serovares y considerando positivos niveles de anticuerpo 1:100. De las 190 muestras analizadas, 17 (8,95%) fueron positivas para los siete serotipos de *Leptospira* patógena, especialmente 43, 31% autumnalis, 15,38% Bratislava, 11,59% australis, 7, 69% butembo gripotyphosa e *Icterohaemorrhagiae* y 3,85 adamana y wolffi (32).

En Guatemala, García y col. (2013) determinaron la seroprevalencia de Leptospirosis humana en un asentamiento de la ciudad capital de Guatemala y la determinación de los serovares circulantes. Emplearon las pruebas de MAT y ELISA (detectando IgG); obteniendo una seroprevalencia de 30,25%. El título más frecuente fue de 1:80 (30,56%)

y se identificaron los serovares australis y lanka como los más frecuentes (11,11%), seguidos por Icterohaemorrhagiae, pomona y javanica con 8,33% cada uno. No se encontró una asociación significativa entre la presencia de anticuerpos anti-Leptospira y las características conocidas como factores de riesgo. Sin embargo, algunos de los factores que probablemente contribuyen a la seroprevalencia encontrada en los pobladores del asentamiento fue que el 82,3% de ellos reportaron la presencia de roedores en sus viviendas, debido a que existe un basurero ilegal al final del asentamiento lo que favorece la proliferación de los mismos (33).

En Chile, Tuemmers y col. (2011) realizaron un estudio con canes vagos capturados en la Ciudad de Temuco, en el cual se analizaron 400 perros utilizando “kit Inmunocomb de leptospirosis” (Biogal®). Encontrándose 85 resultados positivos, calculándose la prevalencia de Leptospirosis en 21,3% (85/400). La mayoría de los casos positivos se concentran en perros de 5 a 8 años de edad y fue independiente del sexo (34).

Según Álvarez y col. (2011) realizaron un estudio que incluyó una muestra de 70, caninos mayores de cuatro meses, existentes en la comunidad rural del corregimiento de Berástegui, municipio de Ciénaga de Oro (Córdoba), las pruebas se desarrollaron por medio de la aglutinación microscópica (MAT), implementando 14 serovares. La seroprevalencia de leptospirosis en la población canina fue de 47,14% (33/70) y la mayor frecuencia fue para los serovares grippotyphosa, con el 37,14% (26/70), seguido de icterohaemorrhagiae y pomona, con el 34,29 (24/70) y 25,71% (18/70), respectivamente (35).

En Itapema (Brasil), Darela y col. (2005) estudiaron a 590 canes en busca de la seropositividad de Leptospirosis utilizándola prueba de microaglutinación (MAT) analizando 25 serovares: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Andamana, Patoc, Australis, Grippothyphosa, Panama, Hardjo, Pomona, Pyrogenes, Wolffi, Bataviae, Bratislava, Butembo, Javanica, Hebdomadis, Autumnalis, Castellonis, Cellendoni, Copenhageni, Cynopteri, Djasiman, Shermani y Tarassovi. Considerando positivos título igual o mayor a 1:100, hallaron que el 10,5% (62/590) de los canes fueron positivos y serotipos más frecuentes fueron: *pyrogenes* con 26 (18,0 %), *canicola* con 20 (13,8 %) y *icterohaemorrhagiae* y *copenhageni* con 18 (12,5 %) (22). Los demás serovares tuvieron una frecuencia más baja (36).

2.1.5.2 Estudios Nacionales

Siuce y col. (2015) identificaron serogrupos de *Leptospira* spp presentes en canes con diagnóstico clínico presuntivo de Leptospirosis en la ciudad de Lima. Se obtuvieron 305 muestras remitidas durante los años 2012 (n=107), 2013 (n=176) y 2014 (n=22), procedentes de 31 distritos de la ciudad de Lima, el estudio fue realizado con la prueba de microaglutinación (MAT) en busca de 25 serogrupos. Se detectaron 177 seropositivos (58,0%), 31 (10,2%) de los cuales fueron coaglutinaciones. Los serogrupos reaccionaron contra 18 serogrupos siendo los de mayor frecuencia: Iquitos (15,1%), tarassovi (12,1%), canicola (12,1%), australis (4,6%), icterohaemorrhagiae (4,3%), pomona (3,9%), mini (3,3%) y ballum (2,6%). No se identificaron serorreectores en los serogrupos bataviae, celledoni, hebdomadis, lousiana, panama, ranarum y sarmin (37).

En Piura, Quispe y col. (2013) llevaron a cabo un estudio preliminar durante el mes de octubre de 1999 analizaron 12 ratas (*Rattus rattus*) y 3 canes domésticos utilizando la

prueba de aglutinación microscópica (MAT) y el cultivo de tejido de riñón para el estudio bacteriológico para las ratas. Encontrando, con la prueba de MAT 16,6% (2/12) de las ratas reaccionaron con el serovar grippothyphosa a un título de 1:200 y 1:400. Mientras que 3 muestras de suero de canes evaluados solo 33,33% (1/3) reaccionó con el serovar canicola a título de 1:1000. Ningún cultivo de muestra renal fue positivo (21).

En la Ciudad de Lima, distrito de Puente Piedra, Platts-Mills y col. (2011) determinaron la seroprevalencia para *Leptospira*, en donde se han presentado casos de leptospirosis severa en los últimos años. Para ello se recolectaron datos relacionados a factores de riesgo asociados con esta enfermedad y muestras de sangre de 250 participantes, seleccionados por un muestreo aleatorio. Se encontró una alta prevalencia de factores de riesgo en la población y, usando la prueba de aglutinación microscópica, anticuerpos circulantes contra *Leptospira* en solamente tres participantes (1,2%) (38).

En Iquitos Matthias y col. (2008), como parte de un estudio prospectivo de la leptospirosis y la biodiversidad de *Leptospira* en el Amazonas peruano, aislaron una nueva especie en personas con enfermedad febril aguda, esta leptospira fue identificada también en ratas peri domésticas (*Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*) obtenido en zonas urbanas, peri-urbanas y rurales de esta región. A la especie hallada se llamó "*Leptospira licerasiae* " serovar varillal, ya que era antigénicamente distinto de todos los serogrupos conocidos. El aislamiento fue poco frecuente en los seres humanos (2/45), pero utilizando la técnica de MAT se determinaron altos títulos de anticuerpos, "*Leptospira licerasiae* " serovar varillal, en el 30% de los pacientes que cumplían los criterios serológicos para la leptospirosis aguda en la región de Iquitos, a diferencia de lo hallado en otras partes del Perú en un 7%. Esta nueva especie *Leptospira* refleja la biodiversidad amazónica y ha evolucionado hasta convertirlo en una causa importante de la leptospirosis en el Amazonas (39).

En el año 2004, se realizó un estudio seroepidemiológico analizaron tres condiciones ambientales distintas, la primera zona fue en Belén (Iquitos), las comunidades rurales de Iquitos y un poblado urbano marginal en Lima (San Juan de Lurigancho). En la población humana se encontró una prevalencia de 28% (182/ 650); en Belén, 17% (54/316) en comunidades rurales y 0,7% (1/150) en Lima utilizando la prueba de ELISA determinando los niveles IgM e IgG. Determinando que el ambiente es un factor condicionante de la exposición a leptospira; y por tanto de mayor seropositividad (40).

En el año 2004 se notifica un caso de leptospirosis grave en la provincia de Coronel Portillo en departamento de Pucallpa, Ucayali. Se inició la investigación con la probable fuente de infección, se tomó muestras de suero de 364 pobladores de 4 localidades, en quienes se evaluó la presencia de anticuerpos totales contra leptospiras en suero por el método de ELISA y la prueba de microaglutinación (MAT) para los serovares: andamana, bratislava, autumnalis, ballum, bataviae, canicola, selledoni, pomona, hebdomadis, cynopteri, djasiman, georgia, grippothyphosa, icterohaemorrhagiae, javanica, pyrogenes, sejroe y tarassovi. Se determinaron las personas o animales positivos con título iguales o mayores a 1:100. Obteniendo que 114 (31,3%) pobladores resultaron positivos. De la misma manera, se tomó muestras de suero de 374 animales domésticos (canes) a los que se realizó MAT, encontrando que 181 (48,3%) estaban infectados. Estos canes los serogrupos más frecuentes fueron canicola (33,7%, 61/181) seguido de icterohaemorrhagiae (25,97% 47/181), pyrogenes (23,7%, 43/181). Así mismo, se encontraron anticuerpos contra otros serovares como hebdomadis, ballum, australis, autumnalis, djasiman, y otros serogrupos en menor proporción (31).

Céspedes y col. (2003) realizaron un estudio en la selva del Perú (provincia de Manu, departamento de Madre de Dios) analizando personas con antecedentes de fiebre y canes

domésticos. Para el diagnóstico utilizaron la prueba de ELISA y confirmándolos con la prueba MAT para los serovares andamana, canicola, ballum, grippothyphosa, pyrogenes, pomona wolffi, bataviae, javanica, australis, autumnalis, cellendoni, cynopteri, djasiman, hebdomadis, mini, icterohaemorrhagiae, georgia, sejroe y tarassovi. Se determinó las personas o animales positivos con título iguales son mayores a 1:100. Se encontraron que el 36,6% (26/71) de personas y un 66,7% (18/27) de canes fueron positivo. Para el caso de los canes se hallaron los serovares más frecuente a georgia (44,4%, 12/27), bataviae (33,3% 9/27) y otros serovares (22,33%, 6/27) como: canicola, javanica, australis, autumnalis y tarassovi (8).

Alarcón y col. (2002) estimaron la seroprevalencia de Leptospirosis en 254 agricultores dedicados al cultivo de arroz del valle del Alto Mayo, región San Martín. La seroprevalencia, determinada por microaglutinación, fue del 64,6% (164/254), los serovares más frecuentes fueron icterohaemorrhagiae 34,6 % (90/254), autumnalis 19,6% (51/254), australis 12,3% (32/254), panama 12,7% (33/254) y grippotyphosa 7,7% (20/254). Los factores asociados fueron la manipulación de roedores, trabajar descalzo y el pertenecer al sexo masculino (41).

Entre el año 2000 y 2001 el Ministerio de Salud (MINSa) realizó una investigación en la que incluyeron 506 pacientes febriles analizados mediante la técnica de gota gruesa y frotis sanguíneo negativo procedentes de establecimientos de salud de Piura y Loreto. Logrando aislar el agente etiológico mediante la prueba de Elisa Ig M en 82 pacientes (16,2%), con lo cual leptospirosis fue la segunda causa del síndrome febril (3,4%) (31).

2.1.6 Factores predisponentes

La transmisión depende de muchos factores como el clima, la densidad y el grado de contacto entre el reservorio y los hospederos accidentales (5, 13). Las infecciones humanas pueden adquirirse a través actividades profesionales, recreativas, o exposiciones involuntarias. La ocupación es un factor de riesgo importante para los humanos (42).

El contacto directo con las orina de los animales infectados puede causar infecciones en granjeros, veterinarios, matarifes, trabajadores que realizan el control de roedores y otras ocupaciones en el que se tiene acercamiento con animales (43).

Además, el contacto indirecto es importante para los obreros de desagüe, mineros, militares, los limpiadores de tanques sépticos, criadores de peces, guardabosques, obreros de canales, agricultores que se dedican al cultivo de arroz, plátanos, caña de azúcar y otros (13).

Los casos de Leptospirosis en las regiones tropicales son debido a exposiciones accidentales adquiridas durante actividades de la vida diaria. Muchas infecciones se han atribuido al caminar descalzo en suelos húmedos o cultivando un huerto o jardín con las manos desnudas (23).

2.1.7 Transmisión

Las puertas usuales de entrada de entrada de la *Leptospira* son las abrasiones, cortes en la piel y por vía conjuntival; la infección también puede darse después de la inmersión prolongada en el agua (44).

Se ha reportado la transmisión por la inhalación de agua o por aerosoles y el ingreso hacia las vías respiratorias se puede producir la infección, sin embargo raramente puede darse por mordeduras de animales. (26, 45).

Ocasionalmente se ha demostrado la transmisión directa entre los humanos, el pH bajo de la orina limita la sobrevivencia de la *Leptospira* después de la excreción. También se ha reportado la transmisión por relaciones sexuales (5).

Los perros son una fuente importante para la infección humana en muchos países tropicales y puede ser una fuente importante para el inicio de brote epidémico; además puede constituirse en una de las principales fuentes de Leptospirosis no ocupacional en países templados. (4, 5, 13).

Para entender mejor la transmisión de la leptospirosis, se proponen tres modelos epidemiológicos; el primero ocurre en climas templados donde son pocos los serovares que están involucrados en la infección humana y generalmente es por contacto directo con ganado y cerdos. El control se realiza por inmunización de animales o humanos. El segundo ocurre en áreas tropicales donde hay muchos serovares que infectan a humanos

y animales, además hay un gran número de reservorios como los roedores, animales de granja y perros. El tercer modelo se da cuando la infección en los roedores es llevada al ambiente urbano. Es un caso importante cuando la infraestructura urbana se rompe debido a la guerra o por catástrofes naturales (13).

2.1.8 Patogenia

Las leptospiras ingresan a un hospedero susceptible y se multiplican tan pronto penetran el espacio vascular (46). Invaden el torrente sanguíneo produciendo una bacteremia; con una rápida división y posterior invasión de distintos órganos. Algunos serovares tienen una especial predilección; principalmente las células de los parénquimas hepáticos, renales y pulmonares así como por las células endoteliales de los capilares y su presencia en dichos tejidos puede evidenciarse por medio de técnicas especiales encontrándose entre las lesiones microscópicas cambios a nivel hepático como disociación de las células de las trabéculas parenquimatosas (47).

La lesión celular se produce en dos etapas: primero una interacción, en la cual hay unión específica de la bacteria con la membrana plasmática de la célula blanco y posterior penetración y agresión celular, que causan alteraciones funcionales de distinta magnitud, que llevan en algunos casos a la muerte de la célula (48).

La alteración renal inicia en los túbulos contorneados, cuyo epitelio manifiesta cambios que van desde una degeneración hidrópica hasta una necrosis, esta va acompañada de un edema intersticial y escasa infiltración de leucocitos, principalmente linfocitos y células plasmáticas (49).

En la leptospirosis han sido descritas alteraciones en los factores de coagulación, secundarias a deficiencias en la síntesis hepática o al consumo en áreas de lesión endotelial (50). La injuria endotelial asociada con la trombocitopenia presente se puede generar agravándose en algunos casos una Coagulación Intravascular Diseminada (51).

Como respuesta a dichos estímulos hay liberación de citoquinas y compuestos vasoactivos que forman parte de los mediadores de fase aguda para algunos tipos de respuesta inflamatoria. Se conoce que la leptospira presenta un polisacárido de membrana llamado (L-LPS), el cual por mecanismos no del todo dilucidados, es capaz de desencadenar un fenómeno tipo Jarish Herxheimer, caracterizado por la presencia de interleuquinas 1 y 6 (IL 1-IL 6), factor de Necrosis Tumoral (TNF) y células de respuesta inflamatoria generando una reacción inflamatoria intersticial. La cual precede a una extensa inflamación capilar sistémica (pancapilaritis) que produce disfunción, lesión y muerte de la célula endotelial con procesos de extravasación (47).

Debe tenerse en cuenta que la primera estructura afectada es la capilar. Como resultado, los parénquimas y tejidos, se ven afectados en su normal aporte e intercambio, primero con un cuadro de hipoxia y luego por la instauración de anoxia y necrosis regional, manifestándose por distintos tipos de trastornos funcionales. La injuria endotelial genera sangrados que en los casos más severos afectan los pulmones y el tracto gastrointestinal, presentándose anemia moderada (52). La magnitud depende de variables orgánicas del huésped y del microorganismo, como son, tipo de serovar de la leptospira, virulencia de la cepa, calidad de la respuesta inmune del hospedero y el órgano afectado (47).

En caninos *L. icterohaemorrhagie* y *L. canicola* dan lugar a daño hepático con aumento de enzimas específicas del órgano así como hiperbilirrubinemia, *L. icterohaemorrhagie* origina un trastorno agudo caracterizado por la acumulación de pigmentos biliares en los canalículos y ductos hepáticos debido a la oclusión de estos por restos celulares. (53) El grado de ictericia ocasionada por este fenómeno está directamente relacionado con el nivel de obstrucción más que por el daño orgánico (54).

2.1.9 Signos clínicos

Luego de ingresada la leptospira al huésped susceptible, el período de incubación oscila entre 2 y 20 días, con una media de 7 a 13 días. Luego del cual se inicia la primera fase llamada septicémica, que tiene una duración aproximada de 3 a 10 días, produciéndose una bacteremia y posterior colonización de los distintos parénquimas incluido en ocasiones el sistema nervioso central (S.N.C.) (47). La presencia de la bacteria en sangre durante este período, lo hace ideal para el aislamiento del microorganismo hasta los 7 días de iniciados los primeros síntomas (55).

2.1.9.1. En caninos

La severidad de los signos clínicos está influenciada por la edad del canino, el status vacunal, la virulencia del serovar, la ruta y el grado de exposición. En la infección los pacientes mueren sin presentar signos clínicos; los cuales, están relacionados con desórdenes del hígado, riñón y endotelio vascular (56). Los signos más comunes encontramos son anorexia, vómito, fiebre, mucosas hiperémicas, debilidad, depresión, oliguria, ictericia, diarrea, glositis, estomatitis y dolor a la palpación renal (57).

La presencia de ictericia en la leptospirosis canina no es un signo patognomónico, en los casos clínicos se menciona una frecuencia de 10%. Las infecciones por *L. icterohaemorrhagie* si cursan con una ictericia marcada, mientras en las que son provocadas por *L. canicola* no se presenta ictericia (58). La enfermedad puede desarrollar también el síndrome de Coagulación Intravascular Diseminada (CID) causada por el síndrome urémico-hemolítico, cuyos signos incluyen hemorragias petequiales o equimóticas, hematemesis y epistaxis. (57). Además, se ha referido la deshidratación causada por la fiebre, el vómito y la diarrea que pueden llevar a una hipovolemia en el paciente. Se han reportado temblores musculares, uveítis y abortos (47).

2.1.9.2 En humanos

La expresión clínica de la infección por *Leptospira* varía ampliamente en el ser humano, con oscilaciones que van desde procesos totalmente asintomáticos. Los más frecuentes pasan por las formas de evolución generalmente benignas, hasta el desarrollo de cuadros graves ictero-hemorrágicos con colapso vascular y serio compromiso de funcionamiento hepático-renal, que puede ser de evolución fatal (enfermedad de Weil) (10, 13, 25).

Los síntomas y signos más frecuentes son fiebre, mialgias intensas, cefalea, manifestaciones gastrointestinales, como vómitos, alteraciones del tránsito y dolor abdominal, inyección conjuntival y síndrome meníngeo en la segunda semana de evolución. Puede presentarse con diferentes formas, grados y combinaciones de compromiso orgánico, ya sea como un cuadro febril inespecífico autolimitado, como afección preferente de uno o más órganos involucrados, o como una enfermedad grave con compromiso multiorgánico y alta letalidad (59, 60).

Clásicamente, se describe como una enfermedad febril bifásica, en que la mayor parte de las manifestaciones clínicas se observan durante el período septicémico, en la primera semana de evolución. La meningitis, en cambio, aparece concomitantemente con la nueva onda febril, en la segunda semana del curso clínico (período inmune) (5, 12).

2.1.10 Patología

Cuando se presenta compromiso hepático se observa hepatomegalia, secundario a la invasión de sinusoides, espacio de Disse y hepatocitos, experimentando estos últimos, una destrucción focal y limitada. En el caso de compromiso renal hay nefrosis hipoxémica, aunque asociada a elementos sugerentes de daño celular mediado por toxinas. Se observa vasculitis, hemorragias, edema intersticial, necrosis del epitelio tubular y ruptura de membrana basal (60).

2.1.11 Diagnóstico

Para el diagnóstico de la leptospirosis es necesario utilizar métodos sencillos y rápidos de ejecución siendo las técnicas serológicas las de mayor precisión y eficacia para estas investigaciones (61).

Dentro de los exámenes de laboratorio utilizados se encuentra los análisis de hematología y bioquímica sanguínea, donde se encuentra leucocitosis moderada, trombocitopenia en caso de daño renal, elevación de transaminasas, fosfatasa alcalina y bilirrubina en ausencia de ictericia. En el análisis de orina puede encontrarse una proteinuria y hematuria (13, 60).

2.1.11.1 Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

La prueba de ELISA es muy sensible y específica para el diagnóstico biológico de leptospirosis. Su uso depende del tipo de antígeno y los reactivos empleados durante el curso de la prueba. Sólo detecta anticuerpos género específicos y no es apropiada para la identificación del serogrupo o serovar. Los anticuerpos en los sueros a estudiar son puestos en contacto con un antígeno, luego de un período de incubación y lavados se añade un anticuerpo antiespecie conjugado con una enzima. La actividad enzimática es determinada por el agregado de un sustrato cromogénico. La intensidad de la reacción de color, que está relacionada con la cantidad de sustrato degradado, es proporcional a la cantidad de anticuerpo presente en el suero analizado (62, 63).

2.1.11.2 Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)

La MAT es una prueba de microaglutinación que se realiza empleando una combinación de 19 antígenos. Las leptospiras pueden ser tanto *L. interrogans* patógenas o *L. biflexa*, no patógenas. Estos serovares son agrupados en serogrupos sobre la base de su homología antigénica. Los serovares de cada serogrupo se reúnen y son usados como antígenos para la MAT de tal forma que cada suero pueda reaccionar con el mayor número de serovares de leptospiras posibles. Esta prueba puede ofrecer una indicación del serogrupo al cual pertenece el serovar infectante, pero raramente lo identifica. La MAT detecta tanto los anticuerpos tipo IgM como IgG (64).

2.1.11.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se ha demostrado útil en muestras de sangre, LCR, orina o tejidos. Si bien en sangre tiene mejor sensibilidad que el cultivo, es positiva solo en el 50% de los casos. Es capaz de identificar el ácido desoxirribonucleico (ADN) de varias serovariedades a partir de 100 leptospiras por mililitro de muestra (64).

2.1.12 Tratamiento y Control

El tratamiento se basa principalmente en la terapia de soporte, corrección de desequilibrio electrolítico y ácido básico. La antibioticoterapia se debe iniciar lo más temprano posible para evitar lesiones en los tejidos (45, 65).

El control se realiza con la notificación y posterior aislamiento de los pacientes, desinfección de los artículos contaminados con orina. Además de la investigación de casos sus contactos y la(s) fuente(s) de infección probable(s). Adicional a esto se han utilizado en humanos y animales las vacunas, estas deben contener serovares representativos de la realidad epidemiológica (45).

a) Caninos

En pacientes deshidratados y con alteraciones renales como oliguria o anuria, debe aplicarse una terapia de fluidos con solución mixta (solución Hartmann y suero glucosado al 5%) para reemplazar los líquidos perdidos y evitar una falla renal al restablecer el volumen circulatorio y la perfusión renal. Es necesario considerar la existencia de un problema respiratorio concomitante que suele presentarse regularmente. El vómito puede

controlarse con metoclopramida (0.2 a 0.4 mg/kg I.M. ó I.V. cada 6-8hrs ó 1 a 2 mg/kg I.V. cada 24 horas), el uso de antagonistas de receptores H₂ como la cimetidina o ranitidina son recomendados en caso de sangrado gástrico. La dieta debe ser pobre en proteínas y rica en hidratos de carbono, hasta que se haya normalizado la función renal (49).

Algunos antibióticos recomendados son penicilina G procaínica (40,000 a 60,000 U.I./kg I.M. o S.C. cada 24 horas ó dividido cada 12 horas), dihidroestreptomicina (10-15 mg/kg I.M. ó S.C. cada 12 horas o 25 mg/kg cada 24 horas), tetraciclinas (5-10 mg/kg I.V. cada 12 hrs) y doxiciclina (2.5 mg./kg a 5 mg/kg P.O. cada 12 horas. y posteriormente cada 24 hrs.) durante dos semanas como terapia alternativa, cuando los animales toleran la medicación oral (54).

b) Humanos

En humanos se recomienda el tratamiento con penicilina, en dosis de 6.000.000 U/día por 7 días, o doxiciclina aplicando dosis de 100 mg/cada 12 horas, durante una semana. Estos esquemas acortan la duración de la fiebre y el compromiso renal. De acuerdo con la patología subyacente y la gravedad del caso, deberán aplicarse las medidas terapéuticas y de apoyo requeridas. La leptospirosis severa se maneja en unidad de cuidados intensivos (UCI) mediante vigilancia hemodinámica invasiva y de la oxigenación tisular. El pronóstico es en general favorable y la tasa de mortalidad oscila del 5 a 20%. Para individuos expuestos a actividades de alto riesgo o los que visitan áreas endémicas por corto tiempo, una dosis semanal de doxiciclina de 200mg ha resultado eficaz (66).

2.2 Caninos de comunidad Nativas como transmisores de enfermedades

2.2.1 Generalidades

El perro doméstico (*Canis familiaris*) se encuentra fuertemente asociado a la presencia del ser humano. Este se reporta como portador de numerosos patógenos que pueden transmitirse a carnívoros silvestres, es por ello que se les considera una fuente importante para la infección humana en muchos países tropicales y puede ser determinante para el inicio de los brotes. Además, se considera necesaria la investigación de otras enfermedades infecciosas en otras especies domésticas residentes en comunidades, así como también el control de tránsito de animales en las áreas protegidas del Perú (67, 68).

2.2.2 Comunidades nativas

En el Perú según el último Censo Nacional se ha permitido identificar geográfica y cartográficamente a 1 mil 786 comunidades indígenas, ubicadas en 11 departamentos, agrupadas en 60 etnias (69). Una de ellas, es la Comunidad Nativa de Infierno ubicada a ambos márgenes del río Tambopata, en el departamento de Madre de Dios. Tiene vía de acceso a dos importantes áreas naturales protegidas de la selva sur del Perú: Reserva Nacional Tambopata Candamo y el Parque Nacional Bahuaja Sonene (70). A pesar de llevar el nombre de “comunidad nativa” y estar oficialmente reconocida como tal, Infierno no sólo está integrada por indígenas (de la etnia *Ese'ejá*), sino también por población de origen ribereño, andino y mixto (71).

Como la mayoría de poblaciones amazónicas, los habitantes de Infierno practican una diversidad de estrategias económicas que incluyen diferentes combinaciones de

agricultura en bajo y altura, agroforestería, caza, pesca, recolección de castaña, extracción de palmito y aguaje, producción de carbón y crianza de animales, entre otros. Recientemente, el turismo y la artesanía se han convertido en actividades importantes para algunas familias (72)

2.2.3 Control veterinario

En este tipo de comunidades es poco frecuente o escaso acceder a algún control veterinario, esto es debido a su realidad socioeconómica y la lejanía a la Ciudad. Todo ello hace que la atención médica se vea truncada, adicional a esto no se cuentan con programas de desparasitación o vacunación como medicina preventiva.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Espacio y tiempo

El área de estudio fue la Comunidad Nativa Infierno, ubicada en el distrito y provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios. Esta comunidad tiene un extensión de terreno de 1 648,29 ha y fue fundada por nativos Ese'ejá (Anexo 5). Se encuentra a 1 hora vía terrestre de la Ciudad de Puerto Maldonado. La toma de las muestras fue realizada durante el mes de marzo de 2016. El análisis de las mismas se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos ubicada en la Ciudad de Lima.

3.2. Población y muestra

La investigación tuvo un muestreo no probabilístico por conveniencia. La comunidad tiene una población de 80 canes (censo realizado por CORBIDI) y, al visitar las casas e invitar a los dueños a participar en el estudio se contó con una muestra de 30 canes, 16 machos y 14 hembras, 15 adultos, 16 cachorros y un geronte. La categoría de edad se determinó según la edad que proporcionaban los dueños, cachorros desde el día uno hasta el mes catorce, adulto después del mes catorce de vida y geronte mayor a siete años (73).

3.3. Diseño de la investigación

Este estudio es de tipo no experimental descriptivo, se inició con la aceptación del proyecto y posterior coordinación con la comunidad. Una vez concluida esa etapa se realizó la visita a los domicilios para, después de un breve examen clínico, proceder a la sujeción de los canes con fines de obtener la muestra sanguínea. Las muestras fueron analizadas en el laboratorio mediante la prueba de aglutinación macroscópica y se obtuvieron las conclusiones pertinentes.

3.4. Equipos y procedimientos

Los materiales que se utilizaron para el desarrollo del presente proyecto de investigación se describen a continuación.

3.4.1. Equipos

a) Muestra biológica o unidad de análisis

- Suero sanguíneo

b) Sujeto de estudio

- Canes domésticos de la Comunidad Nativa Infierno.

c) Material de campo

Scrub, cooler, bolsa de hielo (Gel Pack), tubo al vacío de 3ml, jeringas de 3ml, agujas N° 21G x 1 ½", alcohol 96°, gradilla, guantes de nitrilo y fichas de examen clínico.

d) Material de laboratorio

Solución fisiológica tamponada, esterilizador y cepas representativas de todos los principales serogrupos (bratislava, canicola, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae, pomona)

e) Material de escritorio

- Papel bond A4, lapiceros, lápices, corrector líquido, regla y laptop.

f) Servicios

- Transporte
- Impresión
- Copias

g) Capital humano

- Investigador
- Asesores

3.4.2. Procedimientos

a) Autorización y permisos

- Se solicitó la aprobación del proyecto de Tesis por parte de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas.
- Se realizaron coordinaciones con el Presidente de la Comunidad para el ingreso y ejecución de las actividades necesarias para la realización del estudio.

b) Visita domicilio

- Se realizaron visitas a cada domicilio de la comunidad, en busca de pobladores con canes que estén dispuestos a participar en el estudio de manera voluntaria.

- A los participantes del estudio, se le realizó una pequeña entrevista para obtener información sobre el can o los canes que poseía, así como su actividad, entre otros (Anexo 8).
- c) Examen clínico
- Se realizó un breve examen clínico con el fin de evaluar el estado de salud de los canes del estudio, llenado los datos en una ficha de examen clínico. Las principales observaciones se detallaron en un cuadro (Anexo 9).
- d) Toma y envió de la muestra sanguínea
- Se realizó una correcta sujeción de cada can, con la ayuda de un asistente.
 - Las muestras se obtuvieron mediante punción de la vena cefálica.
- Una vez extraídas las muestras se depositaron en un tubo Vacutainer estéril sin anticoagulante, se rotularon con el número de identificación del canino y se trasladaron refrigeradas al laboratorio, luego de su coagulación fueron centrifugadas durante 5 min a 3.500 rpm. Los sueros obtenidos se congelaron a -20°C hasta el momento de su análisis.
- e) Análisis de la muestra
- Las muestras de los 30 sueros fueron analizadas mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para detectar la presencia de anticuerpos específicos o contra serovares de *Leptospira* (*Bratislava*, *canicola*, *grippothyphosa*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona*) en el laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
 - La prueba de Aglutinación Microscópica (MAT), ha sido estandarizada por la OIE con el siguiente procedimiento:

- Las leptospiras se cultivan en tubos con 5 ml del medio de cultivo líquido específico para leptospiras, el Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), a 28 °C durante 4-8 días.
- Se evalúa el crecimiento de cada serovar hasta obtener una cantidad de 1 a 2 x10⁸ leptospiras/ml, equivalente a una transmitancia de 60-70% utilizando un filtro de 400 nm (Espectofotómetro UNICOTM).
- Luego se evalúa la viabilidad celular (movilidad) y la ausencia de contaminación, utilizando un microscopio de campo oscuro (74).
- Los tubos con un adecuado crecimiento se mantienen a temperatura ambiente hasta su uso en la prueba de MAT.
- Los serotipos a utilizar son: Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae y Pomona.
- Diluir las muestras en microplacas con solución salina fisiológica (CINa 0.85%) para evaluar títulos de 1/25, 1/50, 1/100 frente a antígenos vivos de leptospiras.
- Incubar a 28 °C en oscuridad por 2 h, los sueros con aglutinación no menor del 50% de las leptospiras (comparadas con el antígeno control) se consideran seropositivos o serorreactivos al respectivo título o dilución (60). Colocar el suero a estudiar con leptospiras cultivadas.
- Se detecta los anticuerpos por medio de microaglutinación usando un microscopio de campo oscuro (Anexo 6).

f) Análisis de los resultados

- Las muestras reactivas a un título igual o mayor de 1/100 a determinado serovar y de su respectivo serogrupo de *Leptospira* se consideran como positivas (13). Las muestras reactivas a dos serogrupos con títulos iguales se consideran como coaglutinaciones (75).

- Los resultados obtenidos se llenaron en una ficha de resultados. Para luego obtener las principales conclusiones.

3.5 Diseño estadístico

Se realizó un análisis porcentual de los individuos positivos para hallar los serogrupos de leptospira presentes, siguiendo la siguiente fórmula:

$$\text{Frecuencia (\%)} = \frac{\text{Número de caninos positivos} \times 100}{\text{Número total de caninos}}$$

Además, se obtuvo los intervalos de confianza con un 95% de confiabilidad utilizando el programa estadístico SPSS v.21 2012 IBM®.

IV. RESULTADOS

De los 30 canes analizados para los cinco serovares de *Leptospira* spp. Bratislava, canicola, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae, Pomona, se encontró un 56,66% (17/30) de animales positivos (Cuadro 1), Algunos de los 17 canes seropositivos reaccionaron a más de un serovar analizado, siendo el más frecuente el serovar Bratislava 40%, no habiéndose encontrado canes reactivos para Pomona (0%) (Ver anexo 7)

Cuadro 1. Frecuencia de serovares de *Leptospira* spp. en canes domésticos de la Comunidad Nativa Infierno en la región de Madre de Dios (n=30)

Serovares de <i>Leptospira</i> spp.	Número de animales positivos	Frecuencia (%)	± IC 95%
Bratislava	12/30	40,00	18,61
Canicola	4/30	13,33	12,91
Grippotyphosa	5/30	16,67	14,15
Icterohaemorrhagiae	3/30	10,00	11,39
Pomona	0/30	0	-

Los machos tuvieron mayor prevalencia (62,65%) que las hembras (50,00%), dentro de los serovares más frecuentes se observó Bratislava y menos frecuente icterohaemorrhagiae (Cuadro 2).

Cuadro 2. Frecuencia de *Leptospira* spp. en canes domésticos machos y hembras de la Comunidad Nativa Infierno en la región de Madre de Dios (n=30)

Sexo	n	Animales positivos	Frecuencia (%)	± IC 95%
Hembra	14	7	50,00	29,96
Macho	16	10	62,65	26,64
Total	30	17	56,66	18,81

Además, los canes adultos (62,50%) tuvieron una mayor prevalencia con respecto a los cachorros (46,16%) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Frecuencia de serovares de *Leptospira* spp. en canes domésticos según el grupo etario de la Comunidad Nativa Infierno en la región de Madre de Dios (n=30)

Grupo etario	N	Animales positivos	Frecuencia (%)	± IC 95%
Cachorros	16	10	46,16	31,35
Adultos	13	6	62,50	26,64
Geronte	1	1	100,00	-

V. DISCUSIÓN

Según la bibliografía consultada, solo un estudio se ha llevado a cabo en el departamento de Madre de Dios, el cual demostró la presencia de *Leptospira interrogans* en canes de 5 localidades ubicadas en la provincia de Manu (8). En nuestro país, los estudios de seroprevalencia de *Leptospira* en canes domésticos son escasos, el presente estudio es el primero que se realiza en una comunidad nativa no existiendo alguno realizado en comunidades nativas. La mayoría han sido realizados en poblaciones con sintomatología sospechosa o con confirmación de leptospirosis posteriores en el lugar.

En este estudio se encontró que el 56,66% (17/30) de las muestras fueron positivas, similar a lo reportado por otros autores que evidencian la presencia de *Leptospira* spp. en canes, como lo descrito por Céspedes y col. (2002) con 66,6% (18/27) en el departamento de Madre de Dios (8), Céspedes y col. (2004) con 52,2 % (181/374) en el departamento de Ucayali (77) y Siuce y col. (2015) con 58,0% (177/305) en el departamento de Lima (37). Internacionalmente, se reportan prevalencias menores a lo hallado en el Perú, como lo descrito en Brasil desde 8,95% (17/190) (32) hasta el 10,5 % (62/590) (36) y en Chile que se halló una prevalencia de 21,34% (85/400) (34). Las similitudes encontradas pueden deberse a diversos factores como el estado de salud de los animales en estudio, cantidad de serogrupos estudiados, la época del año y diversos factores de riesgo (contacto con roedores, nivel alcantarillado, manejo de residuos sólidos, entre otros) (75).

El estudio llevado a cabo en Madre de Dios investigaba un brote febril en humanos en el mes de mayo de 2002, por lo que estudiaron a la población posiblemente en riesgo

incluyendo los canes domésticos, utilizando como pruebas diagnósticas la técnica de ELISA (IgM) y MAT (8). Similar al estudio llevado a cabo en Lima, en el que se incluyó también una población en riesgo, en este caso solamente canes con diagnóstico presuntivo de *Leptospira* (37). Es posible que debido a este escenario los canes podrían tener mayor posibilidad de resultar positivos a *Leptospira* y evidenciar la prevalencia observada; sin embargo, en este estudio los animales no presentaron sintomatología aparente tras un examen clínico pero mostraron similar prevalencia.

En la mayoría de los estudios mencionados, se ha empleado para el diagnóstico de los canes la prueba de MAT, ya que es considerado el método serológico definitivo por su alta especificidad al diagnosticar el serovar infectante (5). En esta prueba el resultado positivo se evidencia con la aglutinación a una titulación mayor o igual a 1/100.

Los resultados del estudio coinciden con lo reportado por otros autores en canes, teniendo en cuenta además que en canes domésticos se reporta principalmente los serovares *australis*, *bataviae*, *canicola* e *icterohaemorrhagiae* (8, 31, 37).

La prevalencia del serovar *bratislava* en este estudio (40,0%) fue mucho mayor a lo descrito para la Ciudad de Lima donde se halló el serogrupo *australis* (serovar *bratislava*) en un 4,2% (37). Este serovar ha sido reportado en la mayoría de casos en humanos en la amazonia, como lo observado en población asintomática en Ucayali donde se halló que el 38,60% (44/364) fue positivo (76). En Madre de Dios, al estudiar pobladores con antecedentes febriles se encontró que el 15,38% (4/26) fueron positivos, como en el caso de los canes en el que se reportó 22,3% para los serovares *javanica*, *bratislava*, *tarassovi*, *autumnalis* y *canicola*. La seropositividad de los canes sugiere que estos podrían ser potenciales diseminadores de leptospirosis en estas poblaciones, ya que actuarían como intermediarios entre los reservorios naturales (roedores y marsupiales silvestres) y el

hombre. Esto se podría confirmar a través de aislamientos de leptospiras en humanos y caninos para poder relacionarlos genéticamente (8).

En el presente estudio se hallaron canes positivos al serovar canicola (13,33%), similar prevalencia hallada en la ciudad de Lima de 12,1% (37/305) (37), pero menor a lo reportado en la amazonia peruana como lo descrito en Madre de Dios (22,33%, 6/27) (8) y Ucayali (33,7%, 61/181) (76). Este serovar ha sido relacionado con los principales reservorios domésticos como el cerdo, los perros y los bovinos, y entre los silvestres, la rata de los desagües, la rata espinosa y los marsupiales en la selva (6, 8)

La frecuencia hallada para el serovar icterohaemorrhagiae en este estudio fue de 10,00% (3/30), mayor a lo reportado en la Ciudad de Lima (4,3%, 13/305) (37), pero menor a lo descrito en Ucayali (25,97%, 47 /181) (76). Este serovar ha sido relacionado con ratas , las que según las encuestas realizadas están presentes dentro de las casas de los pobladores de la Comunidad Nativa Ese Eja de Infierno. Adicional a ello, un punto importante encontrado fue la eliminación de basura en el campo, esto se da en su mayoría por medio de recolectores, quienes se encargan de eliminarla en los botaderos, los cuales están infestados de roedores y otros mamíferos, esto ocasionaría que constantemente se contaminen estas áreas con leptospiras. Lo cual podría sugerir que la elevada seroprevalencia de infección por leptospiras se explicaría por la exposición a roedores y marsupiales silvestres en áreas donde las personas trabajan, descansan y frecuentan (37).

El serovar grippotyphosa fue hallada en este estudio en un 16,67% (5/30) de los canes analizados, mayor a lo descrito en la Ciudad de Lima (0,7%) (37). Este serovar ha sido relacionado al ganado vacuno y a las fuentes de agua en las regiones tropicales, de las cuales se han aislado serovares patógenos (23).

Ninguno de los canes analizados en este estudio fue positivo al serovar pomona, similar a lo hallado en el departamento Ucayali donde no se hallaron canes positivos (76); sin embargo, en la ciudad de Lima se describen en un porcentaje bajo (3,9%) (22). Este serovar está relacionado con las ciudades urbanas como lo observado en Estados Unidos en los últimos 20 años (57, 77; 78), lo cual podría explicar lo hallado en este estudio.

En la infección de Leptospirosis se ha demostrado que el aumento del caudal del río, que ocasionan inundaciones y aislamiento de localidades, podría incrementar el número de casos confirmados en las poblaciones (79). Es por ello que para el presente estudio se diseñó el muestreo durante la época húmeda, sin embargo debido al Fenómeno “El Niño” la intensidad de las lluvias disminuyó hasta finalizar el mes de marzo, donde se presentaron inundaciones, posterior a la toma de muestra, a pesar de esto no se evidenció mayores contratiempos en cuanto a la prevalencia, al igual que el estudio realizado por Céspedes y col. (2003) que se hizo durante el mes de mayo, época seca del departamento y a pesar de esto se evidenció una alta prevalencia (8).

Además, se ha demostrado que el contacto con roedores, principal reservorio, por ser considerados como uno de los de mayor riesgo para la transmisión de leptospiras a los seres humanos (79). En el presente estudio tanto como en el realizado por Céspedes y col., en Madre de Dios, están rodeados de bosque naturales principalmente secundarios, por lo que se presume una abundancia de roedores que mantendrían contacto cercano con los pobladores y canes.

Así mismo, según Céspedes y col. (2003) encontraron una correlación de presencia de *Leptospira* con pobladores que guardan los alimentos (cosecha) dentro del hogar, dado que los roedores ingresan a las viviendas por aberturas en paredes y techos en busca de alimentos que pueden estar guardados no cubiertos o dentro de envases,

contaminándolos con su orina (8, 43). Las viviendas de los pobladores de la Comunidad Nativa Infierno, eran construcciones a base de madera y techos de calamina, además guardan ciertos insumos dentro de la vivienda, lo cual podría favorecer el ingreso de los roedores a la vivienda.

En lo que respecta a las encuestas realizadas a los dueños de los canes domésticos de la comunidad nativa Infierno en la región de Madre de Dios, estos manifestaron que en su mayoría los canes tenían hábito de vagabundeo y contacto con otros animales, en especial los que acompañan en las actividades extractivas a sus dueños, conocidos como mitayeros, de los cuales solo el can identificado con el código INF- 02 resultó con titulación 1/100 al serovar Bratislava. Adicional a esto en el examen clínico se observó aumento de tamaño de los ganglios submandibular y poplíteos, lesiones cutáneas en codo, cara y pabellón auricular, además de presencia de parásitos externos (pulgas).

De los animales analizados algunos resultaron positivos a dos o más serovares, como es el caso de los canes identificados con los códigos INF-25 e INF-29 en los que se hallaron títulos de 1/100 para los serovares Bratislava y grippotyphosa, adicional a estos serovares en el caso del último can se encontró también titulación positiva para el serovar icterohaemorrhagiae, cabe resaltar que en las observaciones del examen clínico este último can presenta aproximadamente 50 días de gestación y parásitos externos (piojos).

En el caso de los canes identificados con los códigos INF-42 e INF-51, se obtuvieron títulos de 1/100 para los serovares Bratislava y canicola, en el primer can a la inspección se observó abundante descarga ocular, el segundo can presentaba también título positivo (1/100) para el serovar grippotyphosa, este can era el único geronte (10 años), por lo cual se observó en el examen clínico alopecia e hiperqueratosis principalmente a la altura de la rótula y en el pabellón auricular.

Además, es conocido que los canes son una fuente importante para la infección humana en muchos países tropicales y puede ser una fuente importante para el inicio de brote epidémico. Adicional a esto se sabe que durante la década pasada, la Leptospirosis evidenció un comportamiento endémico con brotes esporádicos, usualmente con una exposición común con agua contaminada, principalmente en las regiones de Loreto, Ucayali, Madre de Dios, Cusco, Ayacucho y Lima (80). Por lo que, sería necesario estudios en los pobladores y canes de la comunidad en diferentes épocas del año, así como el estudio de brotes en el caso los hubiera.

Los machos tuvieron mayor prevalencia (62,65%) que las hembras (50,00%), dentro de los serovares más frecuentes se observó Bratislava y menos frecuente icterohaemorrhagiae, similar a lo reportado por Siuce y col. en donde los perros machos tuvieron mayor porcentaje de seropositividad (64.4%) que las hembras (35,6%) (37).

Además, los canes adultos (62,50%) tuvieron una mayor prevalencia con respecto a los cachorros (46,16%) al igual que lo reportado por Siuce y col. en donde se presentó mayor seropositividad en perros con 4 a 11 años de edad (59.3%). La determinación de la edad y el sexo como factores de riesgo para la infección con leptospiras ha sido observado por quienes, además, consideran que el tamaño del perro es otro factor de riesgo en caninos. Esto se explicaría por la mayor exposición de los perros adultos, machos y de mayor tamaño que tienen mayor acceso a la calle que perros jóvenes, hembras (para evitar la preñez) y pequeños (81)

VI. CONCLUSIONES

- Las infecciones de *Leptospira* spp en los canes domésticos de la comunidad nativa Ese Eja de Infierno son causadas por 4 de los 5 serovares de *Leptospira* spp., y presentan una frecuencia del 56,67%, hallándose una frecuencia de 40% bratislava, 13,33% canícola, 16,67% grippotyphosa, 10,0% icterohaemorrhagiae y 0% Pomona.
- Los machos tuvieron mayor prevalencia (62,65%) que las hembras (50,00%), dentro de los serovares más frecuentes se observó Bratislava y menos frecuente icterohaemorrhagiae. Además, los canes adultos (62,50%) tuvieron una mayor prevalencia con respecto a los cachorros (46,16%)
- El presente estudio constituye el primer reporte de la zona y el hecho que se haya obtenido seropositividad a *Leptospira* reafirma su presencia, lo que indicaría que tanto roedores como canes han estado en contacto con la bacteria, pudiendo constituirse en fuente de su diseminación.

VII. RECOMENDACIONES

- Determinar o evaluar la presencia de otros serovares en la población de caninos, además de los factores de riesgo relacionados con la infección por leptospiras, como el contacto directo con las orina, abrasiones, cortes en la piel, que nos permitan entender esta enfermedad en todo su contexto en esta zona del Perú.
- Es importante establecer las zonas donde se podrían producir los casos, esto en gran parte serviría para que el tratamiento se inicie rápidamente en los pacientes. Sin embargo, es necesario mencionar que el diagnóstico y tratamiento deberán ser sostenibles en el tiempo para que sea accesible a las poblaciones más deprimidas que sufren el problema.
- Estos resultados nos sugieren continuar con este tipo de estudios aplicándolo a otras zonas del país con la finalidad de obtener un mapa actualizado de la presencia de *Leptospiras* en el Perú.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Hartskeerl R, Smits H, Korver H, Terpstra W. Internacional course on laboratory methods for diagnosis of Leptospirosis. The Netherlands: Royal Tropical Institute Department of Biomedical Research; 2001.
2. Correa M, Veronesi R, De Brito T. Leptospirosis. 7a ed. Brazil: Editorial Guanabara; 1987; p. 573- 92.
3. Carrada-Bravo T. Leptospirosis humana: historia natural, diagnóstico y tratamiento. Rev Mex Patol Clin 2005; 52 (4): 246-56.
4. Acha P, B Szyfres. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3a ed. O.P.S., Washington DC, EE.UU. pp 175-185.
5. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14(2): 296- 326
6. Liceras J, Valdivia S. Higuchi E. Leptospirosis en el Perú. En: Anales Seminario Nacional Zoonosis y Enfermedad de Transmisión Alimentaria. 1989. pp. 7-20.
7. Silva R F y Riedemann S. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. Arch med vet, 2007. 39(3):269-274. ISSN 0301-732X.
8. Céspedes M. et al. Prevalencia de Leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la provincia del Manú Madre de Dios, Perú. Rev Perú Med Exp Salud Publ 2003; 20(4):180-184.
9. Vinetz JM. Leptospirosis. Curr Opin Infect Dis 2001; 14(5): 527-38.
10. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Mathias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis 2003; 3 (12): 757- 71
11. Conservación Internacional Perú. Zona reservada de Tambopata Candamo (Madre de Dios- Puno) Perú. Noviembre 1999: p.20.
12. Farrow W. Leptospirosis Clinical Infectious Disease 1995; 21: 1-8.

13. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and Leptospirosis 2 a ed. Melbourne: Medisci; 1999.
14. Plank R, Dean D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. In humans. *Microbes Infect* 2000. 2(10):1265-76.
15. Agudelo Piedad, Restrepo Marcos, Moreno Natali. Diagnóstico de leptospirosis de muestras de sangre y cultivo por observación en microscopio de campo oscuro. *Revista biomédica*, 2008. 29(1):7-9.
16. Dammert Nicole. (2005). Leptospirosis: una revisión bibliográfica. Recuperado el 25 de Abril de 2016, de <http://www.sapuvetnet.org/antigo/pdf%/20files/monografia-leptospira.pdf>
17. Bunnell JE, Hice CL, Watts DM, Montrueil V, Tesh RB, Vinetz JM. 2000. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *Am J Trop Med Hyg* 63: 255- 258.
18. Mendoza AP. 2004. Presencia de anticuerpos contra leptospira sp. En Sajinos (*Tayassu tajacu*) mantenidos en cautiverio en la amazonia peruana. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 64 p.
19. Muñoz K, Cornejo C, Rivera H. 2000. Anticuerpos contra leptospira en capibaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de un zocriadero de la Amazonía Peruana. *Rev Inv Vet, Perú* 11(2): 167-169.
20. Cueva A, Rivera G, Sánchez P. Incidencia de infección por *leptospira* sp. en ronsocos (*hydrochoerus hydrochaeris*) en cautiverio en un zocriadero de Iquitos. *Rev Inv Vet Perú* 2010; 21 (1): 106-112.
21. Sacsquispe C, Glenny A, Céspedes Z. Estudio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en salitral, piura -1999. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2003; 20 (1).
22. Rodríguez I. El concepto serovar en leptospira. *Redvet* 2011. 12(7):1-4.
23. Céspedes Z. Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente. *Rev. Perú. Med. Exp. salud pública*, 2005. 22(4):290-307.
24. Mathias MA, Levett PN. Leptospiral carriage by mice and moongooses on th island of Barbados. *West Indian Med J* 2002; 5 (1):10-13.

25. Alexander AD, Benenson As, Byrne RJ, Diaz- Rivera RS, Evans LB, Gochenour WS, et al. Leptospirosis in Puerto Rico. *Zoonoses Res* 1963; 2(3); 152- 227.
26. Suizer C. Leptospiral serotype distribution lists according to host and geographic area July 1966 to July 1973. Atlanta: U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1975.
27. Everard CO, Green AE, Glosser JW. Leptospirosis in Trinidad and Grenada, with special reference to the mongoose. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1976; 70 (1): 57- 61
28. Ellis WA, O'Brien JJ, Cassells J. Role of cattle in the maintenance of *Leptospira interrogans* serotype hardjo infection in Northern Ireland. *Vet Rec* 1981; 108(26): 555- 57.
29. World Organization for Animal Health.(2005). Leptospirosis. Recuperado el 25 de abril de 2016, de <http://www.oie.int/>.
30. Alfaro C y Aranguren A. (2004). Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis como fundamentos para el diseño de estrategias de control. *Revista digital CENIAP hoy*, N° 6, p. 2-3. Recuperado el 20 de mayo de 2016, de <http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6>
31. Céspedes M. et al. Situación de la Leptospirosis en el Perú.1994-2004. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2006; 23(1): 63
32. Clebert J, Inácio J, de Freitas O, Diógenes F, Arruda V, Macedo M. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospira em cães de caça na Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*; 2014. 11:2
33. García M, Herrera G, Pérez V, Castillo S, Kestler O. Seroprevalencia de leptospirosis humana en un asentamiento del área urbana de la ciudad de Guatemala. *Rev Cubana Med Trop* . 2013. 65 (2):166-176.
34. Tuemmers C, Lüders C, Rojas C, Serrj M, Espinoza R, Castillo C. Prevalencia de leptospirosis en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, 2011. *Rev. chil. Infectol* 2013. 30 (3): 252-257.
35. Alvarez L.; Calderon, A.; Rodriguez, V., Arrieta, G. Seroprevalencia de leptospirosis canina en una comunidad rural del municipio de ciénaga de oro, Córdoba (Colombia). 2011. 14(2):75-81. ISSN 0123-4226

36. Darela B, Roosevelt T, Santos da Silva O. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2005. 21(6):1952-1956.
37. Siuce M, Calle S, Pinto G, Pacheco G, Salvatierra G, et al. Identificación de serogrupos patógenos de *Leptospira* en canes domésticos. Rev. investing. vet. Perú. 2015. 26(4): 664-675.
38. James A. Platts-Mills, Patrick LaRochelle, Kalina Campos, Joseph M. Vinetz, Eduardo Gotuzzo, Jessica N. Ricaldi. Seroprevalencia de leptospirosis en puente piedra, lima en el año 2006. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2011; 28(2): 273-6.
39. Michael A. Matthias, Jessica N. Ricaldi, Manuel Cespedes, M. Monica Diaz, Renee L. Galloway, Mayuko Saito, Arnold G. Steigerwalt, Kailash P. Patra, Carlos Vidal Ore, Eduardo Gotuzzo, Robert H. Gilman, Paul N. Levett, Joseph M. Vinetz. Human Leptospirosis Caused by a New, Antigenically Unique *Leptospira* Associated with a *Rattus* Specie Reservoir in the Peruvian Amazon.
40. Johnson MA, Smith H, Joeph P, Gilman RH, BautistaCT, et al. Enviromental exposure and Leptospirosis, Perú. Emerg Infect Dis 2004; 10(6): 1016.
41. Alarcón-Villaverde J, Romani-Romani F, Tejada R, Wong-Chero P, Céspedes Z. Seroprevalencia de leptospirosis y características asociadas en agricultores de arroz de una región tropical del Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014; 31(2): 195-203.
42. Waitkins SA. Leptospirosis as an occupational disease. Br J Ind Med 1986; 43(11): 721-25.
43. Campagnolo ER, Warwick MC, Marx HL, Jr., Cowart RP, Donnell HD, Jr., Bajani MD, et al. Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans exposed to infected swine. J Am Vet Med Assoc 2000; 216(5): 676-82.
44. Cacciapuoti B; Ciceroni L, Maffei C, Di Stanislao F, Strusi P; Calegari L, et al. A waterborne outbreak of Leptospirosis. Am J Epidemiol 1987; 126(3): 535-45.
45. Feigin RD, Lobes LA, Jr., Anderson D, Pickering L. Human Leptospirosis from immunized dogs. Ann Intern Med 1973; 79 (6): 777-85.

46. Ettinger, J, Stephen; C, Edward; Feldman. 2007. Tratado de medicina interna veterinaria; España: Elsevier
47. Linzitto Or, Orellana J.S. (2008). Leptospirosis clínica humana y animal. Revista de enfermedades infecciosas emergentes, Vol. 3, N°2, p 15-19. Fuente académica EBSCO Host.
48. Zunino E, Pizarro R. Leptospirosis puesta al día. Rev Chil Infectol, 2007. 24(3): 220-226.
49. Bandeira T, Abensur D, Stambovsky A. Renal involvement in leptospirosis-new insights into pathophysiology and treatment. Braz J Infect Dis, 2008. 12(3):248-252.
50. Abdulkader R, Silva M. The Kidney in leptospirosis. Nephrology review, 2008. 2(23):2111-2120.
51. Dolhnikoff M, Mauad T, Ribeiro C. Pathology and Pathophysiology of Pulmonary manifestations in leptospirosis. Braz J Infect Dis, 2007. 2(1):142-148.
52. Gamarra R. Leptospirosis revisión bibliográfica. Maestría en salud animal. Universidad Nacional mayor de San Marcos, Peru. 2009
53. Reyes G, Borrero R, Moya A, Padrón M, Acosta M, Cabrera R, García L. (2007). Detección de proteínas de adhesión a fibronectina y colágeno presentes en leptospira *interrogans* serovar *canícola*. Recuperado el 25 de mayo de 2016, de <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/2034/203414602001.pdf>
54. Luna A. La leptospirosis canina y su problemática en México. Rev Sal Ani, 2008. 30(1):1-11.
55. Moore G, Guptill L y Glickman N. Canine leptospirosis, United States, 2002–2004. Emerg infect Dis, 2006. 12(3):501-503.
56. Mcdonough, P.L. (2006). Leptospirosis in dogs: current. Recuperado el 25 de mayo de 2016, de [http://www.ivis.org/advances/infectdiscarmichael/Mcdonough es/ivis.pdf](http://www.ivis.org/advances/infectdiscarmichael/Mcdonough/es/ivis.pdf)
57. Greene, Craig. Enfermedades infecciosas del perro y el gato. Georgia: Saunders Elsevier. 2008
58. Garnica S. Revisión bibliográfica del diagnóstico de la leptospirosis canina Tesis de maestría publicada. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacan Mexico. 2010

59. Trevejo R, Rigau-Pérez J, Ashford D, Mc Clure E, Jarquin-Gonzales C, Amador J, et al. Epidemic Leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage. Nicaragua, 1995. *J Infect Dis* 1998; 178: 1457-63.
60. Lomar A, Diament D, Torres J. Leptospirosis in Latin America. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14: 23-39.
61. García RL, Machado H, Abeledo Ma A, Feraud D. Utilización de una técnica serológica rápida para el diagnóstico de la leptospirosis canina. *REDVET* 2009; 10 (7): 1-9.
62. Adler, B., Murphy, A.M., Locarnini, S.A., Faine, S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 11: 452-457, 1980.
63. Terpstra, W.J., Ligthart, G.S., Schoone, G.J. Serodiagnosis of human leptospirosis by enzyme-linked immunosorbent-assay (ELISA). *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten I. Abteilung Originale*, A 247:400-405, 1980.
64. Sánchez G, Alba C, y Rodríguez V. Leptospirosis: Enfermedad Endémica en Caninos de Áreas Rurales de Montería (Córdoba). *Revista Orinoquia*, 2010. 14(2):160-167.
65. Plank R, Dean D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. In humans. *Microbes Infect* 2000: 1265-76.
66. Ananda, K. J., Suryananarayana, T., Prathiush, P. R. and Sharada, and R. and Placid E. Dsouza. "Diagnosis and treatment of Leptospirosis in a dog - A Case report." *Veterinary World*, 2008. 1(9):278-279.
67. Acosta J. Demografía de las poblaciones de perros en Chile y su impacto en la transmisión de patógenos a carnívoros silvestres. En: Libro de resumen: II Simposio en medicina de la conservación, Chile; 2011.p.10.
68. Leite-Pitman R, Nieto F, Davenport L. Amenaza de enfermedades epidémicas a los carnívoros silvestres en la amazonia peruana. En: Leite-Pitman R, Pitman N, Alvarez P. Alto Purús: Biodiversidad, Conservacion y Manejo. Lima: Center for Tropical Conservation; 2003. p. 227-229.
69. Perú: Análisis Etnosociodemográfico de las Comunidades Nativas de la Amazonía, 1993 y 2007. INEI. Perú. 2007.

70. Ministerio de agricultura. Proyecto: gestión forestal sostenible y aprovechamiento de los servicios ecosistémicos en los bosques administrados por la Comunidad Nativa Ese Eja de Infierno, Perú. Puerto Maldonado: Ministerio de Agricultura; 201.
71. García A. y E. Barriga *Investigación socioecológica de las comunidades ese'eja: Informe Infierno*, Puerto Maldonado. 1994 CENTRO EORI/CESVI-INDA.
72. Stronza, A. 2000 "Because it is ours": community-based ecotourism in the Peruvian Amazon, Ph.D. dissertation, University of Florida, Gainesville. 2000.
73. Duque M, Gaviria A. Revisión bibliográfica. Alimentación general y especializada para mascotas en una empresa productora de alimentos balanceados para animales. Corporación Universitaria Lasallista. 2006
74. [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2008. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Rio de Janeiro: OMS-OPS. 127 p.
75. [OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2014. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. Cap. 2.1.9 Leptospirosis. Paris: OIE. [Internet]. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>
76. Céspedes Z, Fernández C, Rimarachín R. Leptospirosis: una enfermedad zoonótica hiperendémica en la provincia de coronel portillo Ucayali, Perú. *Rev peru med exp salud publica* 21(2), 2004
77. Ward MP, Guptill LF, Wu CC. 2004. Evaluation of environmental risk factors for leptospirosis in dogs: 36 cases (1997- 2002). *J Am Vet Med Assoc* 225: 72-77.doi: 10.2460/javma.2004.225.72
78. Dirección General de Epidemiología N° 417 Bol. Epidemiol. (Del 24 al 30 de Mayo del 2015) Volumen 24 – Semana Epidemiológica N° 21
79. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología. Oficina de Comunicación e Información. Agua. Nota de prensa. 28 de abril de 2009. Recuperado el 28 de mayo de 2016, de <http://www.senamhi.gob.pe/?p=0360&idNota=090428>.
http://www.senamhi.gob.pe/?p=1500&idNota=02_120224_30

80. Conservación Internacional Perú. Zona reservada de Tambopata Candamo (Madre de Dios- Puno) Perú. Noviembre 1999: p.20.
81. Huerta C. Chilón V, Díaz D. 2013. Estudio de caso-control para evaluar factores de riesgo en la presentación de leptospirosis canina en la ciudad de Lima. Rev Inv Vet Perú 24: 111-117. doi: 10.15381/rivep.v24i1.1674

ANEXOS

ANEXO 1

Especie	Serogrupo	Serovar	Cepa de referencia
Leptospiras patógenas			
<i>L. interrogans</i>	<i>Australis</i>	<i>Australis</i>	Ballico
	<i>Australis</i>	Bratislava	Jez Bratislava
	<i>Bataviae</i>	<i>Bataviae</i>	Van Tienen
	<i>Canicola</i>	<i>Canicola</i>	Hond Utrecht IV
	<i>Hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis</i>	Hebdomadis
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	RGA
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Copenhageni	M 20
	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Lai	Lai
	<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>	Pomona
	<i>Pyrogenes</i>	<i>Pyrogenes</i>	Salinem
<i>Sejroe</i>	Hardjo	Hardjoprajitno	
<i>L. alexanderi</i>	<i>Manhao</i>	Manhao3	L 60
<i>L. fainei</i>	<i>Hurstbridge</i>	Hurstbridge	BUT 6
<i>L. inadai</i>	Lyme	Lyme	10
<i>L. kirschneri</i> *	<i>Autumnalis</i>	Bim	1051
	<i>Cynopteri</i>	<i>Cynopteri</i>	3522 C
	<i>Grippityphosa</i>	<i>Grippityphosa</i>	Moskva V
	<i>Pomona</i>	Mozdok	5621
<i>L. meyeri</i>	<i>Semarang</i>	Semarang	Velrad Semarang 173
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Ballum</i>	<i>Ballum</i>	Mus 127
	<i>Ballum</i>	Castellonis	Castellon 3
	<i>Javanica</i>	<i>Javanica</i>	Veldrat Bat 46
	<i>Sejroe</i>	<i>Sejroe</i>	M 84
	<i>Tarassovi</i>	<i>Tarassovi</i>	Perepidilin
<i>L. weillii</i>	<i>Celledoni</i>	<i>Celledoni</i>	Celledoni
<i>L. noguchii</i>	<i>Autumnalis</i>	Fortbragg	Fort Bragg
	<i>Panama</i>	<i>Panama</i>	CZ 214 K
<i>L. santarosai</i>	<i>Bataviae</i>	Brasiliensis	An 776
	<i>Mini</i>	Georgia	LT 117
Genomospecies 1	<i>Ranarum</i>	Pingchang	80- 412
Genomospecies 4	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Hualin	LT 11 -33
Genomospecies 5	<i>Semarang</i>	Saopaulo	Sao Paulo
Leptospiras saprófitas			
Genomospecies 3	<i>Holland</i>	Holland	Waz Holland (P438)
<i>L. biflexa</i>	<i>Semarang</i>	Patoc	Patoc I
<i>L. wolbachii</i>	<i>Codice</i>	<i>Codice</i>	CDC

Figura 1: Clasificación de Leptospira

Fuente: Céspedes Z., 2005.

ANEXO 2

Reservorios	Serovar(s)
Cerdo	Pomona, Tarassovi
Vacuno	Hardjo, Pomona, Grippytyphosa
Caballo	Bratislava
Perro	Canicola
Oveja	Hardjo
Rata	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni
Ratón	Ballum, Arborea, Bim
Marsupiales	Grippytyphosa
Murciélago	Cynopteri, Wolffi

Figura 2: Reservorios Típicos y serovares de *Leptospira* encontrados
Fuente: Céspedes Z., 2005.

ANEXO 3

Cuadro 1. Estudios de Leptospiras a nivel nacional en canes domésticos.

Serovar	Positivo	Sacsquispe y col (2013)	Cespedes y col (2004)	Cespedes y col (2003)	Siuce y col (2015)
		Piura Ratas y canes	Ucayali Humanos y canes	Madre de Dios Humanos y canes	Lima Canes
Bratislava	40% (12 /30)			22,33%, (6/27)	4,6% (14/305)
Canicola	13,3% (4 /30)	33,3% (1/3)	33,7%, (67/181)	22,33% (6/27)	12,1% (37/305)
Grippothyphosa	16,67% (5 /30)				0,7% 2/305
Icterohaemorrhagiae	10% (3 /30)		25,97% (47/181)		4,3% 13/305
Pomona	0% (0 /30)				

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 4

Cuadro 2. Estudio de Leptospiras a nivel internacional en canes domésticos

Serovar	Positivo	Alve y col (2014)	Alvarez y col (2011)	Darela y col (2005)
		Paraiba- Brasil Perros de caza	Colombia Canes	Brasil Canes
Bratislava	40% (12 /30)	11,54%	1,43%, (1/70)	
Canicola	13,3% (4 /30)		10%, (7/70)	13,8%, (20/144)
Grippothyphosa	16,67% (5 /30)	7,69%	37,14%,(26/70)	12,5%, (18/144)
Icterohaemorrhagiae	10% (3/30)	7,69%	34,29%,(24/70)	12,5%, (18/144)
Pomona	0% (0 /30)		25,71%, 18/70	2,7%, 4/144

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 5

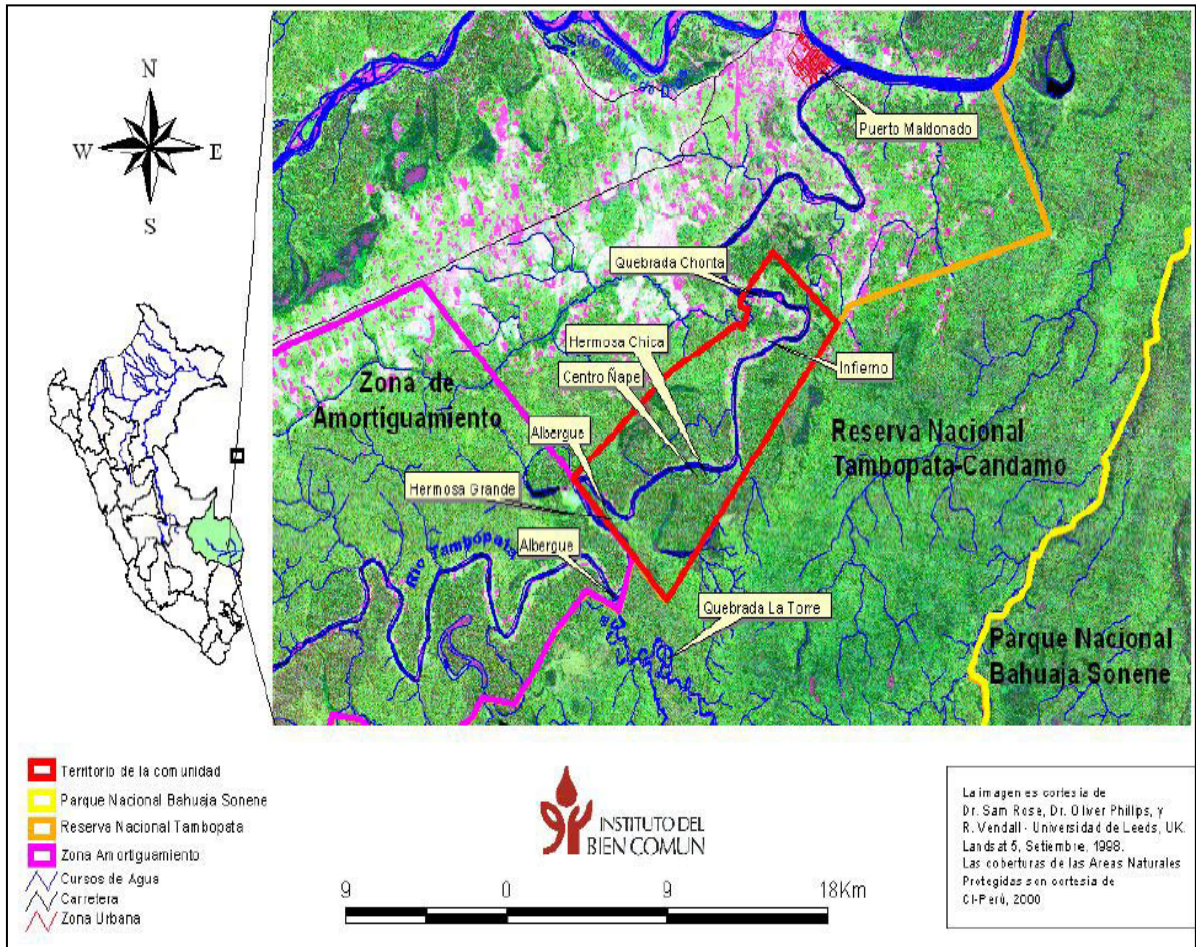


Figura 1: Ubicación de la Comunidad Nativa Infierno

Fuente: INSTITUTO DEL BIEN COMUN, 2002

ANEXO 6

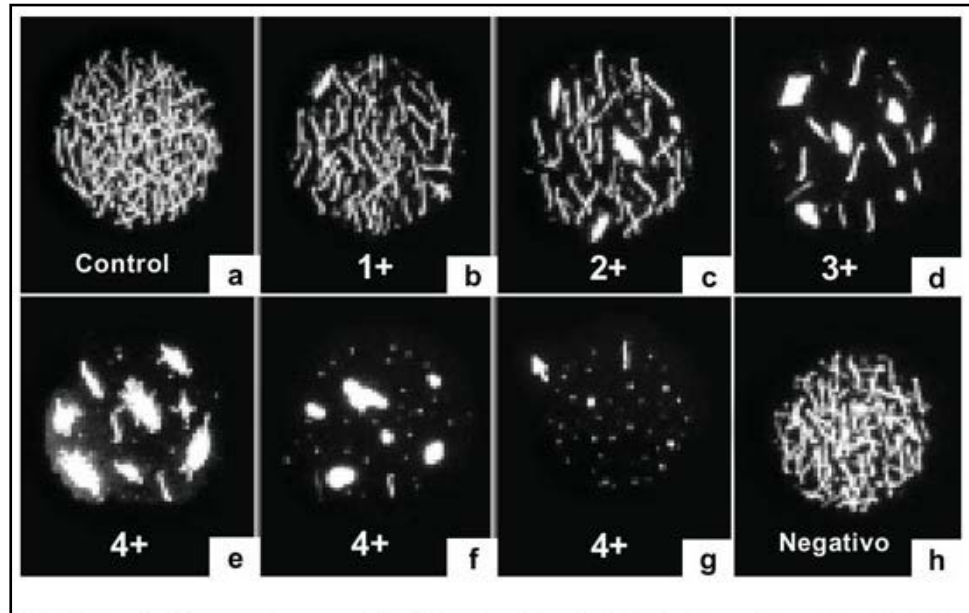


Figura 4: Reacciones de la prueba de microaglutinación
Fuente: Céspedes Z., 2005.

Anexo 7

N°	Código	Bratislava	Canicola	Grippotyphosa	Icterohaemorrhagiae	Pomona
1	INF-02	neg	neg	neg	neg	Neg
2	INF-10	1/100	neg	neg	neg	Neg
3	INF-13	1/100	neg	negi	neg	Neg
4	INF-15	neg	neg	neg	neg	Neg
5	INF-17	neg	neg	neg	1/100	Neg
6	INF-18	neg	neg	neg	neg	Neg
7	INF-21	1/200	neg	1/100	neg	neg
8	INF-22	neg	neg	neg	neg	neg
9	INF-24	neg	1/200	neg	neg	neg
10	INF-25	1/100	neg	1/100	neg	neg
11	INF-27	neg	neg	neg	neg	neg
12	INF-29	1/100	neg	1/100	1/100	neg
13	INF-30	neg	neg	neg	neg	neg
14	INF-31	1/100	neg	neg	neg	neg
15	INF-41	neg	neg	neg	neg	neg
16	INF-42	1/100	1/100	neg	neg	neg
17	INF-43	1/100	neg	neg	neg	neg
18	INF-45	neg	neg	neg	neg	neg
19	INF-46	neg	neg	neg	neg	neg
20	INF-47	1/100	neg	neg	neg	neg
21	INF-48	1/100	neg	neg	neg	neg
22	INF-49	neg	neg	neg	neg	neg
23	INF-50	1/200	neg	neg	neg	neg
24	INF-51	1/100	1/100	1/100	neg	neg
25	INF-54	neg	neg	neg	1/100	neg
26	INF-55	neg	neg	1/200	neg	neg
27	INF-59	neg	1/200	neg	neg	neg
28	INF-63	neg	neg	neg	neg	neg
29	INF-64	neg	neg	neg	neg	neg
30	INF-65	neg	neg	neg	neg	neg

Figura 6: Hoja de trabajo: registro de prueba de microaglutinación

Fuente: Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria

(Universidad Nacional Mayor de San Marcos)

Interpretación de análisis MAT: Negativo: 1/25- 1/50

Positivo: 1/100

ANEXO 8 Encuesta realizada a los dueños de los canes domésticos analizados de la Comunidad Nativa Infierno en la región de Madre de Dios (n=23).

N°	Propietario	N° de canes	N° gatos	Lugar donde pernocta	Vagabundo	Actividad del can			Descripción del lugar de vivienda				Eliminación de residuos sólidos al centro de acopio
						Contacto con otros animales	Historial de aborto	Contacto con agua y barro	Actividad	Material de vivienda	Presencia de roedores	Agua potable	
1	Juan Carlos Arimuya	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	1 can Mitayero	M + C	Si	No	1 vez/sem
2	Juan Lopez Quispe	4	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
3	Flora Guzman	1	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
4	Reyler Ruiz Rivas	1	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
5	Julia Diaz	4	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
6	Nilo Dejavisio	2	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	Quema de residuos
7	Natividad Pikicheche	8	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
8	Emma Pesha	3	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
9	Paola Dori Shu	3	0	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
10	Laureano Troncoso	2	0	Afuera	Si	Si	No	Si	1 can Mitayero	M + C	Si	No	1 vez/sem
11	Fiorella Aguirre	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
12	Elsa Sanchez	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	Noble	Si	No	1 vez/sem
13	Edith Durand	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	-
14	Cesar Perez	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
15	Luis Guzman	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
16	Jorge Malatesta	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
17	Anali Guzman	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
18	Sandy Mishaja	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
19	Milton Mishaja	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
20	Elsa Poje	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si		1 vez/sem
21	Lina Jsuisa	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
22	Enni Perdiz	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	1 vez/sem
23	Flora Sehue Guzman	3	1	Afuera	Si	Si	No	Si	Mascotas	M + C	Si	No	Entierra los residuos

M+T: Paredes de madera y techo de calamina

ANEXO 9. Principales observaciones del examen clínico de los canes domésticos de la Comunidad Nativa Infierno en la región Madre de Dios (n=34).

N°	Código	Sexo	Edad (años)	Peso (Kg.)	Observaciones
1	INF-02	M	3.0	20	Aumento de tamaño de gl. submandibular y poplíteos. Lesiones cutáneas en codo, cara y pabellón auricular (cara interna). Presencia de pulgas.
2	INF-10	M	0,6	8	Aumento de tamaño de gl. Poplíteos. Alopecia e hiperpigmentación en m. posteriores.
3	INF-13	M	0,2	3	Hiperpigmentación en miembro anterior altura del codo y zona lumbosacra. Presencia de pulgas.
4	INF-15	M	4.0	20	Presencia de área alopécicas a la altura del codo. Presencia de pulgas.
5	INF-17	H	3.0	10	Lesiones cutáneas en oreja y cara.
6	INF-18	M	0.8	5	Mucosas pálidas, baja condición corporal y presencia de pulgas y garrapatas.
7	INF-21	M	0.4	20	Ninguna observación relevante.
8	INF-22	H	0.7	19	Baja condición corporal y presencia de pulgas y garrapatas.
9	INF-24	M	0.2	1	Ninguna observación relevante.
10	INF-25	H	0.2	1	Ninguna observación relevante.
11	INF-27	M	0,4	1.5	Ninguna observación relevante.
12	INF-29	H	0,6	10	Periodo de gestación de 50 días aprox. Presencia de piojos.
13	INF-30	H	1.0	10	Periodo de gestación de 30 días aprox.
14	INF-31	M	0.2	5	Mucosas pálidas.
15	INF-41	H	3.0	3.5	Dermatitis con presencia de costras con bordes irregular en la base del m. anterior derecho. Presencia de piojos
16	INF-42	M	0.10	11	Presencia de descarga ocular abundante de consistencia mucosas.
17	INF-43	M	0.6	14	Ninguna observación relevante.
18	INF-45	H	0,2	16	Descarga ocular abundante de consistencia mucosas y alopecia en la base de las orejas.
19	INF-46	H	0,5	5	Descarga ocular abundante de consistencia mucosas y piojos.
20	INF-47	M	3.0	16	Lesión cortante en la punta de la oreja izquierda. Cicatrices en todo el cuerpo. Presencia de garrapatas.
21	INF-48	H	1.5	13	Lesión punzocortante en la base de la cabeza (causada por el machete). Presencia de garrapatas.
22	INF- 49	M	0,2	5	Lesión en la pata izquierda, presencia de piojos y coagulación alterada (retardada).
23	INF-50	H	1.5	42	Presencia de hernia diafragmática.
24	INF-51	M	0,6	12	Alopecia e hiperqueratosis principalmente a la altura de la rótula e hiperqueratosis en la oreja derecha.
25	INF-54	M	7.0	15	Ligeramente delgado. Dermatitis con erosiones y costras principalmente en la cara y hocico. Dermatitis generalizada con presencia de costas principalmente en lomo y cara, compatibles con dermatitis sarcóptica. En periodo de lactancia (cachorros 1 mes).
26	INF-55	H	3.0	11	periodo de lactancia (cachorros 1 mes).
27	INF-59	H	1.0	6	Presencia de piojos.
28	INF-63	M	2.0	16	Ninguna observación relevante.
29	INF-64	H	3.0	10	Dermatitis con hiperqueratosis y alopecia localizada en la base de la oreja derecha. Presencia de piojos
30	INF-65	H	2.0	7	Dermatitis pruriginosa con presencia de costras principalmente en el área lumbosacra. Presencia de piojos.