



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS

SEROPREVALENCIA DE *Leptospira interrogans* EN CANES DOMÉSTICOS (*Canis lupus familiaris*) DE LA COMUNIDAD CAMPESINA DE COROSHA EN LA REGIÓN AMAZONAS, PERIODO 2017.

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

KAREN DANIELA RONDÓN VAIRO

BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA

Lima - Perú

2018

DEDICATORIA

A mi familia, de manera especial a mi Mamá, hermano y mama, por siempre apoyarme y motivarme en el transcurso de mi carrera y en la elaboración de mi tesis.

A mis amigos por estar siempre brindándome consejos y alentándome a seguir adelante con mis metas.

AGRACEDIMIENTOS

A mi director de tesis M.V Hugo Castillo Doloriert por su guía, apoyo y dedicación para el desarrollo de esta investigación.

A la M.V Mg Nancy Carlos por haber depositado su confianza en mí, y por su fundamental orientación durante la elaboración de este trabajo.

A la asociación civil “Yunkawasi” y a la Comunidad Campesina de Corosha por su apoyo y colaboración que hizo posible la realización del presente estudio.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en canes domésticos (*Canis lupus familiaris*) de la comunidad campesina de Corosha en la región Amazonas. Se tomó un total de 55 caninos para el estudio, de los cuales 35 fueron machos y 20 fueron hembras, de distintas edades, 2 gerontes, 40 adultos y 13 cachorros. Se colectaron 2 ml de sangre en tubos sin anticoagulante por punción de vena cefálica, luego se centrifugaron y almacenaron a una temperatura de -20 grados centígrados. Las muestras fueron transportadas a la ciudad de Lima, al Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos, y fueron analizadas mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para detectar la presencia de anticuerpos específicos frente a 6 serovares de leptospira, considerando positivos las muestras reactivas a título igual o mayor a 1/100. Los resultados mostraron que un 87,27% (48/55) de los caninos obtuvieron títulos de anticuerpo frente a los siguientes serovares de leptospira, grippotyphosa (58,18%), icterohaemorrhagiae (54,55 %), pomona (40%), canicola (32,73), bratislava (30,91%) y Georgia (21,82%). El estudio determinó la seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en los caninos, comprobando la circulación de los 6 serovares de *Leptospira interrogans* dentro de la Comunidad Campesina de Corosha.

Palabras clave: Leptospirosis, anticuerpos, canino doméstico, serovares.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the seroprevalence of *Leptospira interrogans* in domestic dogs (*Canis lupus familiaris*) of the peasant community of Corosha in the Amazon region. A total of 55 dogs were taken for the study, consisting of 35 males and 20 females, of different ages, 2 elderly, 40 adults and 13 puppies. 2 ml of blood were collected by cephalic vein puncture and was placed in tubes that did not contain anticoagulant. This was then spin dried and stored at a temperature of -20 degrees centigrade. The samples were transported to the city of Lima, to the laboratory of microbiology and veterinary parasitology of the Universidad Mayor de San Marcos and were analyzed by the microscopic agglutination test (MAT) to detect the presence of specific antibodies against 6 serovars of leptospira. The reactive samples with a title equal to or greater than 1/100 werw considered positive. The results showed that 87.27% (48/55) of the canines obtained antibody titers against the following serovars of leptospira, grippotyphosa (58.18%), icterohaemorrhagiae (54.55%), pomona (40%), Canicola (32.73), Bratislava (30.91%) and Georgia (21.82%). The study determined the seroprevalence of *Leptospira interrogans* in the canines, verifying the circulation of the 6 serovars of *Leptospira interrogans* within the Peasant Community of Corosha.

Key words: Leptospirosis, antibodies, domestic dog, serovars

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
I. INTRODUCCION	1
II. MARCO TEORICO	3
2.1 Leptospirosis	3
2.1.1 Agente causal	3
2.1.2 Taxonomía	4
2.1.2.1 Clasificación Genética	4
2.1.2.2 Clasificación Serológica.....	4
2.1.3 Distribución geográfica.....	5
2.1.4 Reservorios	5
2.1.5 Epidemiología	7
2.1.5.1 Epidemiología de Leptospirosis en el Perú.....	8
2.1.5.2 Epidemiología de Leptospirosis a nivel internacional	10
2.1.6 Transmisión.....	12
2.1.7 Patogénesis	13
2.1.8 Respuesta inmune	14
2.1.9 Manifestación clínica	15
2.1.10 Lesiones patológicas.....	16
2.1.11 Diagnóstico	17
2.1.11.1 Pruebas serológicas	18
a) Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)	18
b) La prueba de Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA	18
2.1.11.2 Métodos Microbiológicos	19

2.1.11.4 Detección molecular	19
2.1.12 Tratamiento	20
2.1.13 Prevención y control.....	20
2.1 Comunidad campesina de Corosha	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1 Espacio y tiempo	23
3.2 Población y muestra.....	23
3.3 Diseño de la investigación.....	24
3.4 Procedimiento	24
3.5 Diseño estadístico	26
IV. RESULTADOS.....	27
V. DISCUSIÓN	32
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	38
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	39

ANEXOS

I. INTRODUCCIÓN

La Leptopirosis es una enfermedad infecciosa y zoonótica que se encuentra distribuida mundialmente, que afecta a gran variedad de animales domésticos y silvestres. Es causada por la bacteria del género *Leptospira* que comprende varias especies y serovares (1,2). Tiene alta prevalencia en países tropicales debido a que las condiciones climáticas favorecen su transmisión, sin embargo puede también presentarse en cualquier época del año. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son variables y comprenden desde formas subclínicas hasta cuadros graves con afección multisistémica (3).

La transmisión ocurre principalmente por el contacto con orina de animales infectados con la bacteria, siendo el perro (*Canis lupus familiaris*) uno de los importantes reservorios, el cual puede cursar con la enfermedad de forma asintomática, diseminándola por el medio ambiente, siendo fuente de infección para el hombre y otros animales (2,3,4,5).

Los casos reportados de leptopirosis humana en el Perú han predominado en regiones de la selva, el serogrupo icterohaemorrhagiae fue uno de los mayormente aislados, y está asociado a las presentaciones más graves de la enfermedad (6), donde el perro es considerado como su principal reservorio (4,5).

En el departamento de Amazonas se han registrado casos confirmados de leptopirosis humana (30); sin embargo, aún no hay datos exactos sobre la incidencia de la enfermedad debido a que no hay acceso a pruebas diagnósticas y/o es confundida con otras patologías; como tampoco existen estudios en animales que son clave para difusión de la enfermedad.

El presente estudio consideró a la comunidad campesina de Corosha en la región Amazonas como lugar de investigación, ya que se observaron varios acontecimientos,

como la existencia de un solo puesto de salud poco equipado y sin acceso a pruebas diagnósticas específicas para leptospirosis, la ganadería y agricultura como principal actividad económica y considerados como factor de riesgo para contraer la enfermedad, la abundante presencia de animales domésticos, principalmente el perro, el cual forma parte de las actividades diarias de la comunidad y que no acceden a atención veterinaria, la existencia de un área de conservación donde habitan especies silvestres que pueden verse afectados y formar parte de la cadena de mantenimiento y transmisión de leptospirosis.

Debido a la importancia de esta enfermedad zoonótica, y las escasas investigaciones en caninos en zonas rurales próximas al hábitat de especies silvestres, se realizó la investigación, con el objetivo de determinar la seroprevalencia de serovares de *Leptospira* en caninos de la comunidad campesina de Corosha, la cual ayudara a brindar mayor información sobre la presencia, riesgo de transmisión de la enfermedad y el papel que desempeña los caninos como reservorios, para así implementar y/o mejorar los programas de prevención.

II. MARCO TEORICO

2.1 Leptospirosis

Es una enfermedad infecciosa zoonótica descrita por primera vez en 1886 por A. Weil, se encuentra distribuida mundialmente predominando en climas cálidos y húmedos, siendo los animales infectados reservorios y diseminadores de la enfermedad. La enfermedad es producida por bacterias espiroquetas, y se caracteriza por presentarse de forma subclínica o con manifestaciones clínicas con signos graves. Al no tener signos clínicos específicos es fácilmente confundida con otras patologías (1).

2.1.1 Agente causal

La leptospirosis es causada por una bacteria espiroqueta gram negativa del género *Leptospira*, que agrupa especies, serogrupos y serovariedades de importancia clínica para el hombre, animales domésticos y animales silvestres (2).

Esta bacteria posee la característica de no teñirse correctamente mediante tinciones convencionales. Tiene forma helicoidal, sus extremos terminan en forma de ganchos, son flexibles, aerobios y quimioorganotrofos, de unos 6 a 20 micras de largo por 0,1 micras de diámetro (1,2,3,7). Posee dos endoflagelos o fibras axiales que le permite ser móvil, llevando a cabo tres formas principales de movimiento: traslación, flexión, rotación, y en medios semisólidos pueden realizar movimientos de perforación. También tiene una membrana o envoltura externa que la recubre, y que consta de lipopolisacáridos (LPS) y un mucopéptido antigénico. Por su contenido en ácido diaminopimélico pueden diferenciarse de otros microorganismos morfológicamente semejantes (2,8).

2.1.2 Taxonomía

La bacteria pertenece a la familia *Leptospiraceae*, orden *Spirochaetales*, clase Spirochaetes, phylum Spirochaetes y género *Leptospira*. Las especies de este género no tienen una clasificación definitiva, pero actualmente se reconocen dos clasificaciones la genética y la serológica (3,4,9). Sin embargo, debido a la complejidad de su clasificación ambos tipos de sistemas coexisten, siendo mayormente utilizada la clasificación serológica, ya que tiene mayor importancia epidemiología y clínica (2, 4, 5, 7,9).

2.1.2.1 Clasificación Genética

Está basado en la homología del ADN medidas por técnicas de hibridación, donde las especies se clasifican en genoespecies, y dentro de cada una se reconocen diversas serovariedades, en función a sus reacciones serológicas. Se reconocen 20 genoespecies patógenas y no patógenas (4,5,9,10).

En base a su poder patógeno se pueden dividir en grupo infeccioso dividido en grupo 1 con 9 especies patógenas *L.alexanderi*, *L.alstonii*, *L.borgpetersenii*, *L.interrogans*, *L.kirschneri*, *L.Kmety*, *L.noguchii*, *L.santarosai*, *L.weilli*, y grupo 2 con 5 especies patógenas intermedias *L.broomii*, *L.inadai*, *L.fainei*, *L.licerasiae*, *L.wolffii*, y grupo no infeccioso que incluye 6 especies saprofitas *L.biflexa*, *L.terpstrae*, *L.vanthiellii*, *L.wolbachii*, *L.yanagawae* y *L.idionii* (9,5).

2.1.2.2 Clasificación Serológica

Está basado en la prueba de aglutinación cruzada donde la unidad taxonómica es el serovar, que en términos epidemiológicos es de importancia debido a que un determinado serovar puede establecer una relación comensal con determinada especie animal (5,11).

Las especies del género *Leptospira* poseen numerosos serovares, que a su vez por compartir determinantes antigénicos son clasificados en serogrupos, que no forman parte de una categoría taxonómica. Existen más de 240 serovares agrupados en 24 serogrupos dentro de la especie *L. Interrogans*, consideradas patógenas y de importancia en salud pública; y más de 60 serovares dentro de la especie *L. biflexa* consideradas saprófitas. (4,5,9)

2.1.3 Distribución geográfica

La bacteria *Leptospira* está distribuida mundialmente, sin embargo, algunos serovares presentan distribución geográfica limitada. Esta bacteria se puede encontrar en la naturaleza, pero necesita de un medio acuoso para sobrevivir; también se pueden encontrar en asociación con hospedadores humanos y animales. Tiene alta prevalencia en los países tropicales donde hay grandes precipitaciones pluviales, ambiente cálido, humedad y suelo con pH neutro o alcalino que favorece su supervivencia. Si bien la leptospirosis es una enfermedad estacional el contagio puede producirse en cualquier mes del año. Son sensibles a la desecación, a los ácidos y al fenol, pueden resistir a la congelación, resisten tratamientos térmicos de 50-55 °C durante 30-60 minutos (2,3,7).

2.1.4 Reservorios

Los animales son los reservorios de *Leptospira*, puede llegarse a establecer una relación comensal entre el animal y la bacteria, y no producirse la enfermedad o presentarse de forma muy leve, convirtiéndose en diseminadores de la bacteria (4,5,12,13).

Los mamíferos son los principales reservorios de *leptospira*, y dentro de ellos los mamíferos pequeños son considerados los más importantes, en especial los roedores, como las ratas (*Rattus rattus*) (*Rattus norvegicus*) y ratones (*Mus musculus*), por su amplia distribución, capacidad adaptativa, y por la capacidad de poseer la bacteria en su organismo sin producir enfermedad, por ello son los reservorios de mayor importancia epidemiológica. Las ratas generalmente son reservorios de serovares

icterohaemorrhagiae y ballum, los ratones son reservorios comúnmente del serogrupo ballum (4,5,14,15).

Los caninos (*Canis lupus familiaris*) son considerados reservorios importantes de leptospira, debido a la convivencia con el hombre, siendo parte sus actividades diarias como animal de compañía o cumpliendo otras funciones. El comportamiento de marcar territorio con la orina contamina ambientes, diseminándose favoreciendo la transmisión hacia el hombre y otros animales (16). Los serovares comúnmente aislados en los caninos son icterohaemorrhagiae y canicola (4,5,14,15).

Otros animales domésticos también son considerados reservorios de leptospira, estudios han hallado presencia de la bacteria en ganado vacuno, que comúnmente alberga los serovares hardjo, pomona y grippotyphosa, en caso de los porcinos se encuentran los serovares pomona y tarassovi, en equinos se encuentra bratislava y en ganado ovino principalmente se encuentra el serovar hardjo (2,5).

Los animales silvestres pueden participar de la cadena epidemiológica de la leptospira (17). Existen algunos estudios que han evaluado la prevalencia y características de la leptospirosis en animales silvestres, tal es el caso, en Piura encontraron anticuerpos contra serogrupos patógenos de *Leptospira* spp. en el zorro sechurano (*Lycalopex sechurae*) de vida libre (17,18). También ha sido reportada en venados de cola blanca, leones marinos, marsupiales y zorrillos (19).

Estudios en la Amazonia peruana en mamíferos silvestres pertenecientes a la Orden Rodentia, Marsupialia, Chiroptera y Carnivora, reportaron la presencia de la bacteria usando técnicas moleculares para su identificación (19). También se han identificado como reservorios los marsupiales *Philsnder opossum* y *Didelphis marsupialis* (20).

También se ha determinado la seroprevalencia de leptospirosis en distintas especies de reptiles, sin embargo, aún no se ha esclarecido su papel como parte de la epidemiología de *Leptospira* (21). También en aves ha sido comprobada la presencia de leptospirosis por cultivo proveniente de riñón, hígado, corazón e intestino, y por presencia de anticuerpos

en sueros sanguíneos, comprobada en aves domésticas y silvestres entre ellas aves migratorias (22).

2.1.5 Epidemiología

Considerada una zoonosis emergente y reemergente de distribución mundial, de la cual se desconoce su real incidencia, por falta de conocimiento de la enfermedad, por tener una forma de infección subclínica la cuál puede pasar desapercibida, y porque los métodos diagnósticos no están fácilmente disponibles en todas las áreas (5,23).

Se reconoce en la epidemiología de la leptospirosis dos tipos de hospederos que dependen de la especie animal y del serovar infectante. A uno se le conoce como hospedador de mantenimiento o reservorio que es susceptible a la infección de larga duración, y donde existe una transmisión natural entre la misma especie, como son principalmente los roedores, el más importante transmisor de la enfermedad, ya que puede eliminar la bacteria por meses o años. El otro hospedador es el llamado accidental que posee una baja susceptibilidad a la infección, pero una vez que se establezca la infección es su organismo, puede presentar signos severos de la enfermedad. Los hospederos accidentales son potencialmente cualquier mamífero incluyendo al ser humano, animales domésticos, de granja y especies silvestres (23). Hay una importante relación entre serovares y animales hospederos, ya que se ha demostrado asociación entre uno o más serovares a una especie animal, esto es un hecho epidemiológico importante en caso de brotes de leptospirosis (5,11).

Los animales silvestres en su medio natural como en cautividad constituyen componentes importantes en el ciclo epidemiológico de leptospirosis, ya pueden actuar como reservorios, hospederos de mantenimiento, portadores y hospederos accidentales, participando en la transmisión de distintos serovares. Existen algunos factores asociados al incremento de las zoonosis de vida silvestre, la mayoría debida a actividades humanas, como el incremento de la densidad demográfica, viajes, comercio ilegal de fauna silvestre, migración de especies, desforestación, cambio climático, y mayor contacto entre humano, la vida silvestre y animales domésticos, entre otros (17).

Existen varios escenarios para la presentación de leptospirosis en perros, y se han hecho observaciones similares para las personas, la mayoría de los casos se observan durante los meses cálidos del año. Debido a los requerimientos de humedad del organismo la incidencia de la enfermedad y los brotes a menudo aumentan durante los periodos lluviosos y ante inundaciones, se observan infecciones en perros cuya actividad implica la exposición a aguas detenidas lagos o arroyos. Por tanto, sus requerimientos de temperatura, humedad y pH de la bacteria pueden explicar el evidente aumento estacional de la incidencia de leptospirosis, donde su transmisión depende de estos factores y el grado de contacto entre el reservorio y los hospederos accidentales (5,23).

2.1.5.1 Epidemiología de leptospirosis en el Perú

En el Perú la leptospirosis está ampliamente distribuida, el primer caso fue diagnosticado por Arce y Ribeyro en 1917 en un hospital de Lima. Posteriormente en 1955 en el Instituto de Salud Pública, ubicado en el departamento de Lima, iniciaron estudios epidemiológicos en animales como ratas de desagüe, gatos, perros y cerdos, donde se aislaron 5 serogrupos bataviae, tarassovi, canícola, pomona e icterohaemorrhagiae, identificándose los serovares paidjan, tarassovi y copenhageni. De 11 especies de animales silvestres se aislaron leptospiras de 19 serogrupos, la mayoría de serovariedades se obtuvo de roedores y marsupiales, aislando *L.biflexa* de sapos de agua dulce de Lima y Lambayeque (24).

En cuanto a la prevalencia de leptospirosis canina, en el Perú se cuenta con varios reportes, sin embargo, aún no hay estudios realizados en las comunidades campesinas de la Región Amazonas. En la ciudad de Iquitos un estudio en caninos de zonas urbanas y rurales determinó que el 59,28% (83/140) fueron positivos a la presencia de anticuerpos para leptospira (25). De igual manera, en Madre de Dios en la comunidad nativa Inferno, un 56,66% de los caninos estudiados fueron positivos a la seroprevalencia de *Leptospira* spp., donde el serovar más frecuente fue bratislava en un 40%, canicola en un 13%, grippotyphosa 16.67 %, icterohaemorrhagiae 10% (26). Otro estudio en el 2015 realizado en 305 caninos provenientes de 31 distritos de Lima, fueron analizados mediante la prueba MAT para determinar la seroprevalencia de *Leptospira* spp., se detectaron 117

(58%) positivos, 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%) (27).

Un estudio de la Universidad Mayor de San Marcos evaluó si la edad, el sexo y tamaño representan factores de riesgo para la presentación de leptospirosis canina, concluyendo que los animales adultos, los de mayor tamaño y los machos tuvieron mayor prevalencia de anticuerpos para leptospira (28). En el departamento de Piura se analizaron 91 muestras de canes para determinar la prevalencia de leptospirosis canina, el 32,97% (91/30) resulto positiva mediante la prueba de aglutinación microscópica (29). En 1999 un estudio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en Sagital Piura, analizaron 12 muestras de suero de roedores por el método de MAT, 2 individuos (16,6%) fueron positivos con el serovar gryppotyphosa a un título de 1/200 y 1/400. De las 3 muestras de suero de caninos analizadas por el método de MAT, 1 (33,3%) fue positiva al serovar canicola a un título de 1/100, corroborando de esta manera que ambos animales contribuyen en la diseminación de la bacteria en la localidad de Sagital (30).

Estudios realizados sobre la situación de la leptospirosis en el Perú revelan que se han confirmado casos de la enfermedad en humanos en 18 de 24 regiones, los serogrupos más frecuentes son varillal e icterohaemorrhagiae, asociados con casos fatales. La región que más casos confirmados tuvo fue Loreto (21,6%), seguido de Cusco (14,8%), Madre de Dios (11,6%), Lima (11,1%), Cajamarca (8,9%), Ucayali (7,7%), Piura (5,0%), Lambayeque (4,8%), Huánuco (3,9%) y Junín (3,0%); las regiones que reportaron menos de 2% fueron Ancash, Ayacucho, Amazonas, San Martín, Huancavelica, Pasco, Tumbes y La Libertad (6). Datos remitidos por el Ministerio de Salud sobre la prevalencia en los últimos 10 años en el Perú informan que los años 2014, 2015 y 2016 se observaron un mayor número de casos confirmados y probables de leptospirosis en humanos que otros años (Anexo 1). Entre los departamentos con mayor prevalencia son Loreto, Madre de Dios y Ucayali (Anexo 2).

Existen investigaciones que relacionan la presencia de canes con la presentación de anticuerpos para leptospira en personas, como es el caso en Lima, en el distrito de

Chancay en la provincia de Huaral donde se realizó un estudio en personas asintomáticas y caninos sobre prevalencia de leptospira, el cual arrojó que el 10,1 % (27/268) de personas fueron positivas, y que de los caninos estudiados el 27,8 % (67/241) fueron positivos, ambos mostraron similares perfiles de positividad para serovares de leptospira (31). De igual manera en la provincia del Manu en Madre de Dios se realizó un estudio en personas con antecedentes de fiebre y en caninos para determinar la prevalencia de leptospirosis y factores de riesgo. Los resultados arrojaron que el 36,6% de los pobladores y el 66,6% de los caninos tuvieron serología positiva a leptospira, y los serovares identificados fueron similares (32). Otro estudio en Ucayali realizado en humanos y caninos para determinar la prevalencia de leptospira, obtuvo que el 31,3% (114/364) de las personas fueron positivos y de los caninos el 52,2% (181/374) fueron positivos, y se comprobó que ambos mostraban positividad para los mismos serovares de leptospira (33)

2.1.5.2 Epidemiología de leptospirosis nivel internacional

La incidencia global de leptospirosis en animales y humanos todavía no es conocida. El sistema de vigilancia para cada país o territorio cubre una larga y heterogénea área geográfica, la efectividad de la vigilancia a menudo está limitada por debilidades en varios aspectos en el sistema. A pesar de ello los sistemas de vigilancia proporcionan datos útiles sobre las tendencias de incidencia de leptospirosis, lo cual ayuda a la identificación de brotes, sin embargo, no se dispone de un análisis real de la situación ya que los casos se estudian de manera independiente (Anexo 3). Dentro de los países con mayor reporte anual de leptospirosis dentro de los años 1996-2005 fueron Brasil, Costa Rica y Cuba, teniendo en cuenta que los datos provienen solo del 50% de países de América y además entre ellos el 37.5 % tiene una política de notificación obligatoria para leptospirosis (34).

En Brasil en el año 2005 un estudio realizado en 590 caninos callejeros para detectar la presencia de *Leptospira* spp. contra 25 serovares mediante la prueba MAT, determinó que el 10,5% (62/590) de los caninos fueron positivos. El serovar más frecuente fue pyrogenes (18%), seguido por canicola (13,8%) e icterohaemorrhagiae y copenhageni

(12,5%). Los títulos de anticuerpos variaron de 1: 100 a 1: 3.200 (35). En otro estudio similar en Brasil en el año 2001-2002, se evaluaron a 3417 caninos provenientes del Centro de Control de Zoonosis, donde el 13,1% fueron positivos mediante el método MAT, presentando títulos que varían de 1: 200 a 1: 25.600. Los serovares canicola, ballum, pyrogenes e icterohaemorrhagiae fueron los más prevalentes y los meses con mayor porcentaje de seropositivos fueron diciembre y enero donde hay lluvias y temperaturas más altas. Las áreas de mayor riesgo fueron las regiones de villas, favelas y barrios de la periferia donde existe deficiencia de saneamiento ambiental (36).

El Ministerio de Salud de Brasil ha proporcionado datos de casos confirmados de leptospirosis humana dentro de los años 2007-2011, donde se identificaron 19 442 casos, y los departamentos con mayor número de casos representativos fueron Sao Paulo, Curitiba, Recife, Salvador, Rio de Janeiro y Belem (37).

En Argentina en el año 1998, se registró un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fe, donde se estudiaron 32 personas, 8 caninos y 8 muestras de agua. Los sueros humanos reaccionaron con las serovariedades ballum, canicola, icterohaemorrhagiae y pyrogenes. Los títulos de anticuerpos específicos cuantificados por MAT se situaron entre 1:50 y 1:25 600, 12 fueron clasificados como casos confirmados, 2 como casos probables y 18 como negativos. Las muestras de suero de los caninos resultaron que el 75% fueron positivas en la prueba de MAT y reaccionaron con las serovariedades ballum, canicola y pomona. Dos perros resultaron claramente positivos a la serovariedad pomona. Los otros cuatro presentaron coagulación a ballum y canicola, con títulos no superiores a 1:400 (38).

En México se realizó un estudio sobre seroprevalencia de leptospirosis en caninos callejeros, se analizaron 135 sueros sanguíneos mediante la prueba aglutinación microscópica para la detección de anticuerpos, dando como resultado que el 38,51 % (52/135) de los sueros fueron positivos a una o más serovares. Las serovariedades comúnmente detectadas fueron: *L. castellanis* (50%), *L. pyrogenes* (38.46%) y *L. canicola* (26.92%), *L. icterohaemorrhagiae* (21.15%). Los títulos de anticuerpos más

altos fueron contra las serovariedades: *L. castellanis*, *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pyrogenes* con 1:1600. (39).

Un estudio en Cuba sobre un brote de leptospirosis humana en la provincia de Guantánamo durante los meses de octubre y noviembre 2005, se notificaron un total de 885 casos sospechosos, 61 fueron confirmados microbiológicamente con una positividad de 6,9 %. Los síntomas y signos más frecuentes observados fueron fiebre (100 %), cefalea (96,6 %), mialgias (91,5 %) y artralgias (84,7 %). Con menor intensidad se observó diarreas, vómitos e ictericia. Más de 97 % de las personas sospechosas refirieron como principales factores de riesgo la crianza y tenencia de animales domésticos principalmente cerdos, caballos y perros, de igual forma 97,2 % laboraban de manera temporal o permanente en actividades agrícolas, 80 % refirió bañarse en ríos, presas o realizar actividades de pesca (40).

2.1.6 Transmisión

Los animales son esenciales para el mantenimiento de la bacteria en el medio ambiente, la cual sobrevive cuando los factores ambientales son óptimos, como un clima cálido y húmedo. De esta manera los animales pueden contraer la enfermedad de forma indirecta y directa (3,8,23)

La transmisión directa puede ser a través de la orina infectada, el cual constituye el vehículo principal por el cual se produce la transmisión, pero también se puede contraer por transferencia venérea, transplacentaria, heridas por mordeduras o ingestión de tejidos infectados. Esta forma de transmisión es favorecida por la superpoblación de animales (3, 8, 23,41).

La transmisión indirecta es por exposición al medio ambiente contaminado por leptospiras, esta es quizás la forma más común. Depende no solo de su relación con el reservorio u hospedero, sino también del medio ambiente. Ocurre a través de abrasiones en la piel y de las mucosas bucal, nasal y conjuntival de los animales susceptibles en contacto con agua, suelo o alimento o camas contaminadas. El agua es uno de los

vehículos principales para su transmisión (3, 8, 23,41). Existen teorías de algunos autores que manifiestan que los artrópodos podrían jugar un papel importante en la transmisión de la leptospirosis como transmisores mecánicos (41).

La ocupación es un factor de riesgo importante para la transmisión al hombre, tal como las personas dedicadas a la agricultura, ganadería, a la medicina veterinaria, deportes en aire libre, entre otros. En todos estos casos el ambiente en el que se desenvuelven puede existir un ciclo epidemiológico constante entre el hombre, animales domésticos, animales silvestres y leptospira, que mantiene el ciclo de vida de la bacteria (3, 8, 17, 23)

2.1.7 Patogénesis

La infección se caracteriza por la rápida proliferación y diseminación de los microorganismos en la mayoría de los tejidos, determinando una rápida e intensa difusión (8). La bacteria ingresa al organismo a través de piel lesionada o membranas mucosas, la capacidad de movilidad ayuda a la invasión tisular. Poseen diversas enzimas como hemolisinas (42,43), esfingomielinasa, fosfolipasa y hemaglutininas que facilitan el ingreso al organismo (42,44).

Producen una primera lesión al provocar la rotura de la integridad de las membranas de células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos, lo que provoca hemorragia, difundiéndose por vía sanguínea produciendo vasculitis, aumentando la permeabilidad vascular con alteración plaquetaria. Una glicoproteína tóxica producida por las leptospiras es responsable de la unión a los capilares y lesiones consecuentes, difundiéndose así por el organismo (2,7,42). Dentro de las 24 a 48 horas post infección el microorganismo puede aislarse de todos los tejidos, esta capacidad de rápida difusión se la debe a la producción de hialuronidasa, un factor de difusión (8).

Una vez que se comienzan a sintetizar anticuerpos en el organismo del animal alrededor del día 10 post infección, las leptopiras sufren una disminución en la circulación, algunas bacterias pueden evadir la respuesta inmune y persistir en el organismo, principalmente en los túbulos renales provocando nefritis y eliminándose por la orina, también puede

persistir en útero, ojos y meninges, algunas también pueden evadir la fagocitosis en el torrente sanguíneo provocando en algunos casos apoptosis de macrófagos (7).

En caso sea deficiente la respuesta inmunitaria, afecta el hígado y por consiguiente la ictericia y la hepatitis son la principal secuela de la lesión hepática. Puede verse afectado el sistema nervioso provocando meningitis, también puede observarse hemorragias debida a la extensa vasculitis, uveítis y reacciones de hipersensibilidad (2,7,8).

Las lesiones causadas por leptospira sugieren que la patogenicidad se debe particularmente a toxinas y enzimas de metabolitos elaborados o eliminados por las leptospiras lisadas, esto indicaría que los responsables del poder patógeno son las endotoxinas (7).

2.1.8 Respuesta inmune

El mecanismo de resistencia a la leptospirosis esta mediado en gran medida por la respuesta humoral. El organismo reacciona con una respuesta sérica caracterizada por la producción de inmunoglobulinas. Donde la inmunoglobulina M (IgM) es el tipo de respuesta primaria, puede ser detectada por método de aglutinación microscópica (MAT) a los 5 a 7 días del comienzo de la infección, pero mediante la técnica inmunoenzimáticas (ELISA) puede ser detectada días antes. La inmunoglobulina G (IgG) es detectada luego de las primeras semanas de la infección (8,45). Algunos estudios con la técnica de ELISA en caninos luego de ser vacunados, ha demostrado una respuesta de IgG antileptospiral sustancial solo después de la primera vacunación de refuerzo y la revacunación anual. La revacunación anual resultó en una respuesta de IgG persistente más alta y mucho más prolongada que la primera vacunación de refuerzo, en caso de la IgM tuvo una respuesta primaria luego de la vacunación primaria y la de refuerzo, y alcanzó su máximo nivel una semana después de la vacunación (45).

Los anticuerpos producidos se dirigen principalmente contra el lipopolisacárido (LPS) de leptospiras. Este lipopolisacárido es parte de la estructura de la leptospira y se ha demostrado que activa los macrófagos linfocitos B y en menor medida a linfocitos T y

células NK. Al activar los macrófagos, estos estimulan la secreción de interleucina -1 (IL-1) e interferón. También se produce la liberación del factor de necrosis tumoral y de interleucina -10 (IL-10). Estas citoquinas juegan un papel importante en la reacción inflamatoria hacia las leptospiras (23,42).

2.1.9 Manifestación clínica

Las manifestaciones son variables y comprenden desde formas subclínicas hasta cuadros graves con afección multisistémica (46). Puede depender de diversos factores como edad, nivel de inmunidad, la virulencia y el tropismo del serotipo (47).

La enfermedad se caracteriza por dos fases, una bacteremia donde la bacteria se disemina rápidamente a través del torrente sanguíneo y puede darse dentro de los primeros 7 a 10 días, y la fase leptospiúrica donde la bacteria se localiza en los riñones y entra en fase de eliminación a través de la orina. (3)

En los animales las formas clínicas de la enfermedad van a depender si es un reservorio u hospedero accidental de la bacteria, teniendo en cuenta que un animal que actúe como reservorio tiende a tener una presentación más crónica y asintomática. En cambio, un hospedero accidental tiende a ser aguda y severa con fuerte respuesta de los anticuerpos. (3)

La leptospirosis en los caninos se debe principalmente a las serovariedades canicola e icterohaemorrhagiae. El curso de la enfermedad puede ser agudo o peraguda donde puede haber una leptospiremia masiva y muerte con pocos signos premonitorios. La subaguda, el signo es según en función a los órganos implicados tales como ictericia, anorexia, pirexia, deshidratación, polidipsia, vómitos, fallo renal crónico, dolor a la palpación en región lumbar o la región anterior al abdomen. La forma crónica signos imprecisos de fallo renal o hepática progresiva (23, 47,48).

El serovar canicola adaptado a los perros produce un cuadro renal grave en los cachorros, superando esta fase aguda puede desarrollarse un síndrome urémico crónico.

Las infecciones producidas por el serovar icterohaemorrhagiae se caracteriza por un cuadro hemorrágico, hepático con fallo renal. El serovar bratislava está asociada con abortos e infertilidad, se ha adaptado a los perros y podrían actuar como hospederos de mantenimiento (10,47).

El hombre es susceptible a muchos serovares. Es considerado un hospedero accidental de la enfermedad, la cual se incuba en un promedio de una a dos semanas. Se reconocen dos formas clínicas de la enfermedad que pueden cursar con manifestación clínica variable (3). El tipo icterico o hepatonefritico grave, que es conocida como la enfermedad de weil, es la presentación menos frecuente, y equivale aproximadamente el 10% de los casos, está normalmente relacionado al serovar icterohaemorrhagiae, pudiendo ser producido también por otros serovares. Los signos clínicos se instalan bruscamente produciendo fiebre, mialgias, conjuntivitis, náuseas, vómitos, diarreas, constipación, petequias, hemorragias en aparato gastrointestinal, manifestaciones respiratorias que van evolucionando hasta neumonía, distrés respiratorio, hepatomegalia, ictericia e insuficiencia renal (3,48). El tipo anictérico se observa fiebre, mialgias, conjuntivitis, rigidez en la nuca, náuseas, vómitos, se asemeja a otras patologías y es de curso benigno la recuperación puede darse dentro del mes (48).

2.1.10 Lesiones patológicas

Las lesiones varían según la gravedad del curso de la enfermedad. Las lesiones macroscópicas que pueden hallarse son, tejidos linfoides y tonsilas aumentadas de tamaño, riñones aumentados de tamaño, capsula renal que puede estar adherida a la superficie de los riñones, y hemorragia subscapular es un hallazgo frecuente. En casos que son menos agudos puede observarse un moteado focal blanco en la corteza renal. Las infecciones crónicas o en caso de caninos tratados o recuperados los riñones pueden mostrar fibrosis. Comúnmente por la infección del serovar icterohaemorrhagiae el tracto respiratorio puede estar edematizado puede haber congestión pulmonar y puntos infiltrados neumónicos difusos. Las hemorragias petequiales y equimóticas son hallazgos comunes sobre superficie pleural. En caso del hígado podría presentar hepatomegalia y estar friable con coloración amarillenta (23).

Las lesiones microscópicas en caso de los riñones son sutiles, consisten en necrosis tubular leve y edema intersticial, a pesar de que los caninos con cuadros agudos pueden presentar una grave disfunción renal. En casos crónicos se caracteriza por fibrosis intersticial renal difusa con leve o moderada inflamación linfoplasmática multifocal y escasos macrófagos. Los cambios en pulmones consisten necrosis fibrinoide de vasos sanguíneos y hemorragias, vasos pulmonares fibrosados con infiltrado de células mononucleares. Las lesiones hepáticas incluyen necrosis focal, estasis biliar intrahepática y lesión hepatocelular grave, en cuadros graves de la enfermedad se puede encontrar necrosis del parénquima hepático con afección crónica, lo casos crónicos pueden desarrollar hepatitis crónica y fibrosis hepática. Los daños neurológicos principalmente incluyen hemorragia perivascular y trombosis vascular con infiltrado celular (23).

2.1.11 Diagnóstico

Debido a que la leptospirosis es una enfermedad que manifiesta signos inespecíficos, el diagnóstico se convierte en un hecho complejo, en el cual se deben considerar varios elementos tales como la epidemiología, los signos clínicos, lesiones, hallazgos de laboratorio, lesiones patológicas y también los factores de riesgo (8).

Dentro de las alteraciones inespecíficas en los exámenes hematológicos, se pueden encontrar trombocitopenia y leucocitosis, donde el recuento leucocitario fluctúa según el estadio y gravedad de la enfermedad. También se puede evidenciar un aumento de las concentraciones de enzimas hepáticas, ácidos biliares, bilirrubina, urea y creatinina. De igual manera hay alteraciones electrolíticas que guardan relación con el grado de disfunción renal y gastrointestinal (8,23,47). Existen otras vías diagnósticas para detectar las infecciones por leptospiras, las cuales incluyen:

2.1.11.1 Pruebas serológicas

Se han desarrollado varios tipos de pruebas serológicas para el diagnóstico de leptospirosis, pero la prueba de Aglutinación microscópica (MAT) continúa siendo la técnica estándar y recomendada por la OIE (Organización mundial de sanidad animal).

a) Prueba de aglutinación microscópica (MAT)

Consiste en exponer los microorganismos a diluciones seriadas del suero del paciente, el punto final es la mayor dilución que cause el 50% de aglutinación de las bacterias. La demostración de un aumento o disminución de 4 veces en el título por aglutinación microscópica es el requerimiento para la confirmación serológica en forma aguda de la enfermedad. La magnitud de la elevación de los títulos no siempre es paralela a la gravedad de la enfermedad. Los primeros 7 a 10 días de la enfermedad los resultados de la prueba pueden ser negativos, debe obtenerse otras muestras a intervalos de 2 a 4 semanas. Los títulos iguales o superiores a 1/800 indican infección activa o portación renal subclínica, la infección previa o la vacunación suelen asociarse a títulos inferiores a 1/400. Cuando el estado de portador renal ha sido eliminado con éxito, los títulos serológicos llegarán a 1/200; los títulos más bajos pueden indicar una infección reciente o inicial, o como también exposición anterior (23,47,49).

b) La prueba de Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

Para la detección de IgG o IgM contra leptospiras, puede detectar casos de leptospirosis en los primeros 2 a 3 días del comienzo de la infección. El título de IgM por ELISA aumenta dentro de la primera semana luego de la infección, y el valor máximo se alcanza dentro de un lapso de 2 semanas, con una posterior disminución. En el caso de IgG, el aumento de los títulos se evidencia por ELISA dentro de 2 a 3 semanas después de la infección, y el valor máximo se detecta al mes (8,23,47,49).

Esta prueba detecta anticuerpos del género, por lo que no es apropiada para identificación de serogrupo o serovar. Emite respuesta positiva o negativa para

leptospirosis más rápido que la prueba MAT debido a que es más sensible. La ventaja de esta prueba es que puede ayudar a diferenciar entre una leptospirosis actual de una previa, ya que no puede detectar anticuerpos de una infección pasada (50).

2.1.11.2 Métodos microbiológicos

El aislamiento de la bacteria mediante cultivo bacteriano es uno de los métodos más específicos, pero es complejo de realizar ya que requiere de técnicas y de condiciones adecuadas. Las muestras se deben recoger de tejidos en forma aséptica y en pequeño volumen, preferiblemente de hígado y riñón o de líquido corporal, siendo la orina el líquido ideal para cultivar. Los cultivos crecen en medios especiales como Ellinghausen y Mc Cullough modificado por Johnson y Harris (EMJH), y deben incubarse a una temperatura 29°C durante 16 a 26 semanas, el tiempo va a depender del serotipo y al número de microorganismos presentes en la muestra. Los cultivos deben examinarse con un microscopio de campo oscuro (8, 23, 47, 49).

El microscopio de campo oscuro es requerido para la identificación rápida de leptospiras viables, ya que no se tiñen por los métodos convencionales. Además, requieren de preparaciones húmedas para ayudar a caracterizar el movimiento de retorcimiento y flexión. Puede no detectar infecciones activas ya que requiere aproximadamente de 10^5 microorganismos x ml. Debido a la imprecisión de este examen siempre debe ser acompañado por otras pruebas diagnósticas (8,23, 47, 49).

2.1.11.3 Detección Molecular

La prueba por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es sensible y específica, pero puede dar falsos positivos. Permite diferenciar formas patógenas y no patógenas con mayor rapidez (8,23,47 ,49). Se usa para detectar el ADN de leptospira en muestras clínicas, donde la detección se puede realizar a partir de muestras de sangre, orina, líquido cefalorraquídeo y muestras de tejido. Provee una base novedosa para la tipificación de la leptospira (50).

2.1.12 Tratamiento

El tratamiento para la enfermedad en los animales se basa en el uso de antibióticos y el control del balance hídrico, se debe vigilar los estados hemodinámicos, hidroelectrolítico, renal y pulmonar. La respuesta al tratamiento depende del grado de infección, el pronóstico es reservado en casos de disfunción renal o hepática (23,47).

Los antibióticos se deben instaurar ante la sospecha de enfermedad, ya que mientras más temprano se suministran, hay mayor probabilidad de revertir la lesión tisular causada por las espiroquetas (23). Las penicilinas y sus derivados son más eficaces contra la leptospiremia, pero no producen efecto en el estado de portador, en ese caso se instaura tetraciclinas o doxiciclina (23,47). También se han usado otros antibióticos como cefalosporinas, estreptomycin, eritromicina, los aminoglucósidos deben administrarse con precaución si hay disfunción renal. (23,47).

La administración de fluidos intravenosos es esencial, y para inducir a diuresis se puede utilizar furosemida, manitol o glucosa. El tratamiento gastrointestinal puede requerir el uso antiemético y protectores gástricos como omeprazol, sucralfato y metoclopramida (23,47).

En caso de las personas el tratamiento se basa también en antibióticos, se ha usado penicilinas, amoxicilina y doxiciclina. La respuesta al tratamiento depende de la gravedad del curso de la enfermedad, la hemorragia pulmonar masiva suele asociarse con alta mortalidad, el tratamiento coadyuvante ha consistido en hemofiltración (23).

2.1.13 Prevención y control

Las medidas de control incluyen la higiene personal, orientar a trabajadores en situación de riesgo al uso de equipos de protección individual, construcciones a prueba de roedores, protección de alimentos y correcta eliminación de desperdicios. Deben de instaurarse acciones educativas que contemplen contenidos sobre transmisión y síntomas de la enfermedad (51). Las medidas de control en los animales domésticos, es

la protección de sus ambientes, cama y alimentos de los roedores, así como también aislamiento de los animales enfermos y control de plagas de roedores (3,8,23).

La mejor medida de prevención es la vacunación de los animales domésticos, es eficaz para prevenir la enfermedad, pero no protege por completo la infección y no evita el estado de portador de la enfermedad. Las vacunas para caninos principalmente ofrecen inmunidad a la serovariedad canicola, icterohaemorrhagiae, grippytyphosa y pomona (3,8,23).

Existen presentaciones de vacunas multivalentes y bivalentes de *Leptospira* para caninos usadas comúnmente en Europa, sin embargo, algunas investigaciones sugieren efectos adversos luego del uso de las vacunas multivalentes. Por ello, tras el ingreso de una nueva vacuna tetravalente que contiene antígenos para los serogrupos australis, canicola, icterohaemorrhagiae y grippytyphosa, estudiaron sus posibles efectos adversos en caninos aparentemente sanos. Algunos caninos evidenciaron síntomas transitorios y leves, como reacción en el lugar de inyección, letargo e inapetencia, pero solo en 23% en la primera aplicación y 5 % para la segunda aplicación. Por tal motivo dicho estudio recomienda el uso de esta vacuna en caninos potencialmente expuestos por los beneficios que ofrece para la protección contra esta enfermedad (52). De igual manera, otro estudio realizado en caninos evalúa la eficacia de la inmunidad inducida por una vacuna multivalente con tres serovares de *Leptospira*, canicola, icterohaemorrhagiae y grippytyphosa. Comprobaron que esta provee una rápida inmunidad y una duración 13 a 15 meses de protección contra la forma mortal de leptospirosis para el serovar icterohaemorrhagia; prevención de la mortalidad y reducción de infección, excreción urinaria, transporte renal y lesiones renales por el serovar canicola y grippytyphosa (53).

La vacunación para la inmunización contra *leptospira* en humanos ha sido aplicada principalmente a las poblaciones de alto riesgo y de zonas endémicas de la enfermedad. En Cuba, una de las acciones más importantes que ha propiciado la disminución de la incidencia de esta enfermedad a partir del año 1996, ha sido la revitalización de la vacunación antileptospirósica, vacuna trivalente contra la leptospirosis humana con los

serogrupos de *Leptospiras* más frecuentes circulantes en ese país los cuales incluyen *canicola*, *pomona* e *icterohaemorrhagiae* (54).

2.2. Comunidad Campesina de Corosha

La comunidad campesina de Corosha, está ubicada en el distrito de Corosha en la provincia de Bongará, en la región Amazonas. Colinda con área de conservación privada Hierba Buena-Alipacayu, en la cual viven especies biodiversas y endémicas de flora y fauna. El distrito de Corosha cuenta con una extensión aproximada de 45.67 km² (55,56).

La población de la comunidad de Corosha presenta actividades económicas diversas, resaltando en la agricultura, principalmente en la producción del arroz, café y cacao. Otra actividad importante es el turismo, ya que posee gran potencial y es una actividad favorable para el desarrollo (55,56).

Gran parte de su territorio aún se encuentra forestado está rodeado por bosques, además de poseer muchas especies de flora y fauna, en especial el mono choro cola amarilla *Lagothrix flavicauda* y oso de anteojos *Tremarctos ornatus* dentro de su área de conservación Hierba Buena-Alipacayu. Sin embargo, la introducción de diversas especies domésticas como parte de sus actividades ganaderas y de animales de compañía, constituye un riesgo en la introducción y el mantenimiento de enfermedades infecciosas, como la leptospirosis, sumado a esto es la dificultad para tener acceso a atención veterinaria y un adecuado control sanitario.

Algunos determinantes sociales y ambientales para la reemergencia de la leptosirosis en la región amazónica son, actividades relacionadas principalmente a la ganadería y agricultura, así como también contacto directo con agua de ríos, el saneamiento deficiente y el no usar calzado. El crecimiento poblacional desmedido y la urbanización desorganizada cerca de ríos, y además la falta de atención especializada y los desafíos para el diagnóstico de la enfermedad (57).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Espacio y tiempo

El estudio se realizó en la Comunidad Campesina de Corosha, en el distrito de Corosha, en la provincia de Bongará, en el departamento de Amazonas. Las muestras recolectadas fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en el departamento de Lima. El estudio se llevó a cabo durante los meses de agosto a octubre de 2017.

3.2 Población y muestra

La comunidad campesina de Corosha tiene una población estimada de aproximadamente 150 caninos. La muestra fue calculada por método probabilístico mediante la fórmula de tamaño de muestra para estimar proporción en población finita o conocida.

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot (p) \cdot (1-p)}{N \cdot E^2 + Z^2 \cdot (p) \cdot (1-p)}$$

$$n = \frac{150 \cdot 1,96^2 \cdot (0,67) \cdot (0,33)}{150 \cdot (0,1)^2 + 1,96^2 \cdot (0,67) \cdot (0,33)}$$

$$n = 54,2299609$$

Donde:

$$N = 150$$

$$Z = 1,96$$

$$p = (0,67) \cdot (32)$$

$$E = 0,1$$

Se trabajó con una población de 55 caninos, conformado por 35 machos y 20 hembras, de los cuales 2 fueron gerontes, 40 fueron adultos y 13 fueron cachorros.

3.3 Diseño de la investigación

El proyecto de investigación es un estudio del tipo descriptivo debido a que no hay manipulación sobre las variables estudiadas, en este estudio la variable es la seroprevalencia a serovares de *Leptospira interrogans*, la cual se describe tal como se presenta. Es del tipo transversal ya que la investigación se realizó en un lapso de tiempo determinado, en esta investigación se realizó una sola toma de muestra en un período de 10 días, para luego describir y analizar los resultados. Es del tipo prospectiva debido a que el inicio de la investigación es anterior a los hechos estudiados y los datos se recolectan a medida que van presentándose.

3.4 Procedimiento

a) Autorización y coordinación del lugar de la investigación

Se inició con la aprobación del proyecto de investigación por parte de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas, y con la coordinación con los representantes de la Comunidad Campesina de Corosha, por medio de la asociación civil "Yunkawasi".

b) Registro de los caninos

Se visitó los hogares de los pobladores para invitarlos a participar de la investigación. A las personas que accedieron a la solicitud se les brindó un consentimiento informado, donde autorizan realizar el examen físico y la toma de muestra sanguínea de su canino.

c) Examen físico

Se realizó el examen físico para determinar el estado general de cada canino, el cuál consistió en toma de constantes fisiológicas, evaluación de la condición corporal la expresada en números del 1 al 5, peso, y evaluación de los sistemas tegumentario, digestivo, cardiovascular, esquelético, reproductor y nervioso. Los datos obtenidos fueron colocados en la ficha de examen físico (Anexo 4,5,6).

d) Recolección de muestra

Para la toma de muestra se sujetó y colocó bozal a los canes. La muestra sanguínea se obtuvo por punción de la vena cefálica con una aguja 21 G x 1 ½", previa desinfección con alcohol. Se colectaron 2ml de sangre en un tubo al vacío sin anticoagulante, el cual fue rotulado con el código correspondiente y almacenado en un cooler con bolsas de hielo (Anexo 7). Luego las muestras fueron centrifugadas durante 5 minutos a 3500 rpm. y los sueros obtenidos fueron almacenados a -20 °C, hasta el momento del análisis.

e) Procesamiento de la muestra

Las 55 muestras sanguíneas fueron enviadas al Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, fueron analizadas mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para detectar la presencia de anticuerpos específicos para 6 serovares de *Leptospira* (brastislava, canicola, georgia grippothyphosa, icterohaemorrhagiae, pomona). La prueba MAT, ha sido estandarizada por la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal) en el siguiente procedimiento:

- Las leptospiras se cultivan en tubos con 5 ml del medio de cultivo líquido Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) específico para leptospiras, a una temperatura de 28 °C durante 4 – 8 días.

- Se evalúa el crecimiento de cada serovar hasta obtener una cantidad de $1-2 \times 10^8$ leptospiras/ml, equivalente a una transmitancia de 60-70% utilizando espectrofotómetro con filtro a 400nm.
- Luego se evalúa la viabilidad celular y la ausencia de contaminación utilizando un microscopio de campo oscuro.
- En los tubos que se obtenga un adecuado crecimiento se mantienen a temperatura ambiente hasta su uso en la prueba MAT.
- Diluir las muestras en microplacas que contienen solución salina fisiológica (CINa 0.85%) para evaluar títulos de 1/25, 1/50, 1/100 frente a antígenos vivos de leptospira.
- Incubar a 28 °C durante 2 horas en oscuridad, los sueros con aglutinación no menor del 50% de las leptospiras se consideran seropositivos o seroreactivos al respectivo título o dilución. Colocar el suero a estudiar con leptospiras cultivadas.
- Se detecta los anticuerpos por medio de microaglutinación usando un microscopio de campo oscuro.

f) Análisis de los datos

Los resultados que se obtuvieron del laboratorio fueron registrados en una ficha de recolección de datos donde se indicaron los serovares y los títulos de anticuerpos. 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 (Anexo 8).

3.5 Diseño estadístico

Para el análisis de los resultados de la investigación se utilizó la siguiente fórmula para expresar la prevalencia de cada uno de los serovares de *Leptospira* hallados en el estudio.

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ total de muestras positivas}}{\text{N}^\circ \text{ total de muestras evaluadas}} \times 100 \pm \text{IC } 95 \%$$

IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos demostraron la presencia de los 6 serovares de leptospira en los caninos de la Comunidad Campesina de Corosha, los cuales al examen físico no mostraron signos asociados a leptospirosis, ni de otra enfermedad infecciosa. Cabe resaltar que 34 de los caninos no tienen vacunas para ninguna enfermedad y 21 poseen vacunas para virus de la rabia, de los cuales 2 poseen además vacuna para distemper y parvovirus.

De los 55 caninos (*Canis lupus familiaris*) provenientes de la Comunidad Campesina de Corosha, se obtuvo que un 87,27% (48/55) resultaron positivos a uno o más serovares de *Leptospira interrogans*. Los serovares analizados fueron: Bratislava, Canicola, Georgia, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae y Pomona, siendo el serovar Grippotyphosa el más frecuente 54,55% (32/55) y el menos frecuente el serovar Georgia 21,82% (12/55).

Cuadro 1. Prevalencia de serovares de *Leptospira interrogans* hallados en caninos (n=55) provenientes de la Comunidad Campesina de Corosha, Región Amazonas, 2017.

Serovares de leptospira	N° de animales positivos	Prevalencia %	IC 95%
Grippotyphosa	32/55	58,18	45,15 – 71,21
Icterohaemorrhagiae	30/55	54,55	41,40 – 67,70
Pomona	22/55	40,00	27,05 – 52,95
Canicola	18/55	32,73	20,32 – 45,14
Bratislava	17/55	30,91	18,7 – 43,12
Georgia	12/55	21,82	10,9 – 32,74
Total	48/55	87,27	78,47 – 96,07

Se halló que un 70,91% (39/55) de los caninos resultaron positivos a más de un serovar de *Leptospira interrogans*; las reacciones más frecuentes fueron a 2 serovares, entre los cuales comúnmente se halló la asociación icterohaemorrhagiae – pomona y grippotyphosa – icterohaemorrhagiae.

Cuadro 2. Prevalencia de anticuerpos a uno o más de un serovar de *Leptospira interrogans* de los caninos provenientes de la Comunidad Campesina de Corosha, 2017.

N° de serovares	N° de animales positivos	Prevalencia %	IC 95%
1 serovar	9/55	16,36	6,58 – 26,14
2 serovares	17/55	30,91	18,7 – 43,12
3 serovares	9/55	16,36	6,58 – 26,14
4 serovares	7/55	12,73	3,92 – 1,54
5 serovares	3/55	5,45	0 – 11,33
6 serovares	3/55	5,45	0 – 11,33
Total	48/55	87,27	78,47 – 96,07

Los títulos de anticuerpo contra los 6 serovares de *Leptospira interrogans* estudiados, muestran que la mayoría obtuvo títulos de 1/100, seguido por 1/200, y únicamente el serovar canicola obtuvo el título más alto que fue 1/400.

Cuadro 3. Títulos de anticuerpo contra serovares de *Leptospira interrogans* mediante la prueba de MAT, en caninos provenientes de la Comunidad Campesina de Corosha en la Región Amazonas, 2017.

Serovares de leptospira	N° de animales positivos	Títulos de anticuerpo		
		1/100	1/200	1/400
Grippotyphosa	32/55	26	6	0
Icterohaemorrhagiae	30/55	25	5	0
Pomona	22/55	20	2	0
Canicola	18/55	17	0	1
Bratislava	17/55	15	2	0
Georgia	12/55	12	0	0

De los caninos estudiados, un 90,00% (18/20) de las hembras resultaron seropositivas a la prueba de MAT, mientras que un 85,71% (30/35) de los machos resultaron seropositivos a la prueba de MAT, la diferencia es poco significativa. Además, el serovar Icteroharmorrhagiae fue el de mayor seroprevalencia en las hembras, y en los machos fue el serovar grippotyphosa.

Cuadro 4. Prevalencia de *Leptospira interrogans*, en caninos hembras y machos de la Comunidad Campesina de Corosha, Región Amazonas, 2017.

Sexo	N° de animales	N° de animales positivos	Prevalencia %	IC 95%
Hembras	20	18	90,00	70,86 – 103,14
Machos	35	30	85,71	74,12 – 97,30
Total	55	48	87,27	78,47 – 96,07

Los caninos adultos seropositivos tuvieron una prevalencia de 87,5% (35/40), con una diferencia poco significativa con los cachorros que obtuvieron una prevalencia de 84,61% (11/13). Lo cachorros fueron seropositivos mayormente al serovar grippotyphosa, los adultos al serovar icterohaemorrhagiae y los gerontes a los serovares canicola e icterohaemorrhagiae.

Cuadro 5. Prevalencia de leptospira en caninos clasificados según grupo etario de la Comunidad Campesina de Corosha, Región Amazonas, 2017.

Grupo etario	N° de animales	N° de animales positivos	Prevalencia %	IC 95%
Cachorros	13	11	84,62	65,01 – 104,23
Adultos	40	35	87,50	77,25 – 97,75
Gerontes	2	2	100,00	---
Total	55	48	87,27	78,47 – 96,07

V. DISCUSIÓN

La presente investigación es el primer estudio que se realiza sobre seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en caninos en la región Amazonas. Existen investigaciones sobre la seroprevalencia de esta bacteria en el Perú, sin embargo, son pocas las desarrolladas en la región de la Selva, encontrándose estudios en los departamentos de Ucayali, Madre de Dios y Loreto, donde se encontraron caninos positivos a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* (25,26,32,33)

Este estudio obtuvo como resultado que un 87,27% de los caninos fueron positivos a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans*, un valor muy elevado a lo reportado en otras investigaciones realizadas en la región de la selva, como Céspedes y col. (66,6%) en Madre de Dios (32), García (56,66%) en Madre de Dios (26), Céspedes y col. (52,2%) en Ucayali (33) y Figari (59%) en Iquitos (25). Se considera que las condiciones medioambientales, la presencia de abundantes caninos y otros animales domésticos que circulan libremente en la comunidad, la presencia de roedores, y además las bajas condiciones de saneamiento, estarían influyendo a la alta seroprevalencia de *Leptospira interrogans*.

Se debe tener en cuenta que la bacteria está ampliamente distribuida en la naturaleza, pero que para subsistir necesita de ciertas condiciones ambientales, principalmente alta humedad y temperatura cálida. Debido a esto los casos reportados de brotes de leptopirosis tanto en humanos como animales han sido relacionados a climas tropicales, épocas de lluvias y ha desastres naturales como inundaciones (2,3,7). Sin embargo, este estudio encontró una elevada seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en los caninos a pesar de que las muestras fueron obtenidas en temporada seca de la región. Se considera que otros factores pueden estar relacionados a la alta presencia de la bacteria en el medio ambiente, como la alta densidad de animales dentro de la comunidad, por ello es de importancia determinar los acontecimientos que contribuyen a esto mediante más investigaciones.

Para detectar los anticuerpos específicos contra 6 serovares de *Leptospira interrogans* en los caninos, se usó la prueba de aglutinación microscópica (MAT). Los títulos de anticuerpos obtenidos de la prueba fueron entre 1/100, 1/200 y 1/400, siendo este último hallado solo en un canino. Estos títulos son considerados bajos comúnmente relacionadas a vacunaciones, pero también a infecciones previas o estados de portador (23,45,47). Esto concuerda con los resultados del examen físico, ya que ninguno mostraba signos relacionados a leptospirosis (anexo 4,5,6); de igual manera, ninguno había recibido vacunas contra *Leptospira interrogans*. Debido a esto se puede afirmar que los caninos han tenido un grado de exposición a la bacteria, y se necesitarían realizar más exámenes y estudios que evalúen la evolución de la reacción del sistema inmunológico para determinar si es una infección reciente o pasada.

Los 6 serovares de *Leptospira interrogans* considerados para el estudio fueron grippotyphosa, icterohaemorrhagiae, pomona, canicola, bratislava y georgia. Esto debido a que son de mayor importancia clínica en medicina veterinaria, y además porque han sido reportados como causantes de leptospirosis humana en el Perú, donde además estos casos en su mayoría fueron reportados en regiones de la selva (6).

Los serovares que presentaron mayor seroprevalencia fueron grippotyphosa (58,18%) icterohaemorrhagiae (54,55%) y pomona (40%). Otros estudios similares realizados en la región selva refieren valores inferiores como García en Madre de Dios, grippotyphosa (16,67%), icterohaemorrhagiae (10,00), pomona (0%) (26), y Céspedes y col. en Ucayali, icterohaemorrhagiae (25,95%), donde grippotyphosa y Pomona se reportaron en baja prevalencia (32,33). Esto puede deberse a la abundante presencia de animales dentro de la comunidad que actúan como los principales reservorios de estos serovares, como los caninos y los roedores (5,15).

El 32,73% de los caninos fueron positivos a la presencia de anticuerpos contra el serovar canicola, similar a lo reportado por Céspedes y col. (33,7%) en Ucayali (33). Este serovar tiene como principal reservorio al canino doméstico, pero también ha sido reportado en otros animales domésticos y silvestres (5,15), lo que es importante considerar ya que la

comunidad colinda con áreas que son habitadas por animales silvestres que pueden ser parte del ciclo de transmisión de la bacteria.

El 30,91 % de los caninos fueron positivos a la presencia de anticuerpos contra el serovar bratislava, en otras investigaciones como la de García obtuvo una prevalencia mayor (40%) (26), y no fue reportada en las investigaciones realizadas por Céspedes y col. en Ucayali y en Madre de Dios (32,33). Este serovar tiene como su principal reservorio al caballo, pero también ha sido reportado en otros animales domésticos (5,15).

El 21,82% de los caninos fueron positivos a la presencia de anticuerpos contra el serovar georgia. Céspedes y col. en Madre de Dios lo reportaron como una de los serovares con mayor prevalencia (44,4%) en su estudio (32). Este serovar ha sido reportado en varias especies de animales como los caninos domésticos y animales silvestres (5,15).

Se determino que un 70,91% de los caninos fueron positivos para más de un serovar de *Leptospira interrogans*, donde las reacciones más frecuentes fueron entre los serovares icterohaemorrhagiae – pomona y entre grippotyphosa – icterohaemorrhagiae. Es común este hallazgo ya que los distintos serovares pueden compartir antígenos superficiales y conllevar a reacciones cruzadas, como también pueden existir infecciones simultáneas o en distintas épocas donde aún quedan anticuerpos circulantes (2,4).

Los resultados en el presente estudio evidencian que hay una importante circulación de los 6 serovares de *Leptospira interrogans* entre los caninos, los cuales son susceptibles a la infección por la alta exposición a la bacteria, ya sea por la convivencia con otros animales domésticos y silvestres, como también por las condiciones medioambientales y su estilo de vida, ya que la mayoría andan libres en la comunidad. Los caninos son de importancia en la comunidad principalmente porque cumplen ciertas funciones como la protección de propiedades y del ganado, y la gran mayoría de ellos no tienen atención veterinaria, lo cual constituye un riesgo en la introducción y el mantenimiento de enfermedades infecciosas.

El estudio considero la posible relación entre la presentación de anticuerpos para leptospira y la variable sexo. Donde el 90% (18/20) de las hembras y el 85,71% (30/35) de los machos resultaron seropositivos a leptospira. La diferencia fue poco significativa en este estudio, similar a los reportado por Figari en el departamento de Iquitos (25). En relación con los serovares, icterohaemorrhagiae fue más frecuente en las hembras, mientras que grippotyphosa fue más frecuente en los machos.

El estudio también considero la posible relación entre la presentación de anticuerpos para leptospira y el grupo etario. Donde se obtuvieron las siguientes seroprevalencias: adultos 87,5% (35/40), cachorros 84,61% (11/13) y gerontes 100% (2/2). La diferencia se consideró como poco significativa. El serovar más frecuente encontrado en cachorros fue grippotyphosa, en los adultos icterohaemorrhagiae y en los gerontes canicola e icterohaemorrhagiae.

Investigaciones han demostrado que el sexo y el grupo etario si son factores de riesgo para la presentación de la enfermedad, se ha descrito que caninos adultos y machos son los más vulnerables basándose principalmente en la actividad, por el marcaje de territorio y el vagabundeo; y los adultos son más propensos debido a que tienen mayor contacto con las calles que los más jóvenes (25,27,28). Sin embargo, este estudio demostró que tanto animales jóvenes y adultos, hembras y machos están igualmente expuestos, esto puede deberse a que viven en las mismas condiciones. Pero se debe considerar que el número de caninos no ha sido homogéneo, y este puede influir de manera significativa en los resultados. Por ello para poder determinar con mayor precisión se recomienda aumentar el número de animales y que sean similares en número por cada factor.

Por otro lado, se han descrito ciertos determinantes para la reemergencia de leptospirosis en la región Amazonas, donde se señala que las actividades agrícolas y ganaderas se relacionan con casos de leptospirosis humana, pero principalmente en las zonas rurales de la Amazonía los casos están involucrados por el contacto directo con ríos, saneamiento deficiente y no usar calzado, y en las zonas urbanas se asocia al hacinamiento, saneamiento inadecuado, pobreza, entre otros (57). En la comunidad de Corosha se puede encontrar algunos determinantes, como actividad económica que

principalmente es la agricultura y ganadería, zonas aledañas a ríos y bosques con especies silvestres, además se aprecia el crecimiento poblacional que conlleva a la reducción de áreas naturales y al contacto con el mismo, exponiéndose a enfermedades infecciosas.

La Comunidad de Corosha colinda con áreas de conservación llamada Hierba Buena-Alipacayu, en la cual viven especies biodiversas y endémicas de fauna silvestre como el mono choro cola amarilla (*Lagothrix flavicauda*) y el Osos de anteojos (*Tramarctos ornatus*), teniendo en cuenta que los animales silvestres son también afectados por la bacteria *Leptospira interrogans*, convirtiéndolos en reservorios u hospederos accidentales formando parte de la ecología de la leptospirosis (55,56). Más aún si los caninos están constantemente en contacto con estas áreas, ya que caminan y marcan territorio, contrayendo y diseminando la bacteria. Pues este conjunto de sucesos mantiene a la leptospira en un ciclo constante de transmisión, donde los caninos se convierten en reservorio intermediarios de la transmisión de leptospira entre el hombre y especies silvestres (17).

VI. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en los canes domésticos de la comunidad de Corosha fue de 87,27% (48/55). Resultaron positivos a los siguientes 6 serovares: Bratislava, canicola, Georgia, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae y Pomona. Donde el serovar de mayor prevalencia fue grippotyphosa (58,18%), y el serovar de menor prevalencia fue Georgia (21,82%).
- Se hallaron diferencias poco significativas entre la seroprevalencia de *Leptospira interrogans* y entre las variables sexo y edad, por tanto, se puede determinar que en este estudio que los caninos jóvenes, adultos, hembras y machos se encuentran igualmente expuestos.
- De los caninos que resultaron seropositivos, el 70,91% (39/55) de ellos reaccionaron a más de un serovar, donde las asociaciones más frecuentes fueron entre los serovares icterohaemorrhagiae -grippotyphosa e icterohaemorrhagiae-pomona

VII. RECOMENDACIONES

- Debido a que se halló una alta seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en la investigación se recomienda realizar otros estudios que incluyan otros serovares, para recaudar más información que ayude a comprender el comportamiento epidemiológico de la bacteria dentro de la comunidad de Corosha
- Realizar estudios enfocados en identificar los factores de riesgo en la presentación de leptospirosis canina, para que se pueda esclarecer las formas de transmisión y se puedan establecer las adecuadas medidas de prevención y control.
- Realizar estudios similares incluyendo a otras especies de animales que puedan intervenir en el en el ciclo de transmisión de la bacteria, y así poder reconocer a otros posibles reservorios y diseminadores de *Leptospira*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zunino E, Pizarro R. Leptospirosis. Puesta al día. Rev Chil Infect. 2007; 24(3): 220-226.
2. Vadillo S, Piriz S, Mateos EM. Manual de Microbiología Veterinaria. 1ª ed. Madrid: McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U.; 2002.
3. Organización Panamericana de la salud. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Edición de 2001. Washington, D.C: OPS. 2001; (1): 580
4. Levett P. Leptospirosis. Clin.Microbiol. Rev.2001;14(2): 296-326.
5. Céspedes M. Leptospirosis: Enfermedad zoonótica reemergente. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2005; 22(4): 290-307.
6. Céspedes M, Balda L, Gonzáles Q, Tapia R. Situación de la Leptospirosis en el Perú 1994-2004. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2006; 23(1): 56-66.
7. Quinn P.J, Markey B.K, Carer M.E, Donnelly W.J.C, Leonard F.C. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. 1ª ed. España: ACRIBIA, S.A; 2002.
8. Stanchi N, I. Microbiología Veterinaria. En: Stanchi N, Brihuega B, De las Mercedes E. Leptospiras. Buenos Aires: Intermédica S.A.I.C.I; 2007. Pp. 320-325.
9. Romero C, Falconar A. Leptospira spp. y leptospirosis humana. Salud uninorte.2016; 32(1):123-143
10. Quinn P.J, Markey B.K, Maguire D. Elementos de Microbiología veterinaria. 1ª ed. Zaragoza: ACRIBIA, S.A; 2003.
11. Rodríguez I. El concepto Serovar en Leptospira. Rev electrón vet. 2011; 12(7): 1-4.
12. Faine S. Leptospira and Leptospirosis. 2da.ed. Melbourne: MediSci; 1999.
13. Babudieri B. Animal reservoirs of leptospirosis. Acad.Sci.1958;70:393-413.
14. Carter M, Cordes D. Leptospirosis and other infections of *Rattus rattus* and *Rattus norvegicus*. N Z Vet J. 1980;28:45-50.

15. Arango J, Cittadino E, Agostini A, De Mazzonelli G, Alvarez C, Colusi M, et. al. Prevalencia de leptospiras en *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* en el Gran Buenos Aires Argentina. Ecol. austral.2001;11(1):25-30.
16. Sepúlveda A, Dimas J, Preciado F. La rata y el perro, importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco. Rev cubana Med Trop.2002;54(1):3-21.
17. Romero M, Sanchez J, Gonzales LM. Revisión sobre la importancia de la fauna silvestre en la epidemiología de la leptospirosis. Biosalud. 2011;10(2):112-122.
18. Pacheco, G. Presencia de anticuerpos contra serogrupos patógenos de *Leptospira* spp. En el zorro sechurano (*Lycalopex sechurae*) de vida libre y caninos domésticos en la comunidad campesina José ignacio Távara Pasapera, Piura. [tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
19. Fowler M. Leptospirosis. En: Miller E, Fowler M. Zoo and Wild Animal Medicine current therapy 5. Estados Unidos. Saunders Published;2003.
20. Licerias de Hidalgo J. Leptospirosis en Tingo María Departamento de Huanuco Peru II. Estudio en animales silvestres. Bol Ofic Sanit Panam. 1981;91(1):47-54.
21. Lindtner-knific R, Vergles-Rataj A, Vlahovic K, Zrimsek P, Dovc A. Prevalence of antibodies against *Leptospira* sp. in snakes, lizards and turtles in slovenia. Acta. Vet Scand.2013;55:65
22. Steele J. La epidemiología de la Leptospirosis en Estados Unidos con referencia especial a los animales silvestres como reservorios. OSP. 1959; 47(4):299-305.
23. Greene C. Enfermedades infecciosas del perro y el gato.3ª ed. Vol1. Buenos Aires: Intermédica S.A.I.C.I; 2008
24. Perú, Ministerio de Salud, Dirección General de salud de las personas, Programa Nacional de Control de Zoonosis, Oficina General de Epidemiología. Manual de Vigilancia y Control de Leptospirosis. Lima: Ministerio de Salud; 1998.
25. Figari, LF. Anticuerpos anti-leptospira spp. En perros (*Canis familiaris*) por MAT en Iquitos-Perú. [tesis de grado]. Lima: Universidad Alas Peruanas; 2004.
26. García A. Serpgrupos de *Leptospira* en canes domésticos (*Canes familiaris*) de la comunidad nativa infierno en la Región de Madre de Dios. [tesis de grado]. Lima: Universidad Alas Peruanas; 2016.

27. Siuce J, Calle S, Pinto J, Pacheco G, Salvatierra G. Identificación de serogrupos patógenos de *Leptospira* en canes domésticos. Rev. inv. vet. Perú. 2015;26(4):664-675.
28. Huerta C, Chilón V, Díaz D. Estudio de caso-control para evaluar factores de riesgo en la presentación de Leptospirosis canina en la ciudad de Lima. Rev Inv Vet Perú. 2013; 24(1): 111-117.
29. Romero C. Prevalencia de Leptospirosis canina en el centro poblado de Nuevo Sullana, 2014. [tesis de grado]. Piura: Universidad Nacional de Piura; 2014.
30. Sacaquispe R, Glenny M, Céspedes M. Estudio preliminar de la leptospirosis en roedores y canes en salitral, Piura 1999. Rev. perú. med. exp. salud pública. 2003;20(1):39-40.
31. Céspedes M, et al. Prevalencia de Anticuerpos contra *Leptospira* en personas asintomáticas y en perros de Chancay, Lima 2001. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2007; 24(4): 343-349.
32. Céspedes M, Ormaeche M, Condori P, Balda L, Glenny M. Prevalencia de leptospirosis y los factores de riesgo en personas con antecedentes de Fiebre en la provincia de Manu, Madre de Dios, Perú. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2003; 20(4):180-185.
33. Céspedes M, Fernandez R, Rimarachin R, Taipe H, Cenepo J, Mori y Gonzales M, et al. Leptospirosis: Una enfermedad zoonótica hiperendémica en la provincia de Coronel Portillo. Ucayali, Perú. Rev peru med exp salud pública. 2004;21(2):62-70
34. Costa F, Martinez M, Hagan J, Harstkeerl R, Galvao M, Icksang A. Surveillance for leptospirosis in the Americas, 1996-2005: a review of data from ministries of health. Rev. Panam Salud Pública. 2012;32(3):77-169.
35. Darela R, Roosevelt P, Meire E, Santos O. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. Cad. Saude Pública. 2005;21(6):1952-1956.
36. Magalhaes D, Silva J, Moreira E, Wilke V, Hadded J, Meneses J. Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002 . Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2006;58(2):167-174.

37. Organización panamericana de la salud. Reunión internacional de países que están enfrentando brotes de leptospirosis en las Americas. Managua.:OPS;2012.
38. Vanasco N, Sequeira G, Dalla M, Fusco S, De Sequeira M, Eria D. Descripción de un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fe, Argentina, marzo-abril 1998. *Rev. Panam salud Publica.* 2000;7(1):35-40.
39. Rivera A, De la Peña A, De los Angeles M, Ordoñez M. Seroprevalencia del leptospirosis en perros callejeros del norte de la ciudad del norte de la ciudad de Mexico. *Vet Mex.* 1999;30(1):105-107.
40. Berdasquera D, Rodriguez I, Obregon A, Fernandez C, Segura R, De la Claridad E. Brote de leptospirosis humana en la provincia Guantánamo. *Rev.Cubana Med Trop.* 2007;59(1):9-24.
41. Alonso C, Garcia F.J, Ortega L. Epidemiologia, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. *Invest. Agr Prod. Sanid. Anim.*2001;16(2):205-225.
42. Boza R. Sobre la patogenesis de la leptospirosis. *Rev. costarric.cienc.med.*1999;20(1-2);115-120.
43. Del Real G, Segers R, Van der Zeijs B, Gaastra W. Cloning of a hemolysin gene from *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Infect immun.* 1989;57(8):88-90.
44. Volina E, Levina L, Soboleva G. Phospholipase activity and virulence of pathogenic leptospira. *Epidemiol Microb Immunol.* 1986; 30:163-169.
45. Hartman E, Van H, Frik J, Van der Donk J. Humoral immune response of dogs after vaccination against leptospirosis measured by an IgM and IgG specific ELISA. *Vet immunol inmunopathol.* 1984;7(3-4):245-54.
46. Carrada T. Leptospirosis humana. Historia natural diagnóstico y tratamiento. *Rev Mex Patol Clin.* 2005;52(4):246-256.
47. Ramsey I, Tennant B. Manual de enfermedades infecciosas en pequeños animales. España: Ediciones S; 2012.
48. Linzitto O, Orellana J. Leptospirosis clínica humana y animal. *Revista de enfermedades infecciosas emergentes.* 2008;3(2);15-19.
49. Willard M, Tvedten H. Diagnostico clinicopatológico practico en los pequeños animales. 4ª ed. Buenos Aires: Intermédica S.A.I.C.I; 2004.
50. Organización Mundial de la Salud (2008) Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Manuales técnicos

51. Carneiro M, Giacomini L, Costa M. Leptospirosis asociada a la exposición ocupacional: Estudio clínico y epidemiológico. *Rev chil infect.* 2004;21(4):339-344.
52. Spiri A, Rodriguez-Campos S, Matos J, Glaus T, Riond B, Reusch C, Hofmann-Lehmann R, Willi B. Clinical, Serological and echocardiographic examination of healthy field dogs before and after vaccination with a comercial tetravalent leptospirosis vaccine. *BMC Veterinary Research.* 2017; 138(13):1-10.
53. Bouvet J, Cariou C, Valfort W, Villard S, Hilare F, Oberli F, et al. Efficacy of multivalent DAPPi-Lmulti canine vaccine against mortality, clinical sings, infection, bacterial excretion, renal carriage and renal lesions caused by *Leptospira* experimental challenges. *Vaccine Reports.* 2016; 6:23-28.
54. Martínez R, Pérez A, Baró M, Alvarez AM, Menéndez J, Díaz M, et al. Evaluación de la efectividad de una nueva vacuna contra la leptospirosis humana en grupos de riesgo. *Rev Panam Salud Pública.* 2000;8(6):385-392.
55. Perú, Gobierno Regional de Amazonas. Zonificación Ecológica y Economía del Departamento de Amazonas. Lima: Gobierno Regional de Amazonas; 2012
56. Perú, Gobierno Regional de Amazonas. Estrategia Regional de la Diversidad Biológica de Amazonas. Lima: Gobierno Regional de Amazonas; 2013
57. Donaires L, Céspedes M, Sihuincha M, Pachas, P. Determinantes ambientales y sociales para la reemergencia de la leptospirosis en la región amazónica del Perú, 2012. *Rev perú med exp. Salud Pública.* 2012;29(2), 280-284.

ANEXOS

Anexo 1



N° de casos (Confirmados + Probables) de Leptospirosis por años Perú 2004 – 2017*

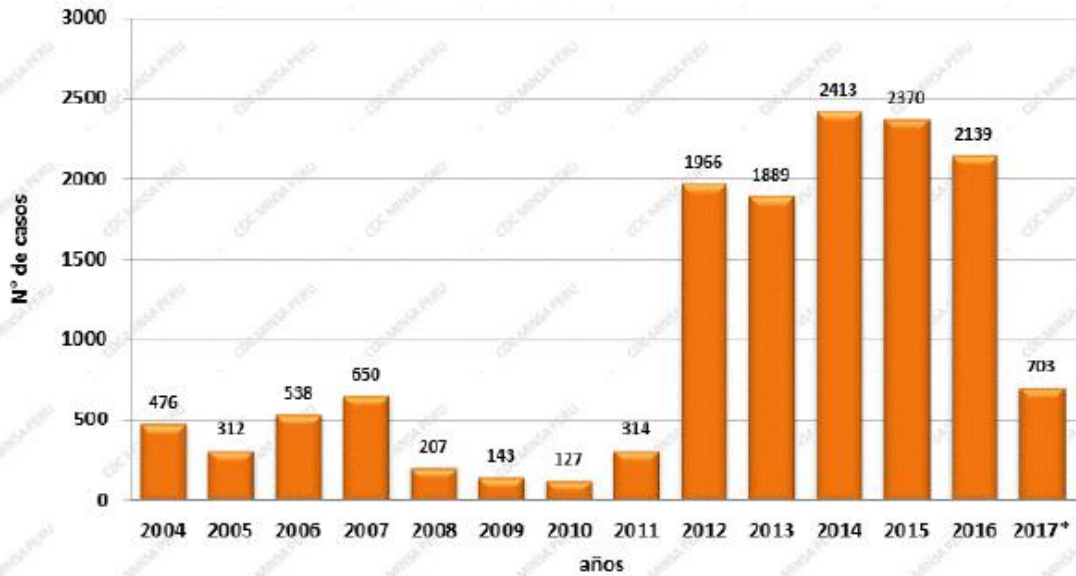
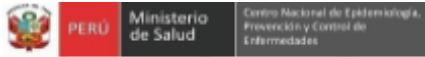


Figura 1: Número de casos confirmados + probables de leptospirosis por años Perú 2004- 2017.

Fuente: Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y control de enfermedades – MINSA.

Anexo 2



Leptospirosis según departamentos Perú años 2004 – 2016 y 2017*

DEPARTAMENTOS	AÑOS														
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017*	
LORETO	278	190	241	396	38	38	20	165	1730	1282	1468	320	468	161	
MADRE DE DIOS	16	19	33	104	36	30	43	15	1	15	367	1511	1001	69	
UCAYALI	126	51	53	28	17	12	5	28	83	19	34	25	89	296	
SAN MARTIN	2	2	7	0	0	2	2	1	39	344	183	53	51	29	
AYACUCHO	0	0	29	37	26	4	6	29	7	53	72	75	258	75	
TUMBES	0	0	1	0	0	2	2	24	20	53	79	186	30	9	
CUSCO	0	0	66	16	28	25	7	19	22	12	17	8	66	5	
LIMA	28	0	42	31	6	6	14	6	6	28	32	28	25	16	
HUANUCO	22	37	26	21	18	16	7	9	1	7	5	6	20	1	
LAMBAYEQUE	1	4	12	4	3	5	1	5	0	10	10	66	27	17	
PIURA	3	4	3	1	3	3	0	1	1	7	66	31	8	2	
AMAZONAS	0	1	1	0	2	0	1	0	35	5	36	22	12	1	
LA LIBERTAD	0	1	1	5	5	0	3	4	10	32	11	4	23	9	
CAJAMARCA	0	1	2	2	21	0	5	4	7	7	8	11	28	2	
JUNIN	0	1	6	3	2	0	7	1	3	9	14	9	20	5	
ANCASH	0	0	3	1	0	0	1	1	1	3	4	6	3	1	
PASCO	0	1	2	0	0	0	0	0	0	2	1	4	3	3	
PUNO	0	0	7	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0	
APURIMAC	0	0	2	0	0	0	3	1	0	0	1	1	1	0	
CALLAO	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	
MOQUEGUA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	1	0	
ICA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	
HUANCAVELICA	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
AREQUIPA	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
TACNA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total general	476	312	538	650	207	143	127	314	1966	1889	2413	2370	2139	703	

Figura 2: Leptospirosis según departamentos, Perú años 2004-2017

Fuente: Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y control de enfermedades – MINSA.

Anexo 3

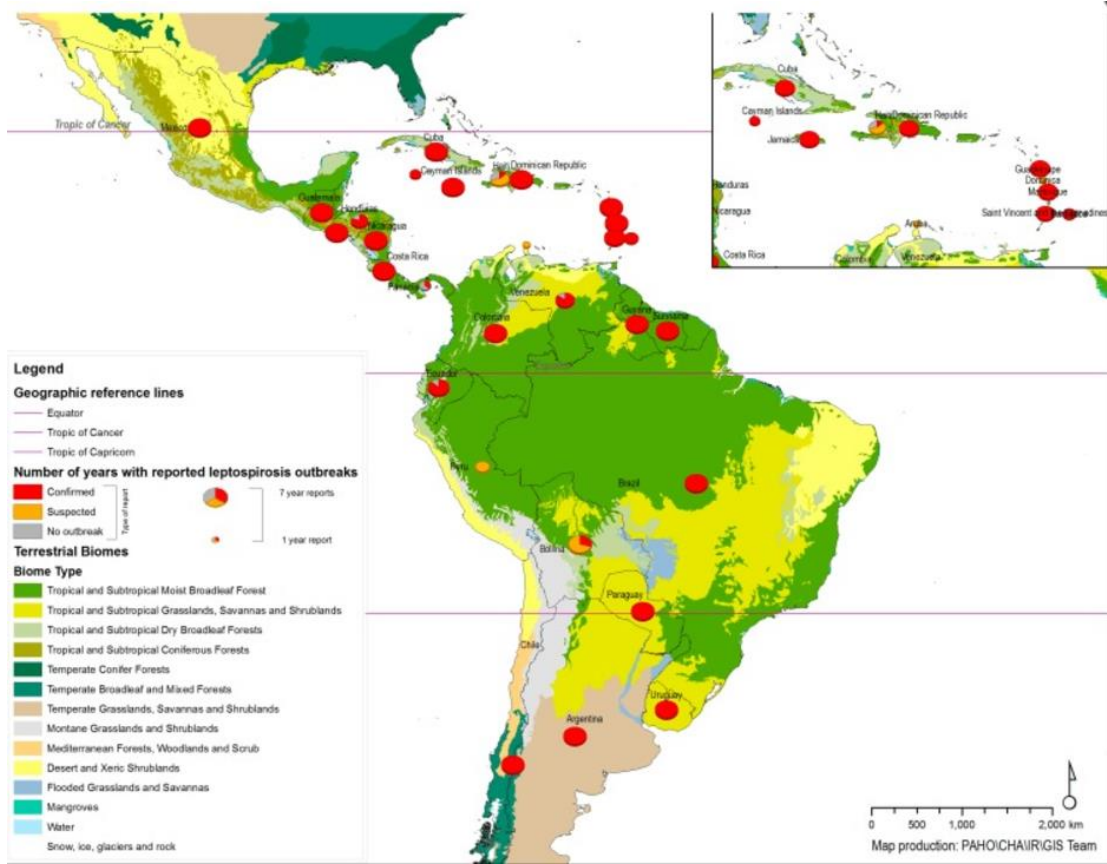


Figura 3: Brote de Leptospiriosis animal reportados por OIE de 2005 -2011.

Fuente: Petrakovsky et al. 2014

Anexo 4

N°	Código	Sexo	Edad (años)	Peso (Kg.)	Vacuna	Observaciones
1	B-02	Hembra	4		Antirrábica	Presencia de pulgas.
2	B-03	Hembra	3	11	Antirrábica	Ninguna.
3	B-04	Macho	4	8	Antirrábica	Presencia de pulgas
4	B-05	Macho	6	7	Antirrabica/ Distemper parvovirus	Presencia de pulgas.
5	B-06	Macho	11 años	10	Ninguna	Baja condición corporal, arritmias, verrugas en la piel. Presencia pulgas.
6	B-07	Macho	Indeterminado	10.5	Ninguna	Lesión en la piel en la zona lumbar.
7	B-09	Hembra	2		Ninguna	Ninguna.
8	B-10	Macho	2		Ninguna	Baja condición corporal. Lesiones en cavidad oral.
9	B-11	Macho	2	5	Ninguna	Baja condición corporal.
10	B-12	Hembra	1	5	Ninguna	Ninguna.
11	B-13	Hembra	3.5	10	Ninguna	Celo.
12	B-14	Hembra	2	9	Antirrábica	Ninguna.
13	B-15	Macho	0.6	5.5	Distemper parvovirus	Ninguna.
14	B-17	Hembra	0.5	3	Ninguna	Baja condición corporal.
15	B-18	Hembra	2	11	Ninguna	Baja condición corporal. Presencia de pulgas.
16	B-19	Macho	1	12	Ninguna	Ninguna.
17	B-21	Macho	7	15	Antirrábica	Presencia de pugas y larva de mosca.
18	B-22	Macho	2.3	12	Ninguna	Ninguna.
19	B-23	Macho	3	8	Ninguna	Ninguna.
20	B-24	Macho	0.6	13	Antirrábica	Presencia de pulgas y garrapatas.
21	B-25	Macho	15	12	Antirrábica	Ninguna.
22	B-26	Macho	2	18	Antirrábica	Lesión oral por ingestión de hueso.
23	B-27	Macho	4	13	Ninguna	Problemas respiratorios hace 2 semanas.
24	B-28	Macho	3	5	Antirrábica	Ninguna.
25	B-29	Hembra	0.8	3	Ninguna	Ninguna.

Figura 4: Datos registrados del examen físico realizado a los caninos de la comunidad de Corosha.

Fuente: Propia

N°	Código	Sexo	Edad (años)	Peso (Kg.)	Vacuna	Observaciones
26	B-30	Macho	2	18	Ninguna	Presencia de pulgas.
27	B-31	Macho	0.3	3	Ninguna	Mucosas pálidas, abalonomamiento del abdomen y baja condición corporal.
28	B-32	Hembra	3	17	Ninguna	Lesión en miembro anterior derecho, Ausencia del ojo derecho, baja condición corporal.
29	B-34	Hembra	6	12	Ninguna	Baja condición corporal.
30	B-35	Hembra	2	9	Antirrábica	Enfermedad respiratoria recientemente.
31	B-36	Hembra	0.3	2	Ninguna	Presencia de pulgas.
32	B-37	Macho	5	20	Ninguna	Lesión en miembro anterior derecho con secreción purulenta.
33	B-38	Macho	2	15	Antirrábica	Baja condición corporal.
34	B-39	Macho	1.5	17	Antirrábica	Ninguna.
35	B-40	Macho	1.5	14	Antirrábica	Ninguna.
36	B-41	Nacho	1.5	10	Antirrábica	Ninguna.
37	B-42	Macho	0.6	8	Ninguna	Ninguna.
38	B-43	Macho	0.10	6	Ninguna	Baja condición corporal.
39	B-44	Macho	Adulto	6	Ninguna	Nistagmo.
40	B-45	Macho	3	8	Ninguna	Dolor lumbar.
41	B-46	Macho	2	15	Antirrábica	Inapetencia.
42	B-47	Macho	1.5	8	Ninguna.	Presencia de pulgas.
43	B-48	Hembra	0.2	3.5	Ninguna	Baja condición corporal. Presencia de pulgas.
44	B-49	Hembra	2	4	Ninguna.	Dermatitis por pulgas en zona lumbar. Tuvo crías hace 15 días.
45	B-50	Macho	4	12	Ninguna	Presencia de pulgas.
46	B-51	Hembra	5	20	Antirrábica	Presencia de pulgas
47	B-52	Hembra	1	16	Ninguna	Baja condición corporal.
48	B-53	Macho	1	13	Ninguna	Presencia de pulgas.
49	B-55	Macho	0.5	1	Ninguna	Baja coondicion corporal.
50	B-56	Hembra	0.3	2	Ninguna	Baja condición corporal. Hace días emesis
51	B-57	Hembra	0.4	6	Ninguna	Baja condición corporal. Presencia de pulgas
52	B-58	Macho	2	14	Antirrábica	Baja condición corporal.
53	B-60	Macho	0.9	25	Ninguna	Ninguna.
54	B-61	Hembra	0.9	25	Ninguna	Ninguna.
55	B-62	Macho	6	13	Antirrábica	Ninguna.

Figura 4 : Datos registrados del examen físico realizado a los caninos de la comunidad de Corosha

Fuente: Propia

Anexo 5

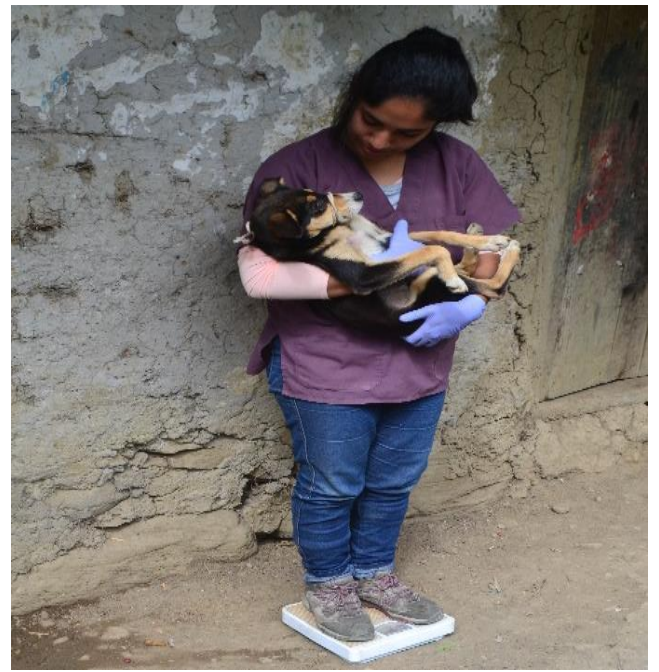


Figura 5: Examen físico de los caninos de la Comunidad de Corosha.

Fuente: Propia

Anexo 6

Examen físico	Resultados
Temperatura	37.6 – 39.4
Condición corporal	1 - 3
Color de mucosas	Rosadas
% de Deshidratación	< 5%

Figura 6: Promedio de los principales datos recogidos en el examen físico de los caninos de la comunidad de Corosha.

Fuente: Propia.

Anexo 7



Figura 7: Toma de muestra de sanguina a un canino de la Comunidad de Corosha.

Fuente: Propia.

Anexo 8

N°	Código	Bratislava	Canicola	Georgia	Grippotyphosa	Icterohaemorrhagiae	Pomona
1	B-02	1/100	1/400	1/100	1/200	1/200	1/100
2	B-03	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100
3	B-04	1/100	1/100	1/100	1/200	1/100	Negativo
4	B-05	Negativo	1/100	Negativo	Negativo	Negativo	1/100
5	B-06	1/100	1/100	Negativo	Negativo	1/100	1/100
6	B-07	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
7	B-09	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100
8	B-10	1/100	1/100	Negativo	1/100	Negativo	Negativo
9	B-11	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	Negativo
10	B-12	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
11	B-13	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo	Negativo
12	B-14	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100
13	B-15	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14	B-17	Negativo	1/100	1/100	Negativo	1/100	Negativo
15	B-18	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100
16	B-19	1/100	1/100	Negativo	1/100	1/200	1/100
17	B-21	1/100	1/100	Negativo	Negativo	1/200	Negativo
18	B-22	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
19	B-23	Negativo	Negativo	1/100	1/100	1/100	Negativo
20	B-24	1/100	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo
21	B-25	1/100	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo
22	B-26	Negativo	1/100	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
23	B-27	1/100	1/100	Negativo	Negativo	1/100	1/200
24	B-28	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100
25	B-29	1/100	Negativo	1/100	1/100	1/100	Negativo
26	B-30	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100
27	B-31	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	Negativo	Negativo
28	B-32	Negativo	Negativo	1/100	Negativo	1/100	Negativo
29	B-34	Negativo	1/100	Negativo	1/100	1/200	Negativo
30	B-35	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
31	B-36	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100
32	B-37	1/100	Negativo	1/100	1/100	1/100	1/200
33	B-38	1/200	1/100	Negativo	1/100	1/100	Negativo
34	B-39	1/100	1/100	1/100	1/100	1/200	1/100
35	B-40	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo
36	B-41	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100
37	B-42	Negativo	1/100	Negativo	1/100	Negativo	1/100
38	B-43	1/100	Negativo	Negativo	1/200	Negativo	Negativo
39	B-44	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	Negativo
40	B-45	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo	Negativo
41	B-46	Negativo	Negativo	1/100	1/200	Negativo	Negativo
42	B-47	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	Negativo	Negativo
43	B-48	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo
44	B-49	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo
45	B-50	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
46	B-51	1/100	Negativo	Negativo	1/100	Negativo	Negativo
47	B-52	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100
48	B-53	Negativo	1/100	Negativo	1/100	1/100	1/100
49	B-55	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
50	B-56	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	Negativo	Negativo
51	B-57	1/100	Negativo	Negativo	1/100	Negativo	1/100
52	B-58	Negativo	1/100	Negativo	1/100	1/100	1/100
53	B-60	Negativo	Negativo	Negativo	1/200	Negativo	1/100
54	B-61	1/200	Negativo	Negativo	1/200	1/100	1/100
55	B-62	Negativo	Negativo	Negativo	1/100	1/100	Negativo

Figura 8: Registro de Títulos de anticuerpos obtenidos de la prueba de Microaglutinación Microscópica.

Fuente: Laboratorio de Bacteriología y Micología de la facultad de Medicina veterinaria de la universidad Mayor de San Marcos.