



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Identificación serológica de serogrupos de *Leptospira*
spp. en porcinos de crianza tecnificada y artesanal en
la provincia de Lima**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Renato PALOMINO VÁSQUEZ

ASESOR

Mg. Sonia Yenny CALLE ESPINOZA

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Palomino R. Identificación serológica de serogrupos de *Leptospira* spp. en porcinos de crianza tecnificada y artesanal en la provincia de Lima [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2018.

Información complementaria

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Renato Palomino Vásquez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46815788
URL de ORCID	No aplica
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Sonia Yenny Calle Espinoza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10321145
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4955-2378
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	César Miguel Gavidia Chucán
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09222190
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Alfredo Delgado Castro
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06155381
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Alberto Gustavo Manchego Sayán
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	15619652
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.4.1.5. Microbiología y Parasitología Veterinaria
Grupo de investigación	Microbiología Aplicada a la Salud Pública, Animal y de Impacto Ambiental.
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Tesis de Pregrado. PMI2013J04.
Ubicación geográfica de la investigación	Lugar: Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, sección Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Latitud: -12.080917 Longitud: -76.987626
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2013 - 2014
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el **martes 21 de agosto de 2018**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 0205-EPMV/FMV-2017, integrado por los siguientes profesores:

PhD. César Gavidia Chucán	Presidente del Jurado
Blg. Mg. Sonia Yenny Calle Espinoza	Asesor de la Tesis
MV. Mg. Alfredo Delgado Castro	Miembro del Jurado
MV. Mg. Alberto Manchego Sayán	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **PALOMINO VÁSQUEZ, RENATO** para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

“IDENTIFICACIÓN SEROLÓGICA DE SEROGRUPOS DE *Leptospira* spp. EN PORCINOS DE CRIANZA TECNIFICADA Y ARTESANAL EN LA PROVINCIA DE LIMA”

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISIETE (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **1:30 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:



Firmado digitalmente por GAVIDIA
CHUCAN Cesar Miguel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.06.2022 15:34:24 -05:00

Cesar Gavidia Chucán: Ph.D. Prof. Principal, D.E.



Firmado digitalmente por CALLE
ESPINOZA DE CAMACHO Sonia
Yenny FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.06.2022 18:49:57 -05:00

Sonia Calle Espinoza: Mg. Prof. Principal, D.E.



Firmado digitalmente por DELGADO
CASTRO Alfredo FAU 20148092282
soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.06.2022 19:56:30 -05:00

Alfredo Delgado Castro: .Mg. Prof. Principal, T.C.



Firmado digitalmente por
MANCHEGO SAYAN Alberto Gustavo
FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.06.2022 20:58:43 -05:00

Alberto Manchego Sayán: Mg. Prof. Principal, D.E.



INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario

1. Facultad: Medicina Veterinaria
2. Escuela: Medicina Veterinaria
3. Autoridad académica que emite el informe de originalidad: Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.
4. Apellidos y Nombres de la Autoridad Académica: Santiani Acosta, Alexei Vicent
5. Operador del Programa Informático de similitudes: Sandoval Monzón Rocío Silvia.
6. Documento evaluado: "Identificación serológica de serogrupos de *Leptospira* spp. en porcinos de crianza tecnificada y artesanal en la provincia de Lima"
7. Autor del documento: Renato Palomino Vásquez
8. Fecha de recepción del documento: 6 de enero del 2023
9. Fecha de aplicación del programa informático: 9 de enero del 2023
10. Software utilizado
 - Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes:
 - Excluye textos entrecomillados
 - Excluye bibliografía
 - Excluye cadenas menores de 40 palabras
 - Exclusión de fuentes para buscar similitud
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 10%
13. Fuentes originales de similitudes encontradas:
 - Internet 10%
 - hdl.handle.net 2%
 - cybertesis.unmsm.edu.pe 2%
 - core.ac.uk <1%
14. Observaciones: el mayor porcentaje de las similitudes halladas en la tesis evaluada se encuentra en la sección revisión bibliográfica.
15. Calificación de originalidad:
DOCUMENTO CUMPLE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD, SIN OBSERVACIONES.
Fecha del informe: 12 de enero del 2023



UNMSM

Firmado digitalmente por SANTIANI
ACOSTA Alexei Vicent FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.04.2023 12:27:43 -05:00

Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta
Director EPMV

ÍNDICE

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ANEXOS	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Aspectos históricos	3
2.2. Agente causal	4
2.2.1. <i>Taxonomía y clasificación</i>	4
2.2.2. <i>Biología de las leptospiras</i>	5
2.3. Epidemiología	7
2.3.1. <i>Rango de hospedadores</i>	7
2.3.2. <i>Clima y ecología</i>	8
2.3.3. <i>Mecanismos de transmisión y factores de riesgo</i>	8
2.3.4. <i>Prevalencia</i>	9
2.4. Patogenia	11
2.5. Manifestaciones clínicas	13
2.5.1. <i>Signos clínicos</i>	13
2.5.2. <i>Lesiones</i>	14
2.6. Inmunidad	14
2.7. Vacunas	17

2.8. Diagnóstico	17
2.8.1. <i>Tiempo y tipo de muestra</i>	17
2.8.2. <i>Diagnóstico anatomopatológico</i>	19
2.8.3. <i>Diagnostico de Laboratorio</i>	19
2.8.3.1. <i>Examen directo</i>	19
2.8.3.2. <i>Aislamiento</i>	20
2.8.3.3. <i>Diagnóstico molecular</i>	20
2.8.3.4. <i>Diagnóstico serológico</i>	21
III. MATERIALES Y METODOS	22
3.1. Lugar de estudio	22
3.2. Tamaño de muestra y muestreo	22
3.3. Toma de muestra	24
3.4. Procesamiento	25
3.5. Preparacion del antígeno	25
3.6. Evaluación del antígeno	26
3.7. Prueba de Microaglutinación (MAT)	26
3.7.1. <i>Evaluación serológica tamiz</i>	26
3.7.2. <i>Evaluación serológica cuantitativa o final</i>	27
3.7.3. <i>Lectura</i>	28
3.8. Analisis estadístico	28
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	39
VII. BIBLIOGRAFIA CITADA	40
VIII. APENDICES	50

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de gran impacto en la salud pública. Los porcinos pueden diseminar las bacterias por la orina constituyendo un riesgo de contaminación para el humano. El objetivo del estudio fue determinar los principales serogrupos circulantes de *Leptospira* spp. en porcinos provenientes de granjas de producción tecnificada y artesanal ubicadas en Lima, Perú. Se utilizaron 296 muestras de suero de porcinos provenientes de 10 distritos ubicados en Lima, Perú. Se realizó la prueba de microaglutinación con cepas de referencia de 25 serogrupos. Del total de muestras, el 98.65% (n=292) presentó reacción a al menos un serogrupo ($\geq 1/100$). Se utilizó un punto de corte igual o mayor a 1/400 para definir animales seropositivos. Se evidenció asociación entre el resultado seropositivo y el distrito de procedencia ($\text{Chi}^2=25.51$, $p=0.002$). El distrito de Pachacamac presentó la mayor cantidad de muestras seropositivas con un 20.13% (n=32), seguido por Villa El Salvador (18.87%, n=30) y Chosica (14.47%, n=23). Las granjas artesanales presentaron una mayor proporción de porcinos seropositivos (53.46%, n=85), siendo esta no significativa ($p>0.05$). Los serogrupos Iquitos (77.03%), Tarassovi (62.84%), Hurstbridge (47.64%), Panama (47.64%), Canicola (44.59%), Pomona (42.57%), Javanica (41.89%) e Icterohaemorrhagiae (34.8%) fueron los más frecuentes. Del total, no se detectaron muestras seropositivas a los serogrupos Hebdomadis, Manhao y Patoc. El 86.82% (n=257) presentó coaglutinaciones a dos o más serogrupos, siendo Tarassovi-Iquitos la más frecuente con un 2.7% (8/296). La presencia de anticuerpos frente a una gran variedad de serogrupos de *Leptospira* resalta la importancia y necesidad de incluir serogrupos adicionales en las vacunas comerciales para porcinos. Los resultados obtenidos evidencian el riesgo epidemiológico para leptospirosis en granjas porcinas ubicadas en Lima, Perú.

Palabras clave: leptospirosis, MAT, porcinos, salud pública, Perú

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonotic disease with a great impact on public health. Pigs can spread bacteria through the urine, posing a risk of contamination for humans. The aim of the study was to determine the circulating serogroups of *Leptospira* spp. in pigs from technified and rustic production farms located in Lima, Peru. We used 296 samples of serum from pigs from 10 districts located in Lima, Peru. The microagglutination test was performed with reference strains of 25 serogroups. The 98.65% (n = 292) presented a reaction to at least one serogroup ($\geq 1/100$). A cut-off point $\geq 1/400$ was used to define seropositive animals. There was an association between the seropositive result and the district of origin (Chi2 = 25.51, p = 0.002). The district of Pachacamac presented the highest number of seropositive animals with 20.13% (n = 32), followed by Villa El Salvador (18.87%, n = 30) and Chosica (14.47%, n = 23). Rustic farms had a higher proportion of seropositive pigs (53.46%, n = 85), this being not significant (p > 0.05). Iquitos (77.03%), Tarassovi (62.84%), Hurstbridge (47.64%), Panama (47.64%), Canicola (44.59%), Pomona (42.57%), Javanica (41.89%) and Icterohaemorrhagiae (34.8%) serogroups were the most frequent. No reaction to Hebdomadis, Manhao and Patoc serogroups was detected. The 86.82% (n = 257) presented coagglutinations to two or more serogroups, being Tarassovi-Iquitos the most frequent with 2.7% (8/296). The presence of antibodies against a large variety of *Leptospira* serogroups highlights the importance and need to include additional serogroups in commercial vaccines for pigs industry. The results obtained also shows the epidemiological risk for leptospirosis in swine farms located in Lima, Peru.

Key words: leptospirosis, MAT, pigs, public health, Peru

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Título	Pág.
1	Distribución de las muestras de porcinos según distritos y origen	23
2	Distribución de las muestras de porcinos según tipo de crianza.....	24
3	Frecuencia y porcentaje de muestras seropositivas a al menos un serogrupo según la prueba de Microaglutinación (MAT)	29
4	Muestras seropositivas a al menos un serogrupo (título mayor o igual a 1/400) por distrito de procedencia	30
5	Muestras seropositivas según el tipo de crianza de acuerdo a la prueba de Microaglutinación (MAT).....	30
6	Frecuencia y porcentaje de seropositivos por serogrupo de <i>Leptospira</i> spp. según la prueba de Microaglutinación (MAT)	31
7	Frecuencia y porcentaje de título de coaglutinaciones en las muestras seropositivas según prueba de Microaglutinación (MAT)	32

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Pág.
1	Cinética de la leptospirosis.....	18
2	Diagrama del procesamiento para la prueba de Microaglutinación (MAT).....	31
3	Frecuencia de muestras seropositivas a cada serogrupo utilizando la prueba de Microaglutinación (MAT).....	32

LISTA DE ANEXOS

Cuadro A.1. Lista de serovares de <i>Leptospiras</i> spp. utilizados em la prueba de Microaglutinación (MAT)	50
---	----

I. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis ha sido reconocida como un problema emergente en la salud pública en todo el mundo, debido a su potencial epidémico e incremento en incidencia en países desarrollados y en vía de desarrollo (Meites *et al.*, 2004). Es una infección bacteriana aguda causada por espiroquetas del género *Leptospira* y de amplia distribución geográfica en zonas templadas, tropicales y subtropicales. En el mundo desarrollado, la incidencia de la enfermedad ha disminuido sustancialmente y la mayoría de casos están asociados a exposición recreacional con aguas contaminadas (Tangkanakul *et al.*, 2000). Sin embargo, muchos de los países en vías de desarrollo son endémicos y se estiman un aproximado de 500,000 casos anuales y un rango de mortalidad de 5 a 20% en todo el mundo (Dupouey *et al.*, 2013).

La leptospirosis es una zoonosis y se mantiene en el medio ambiente debido a una gran variedad de hospederos animales, entre domésticos y salvajes. Las leptospiras son eliminadas por la orina de animales portadores y pueden sobrevivir por periodos prolongados. Los roedores son considerados los principales reservorios, pero muchos mamíferos pueden enfermarse y diseminar las bacterias por la orina como los caninos, porcinos, bovinos y equinos (McDonough, 2001).

Los porcinos representan una fuente importante de infección al hombre a través de la orina, principalmente en cerdos asintomáticos que albergan altas dosis de bacterias en periodos anuales (Michna y Campbell, 1969). A pesar de la baja frecuencia de signos clínicos, estos son abortos, momificaciones fetales y lechones débiles, que generan pérdidas económicas (Bolin *et al.*, 1991; García *et al.*, 2004).

Por lo antes expuesto, el objetivo del estudio fue determinar los serogrupos circulantes de *Leptospira* en porcinos provenientes de granjas de producción en Lima, Perú.

II. REVISION BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos históricos

Adolfo Weil describió en el año 1886 un tipo particular de ictericia acompañada de conjuntivitis, salpullidos, esplenomegalia y falla renal. Inicialmente, la enfermedad era desconocida, pero común entre los trabajadores de alcantarillado, arrozales y mineras por lo que se consideró de riesgo laboral (Weil, 1886; Levett, 2001). Stimson en el año 1907 denominó a los organismos Spiroqueta como “Interrogans”, debido a su parecido a un signo de interrogación, a la observación con tinción de plata en secciones de tejido renal de un paciente muerto por fiebre amarilla (Stimson, 1907; Boqvist, 2002).

Leptospira fue aislada por primera vez en Japón donde la Enfermedad de Weil era común en los mineros del carbón, Inada *et al.* en 1916, inyectaron cobayos vía intraperitoneal con sangre de pacientes mineros infectados logrando reproducir la enfermedad aguda, y observando en los cobayos signos de inapetencia, conjuntivitis, ictericia, anemia, hemorragias, y albuminuria. A los pocos meses se obtuvo éxito en la reproducción de las espiroquetas *in vitro* en un medio a base de emulsionado de riñón de cobayo, a una temperatura de crecimiento de 25°C, con la pérdida de viabilidad a 37°C (Inada *et al* 1916; Adler, 2015). La ocupación fue reconocida como factor de riesgo, mientras que la rata, como fuente de infección en humanos (Ido *et al*, 1917; Levett, 2001).

El nombre del género *Leptospira* fue propuesto por primera vez por Noguchi en 1918, con la finalidad de diferenciar la espiroqueta de la enfermedad de Weil de otras conocidas como *Treponema pallidum*, y *Spironema* (más tarde *Borrelia*) *recurrentis*; esta nueva clasificación se fundamentó en las características morfológicas. (Noguchi, 1918).

2.2. Agente causal

2.2.1. Taxonomía y clasificación

Leptospira es una espiroqueta patógena de vida libre con capacidad de ocasionar infecciones agudas y crónicas en animales domésticos y silvestres, así como al hombre (Zuerner, 2010). Se ubica en el dominio de los *Procarionotes*, clase *Schizomicetes*, orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae*, esta última fue establecida en 1979 e incluía el género *Leptospira* y *Leptonema* (Adler 2015, Hovind-Hougen 1979). Actualmente, esta familia presenta tres géneros: *Leptospira*, *Leptonema* y *Turneriella* (Levett *et al.*, 2005).

El género *Leptospira* se divide en dos especies: *L. biflexa* (vida libre) y *L. interrogans* (patógenas), (Cachay y Vinetz, 2005; Pappas *et al.*, 2008). Cada especie puede clasificarse en serogrupos y serovares, de acuerdo a sus variaciones serológicas (Levett, 2001). Siendo reportados 25 serogrupos patógenos y uno saprófito, así como 252 serovares según los lipopolisacáridos (LPS) (Corney *et al.*, 2008; Valverde *et al.*, 2008).

La identificación de los serovares depende de la presencia de anticuerpos monoclonales que permiten dilucidar los aspectos epidemiológicos de la enfermedad, posibilitando la identificación de cepas mediante microaglutinación hasta el nivel de serovar, el cual es la unidad taxonómica (Silva *et al.*, 2009).

La caracterización genética de *Leptospira* a través de la hibridación ADN-ADN permitió identificar 20 especies genómicas diferentes o genomo-especies (09 especies patógenas, 06 no patógenas y 05 intermedias) (Levett *et al.*, 2006; ICSP, 2008; Slack *et al.*, 2008; Slack *et al.*, 2009; Ko *et al.*, 2009). La falta de correspondencia entre especies determinó que cada una presenta distintos serovares (Levett, 2001; Silva *et al.*, 2008).

2.2.2. *Biología de las leptospiras*

Morfológicamente, *Leptospira* es una espiroqueta flexible de de 6 a 20 μm x 0,1 a 0,2 μm aproximadamente, de disposición helicoidal y encorvadas a manera de gancho en el caso de las cepas patógenas (Adler y De la Peña, 2009). Presentan flagelos periplasmáticos constituidos por las proteínas de motilidad FlaA y FlaB (Ko *et al.*, 2009; Guerra, 2009) por movimientos de traslación y rotación (Ko *et al.*, 2009; Guerra, 2009).

Las leptospiras presentan doble membrana: la membrana citoplasmática y membrana externa asociadas a una pared celular de peptidoglicano en el espacio intermembrana o espacio periplásmico (Silva *et al.*, 2009; Adler y De la Peña, 2009). La membrana externa, posee el LPS (antígeno), y el lípido A, con rasgos inusuales, como la presencia de un disacárido de glucosamina fosforilada y metilada (Que *et al.*, 2004).

Asimismo, se encuentran las proteínas de membrana externa (PME), como diferentes tipos de lipoproteínas (Xue *et al.*, 2009; Ko *et al.*, 2009), la proteína OmpL1 (Dong *et al.*, 2008) y proteínas periféricas (Matsunaga *et al.*, 2002). Asimismo, el Sistema de Secreción tipo II (T2SS) que poseen capacidad antigénica (Xue *et al.*, 2009).

Según su metabolismo, las leptospiras son bacterias catalasa y oxidasa positivas que crecen en ambientes aerobios entre 28-30°C, y sobreviven por tiempos prolongados en agua, humedad y

pH neutro o básico. Crecen en medios enriquecidos con vitaminas B1, B12 y ácidos grasos de cadena larga (fuente de carbono), así como, sales de amonio (Adler y De la Peña, 2010).

Para su cultivo requieren suplementos de suero de conejo o albúmina como el medio Fletcher, Stuart o Korthoff y Noguchi (Adler y De la Peña, 2010). Actualmente, se utiliza el medio Tween 80-albúmina (EMJH), compuesto por albúmina, polisorbato y ácido oleico, con adición antibiótico 5-fluorouracilo, ácido nalidíxico, gentamicina, o rifampicina que evitan el crecimiento de otros microorganismos (Faine *et al.*, 1999). *Leptospira* crece lentamente en incubación por 13 semanas aproximadamente y alcanza su máxima densidad (anillo o disco Dinger), en agar a 0,1-0,2 %, asociado a la tensión de oxígeno (Adler y De la Peña, 2010). Para mantener la virulencia, los cultivos se subcultivan en agar con hemoglobina a corto plazo, y en nitrógeno líquido a largo plazo (Adler y De la Peña, 2010).

2.3. Epidemiología

2.3.1. Rango de hospedadores

En ambientes urbanos, caninos y roedores son los principales reservorios, mientras que en zonas rurales son el ganado bovino, porcino y equino. Generalmente, los reservorios primarios son animales salvajes; sin embargo, *Leptospira* también está presente en otros hospedadores mamíferos como "Reservorio incidentales o accidentales" (McDonough, 2001).

Cuadro 1. Reservorios de los principales serovares de *Leptospira*

Especie	Serovar de <i>Leptospira</i>	
	Reservorio Primario	Reservorio Accidental
Canino	<i>L. canicola</i>	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>
	<i>L. bataviae</i>	<i>L. Georgia</i>
Bovino	<i>L. hardjo</i>	<i>L. grippityphosa</i>
	<i>L. pomona</i>	
Rumiantes Menores	<i>L. ballum</i>	<i>L. pomona</i>

	<i>L. hardjo</i>	
Porcino	<i>L. bratislava</i>	<i>L. autumnalis</i>
Equino	<i>L. bratislava</i>	<i>L. pomona</i>
Roedores	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	<i>L. pomona</i>

Fuente: Alfaro *et al.* (2004)

Los animales silvestres como los conejos, cabras, zorrillos y murciélagos pueden actuar como reservorios primarios, por el pH básico de su orina que permite la sobrevivencia de *Leptospira*, eliminando la bacteria por periodos prolongados, mientras que el hombre es un hospedero accidental por su orina con un pH ligeramente ácido. (Acosta *et al.*, 1994).

2.3.2. *Clima y ecología*

Leptospira no se multiplica fuera del hospedador, siendo susceptible a la desecación, cambios de pH ácidos y básicos, temperaturas <7°C (44.6 - 50°F) y >36°C (93 - 96°F). Estas espiroquetas pueden sobrevivir más de 3 meses en suelos húmedos, superficies acuosas y agua estancada (McDonough, 2001; Acosta *et al.*, 1994). Una mayor incidencia de infección por *Leptospira* ocurre en suelos salinos en épocas húmedas, campos pantanosos y llenas de barro (McDonough, 2001; Acosta *et al.*, 1994).

2.3.3. *Mecanismo de transmisión y factores de riesgo*

Leptospira se transmite a los humanos y animales través del contacto directo con fluidos infectados como orina, placenta, fetos y descargas uterinas, o indirecto a través del ambiente contaminado (McDonough, 2001). En ese sentido, el personal que labora en consultorios veterinarios está expuestos en diferentes grados a esta espiroqueta que ingresa al huésped vía digestiva, respiratoria, ocular, percutánea, traumática, de forma directa vías mucosa y transplacentaria. (Cediel y Villamil, 2004).

Dentro del rubro veterinario existen las actividades como la cría, levante, reproducción, faena de animales de abasto, atención hospitalaria en animales domésticos y silvestres, necropsias

y análisis de laboratorio de investigación representan un alto riesgo de infección (Cediel y Villamil, 2004).

La población con alto riesgo de infección se localiza en áreas endémicas principalmente, profesionales involucrados con animales o sus productos, especialmente con roedores (veterinarios, ganaderos, personal de camal, agricultores, trabajadores de saneamiento y alcantarillado). Asimismo, existe el riesgo de infección humana a través de actividades recreativas por contacto directo con agua contaminada o aerosoles producidos por la mascota infectada (Carneiro *et al.*, 2004).

Los perros que viven a campo abierto como perros de entrenamiento, de caza y vagabundos suelen nadar en ríos y lagunas de caudal lento por lo que presentan mayor riesgo de exposición a leptospirosis a través de la orina de animales salvajes y roedores (McDonough, 2001) y por lo tanto esto representa un riesgo para el hombre (Carneiro *et al.*, 2004).

Leptospira persiste por períodos prolongados en los túbulos renales sin producir enfermedad; los animales salvajes representan un reservorio constante de infección animal y zoonótica, a su vez, la exposición ocupacional y la exposición recreativa (campistas, nadadores) son frecuentes por lo que el control epidemiológico resulta extremadamente difícil (Abuauad *et al.*, 2005).

La leptospirosis se clasifica en Leptospirosis Rural, asociada a actividades agropecuarias y recreativas como ganaderos agricultores, parques, piscinas, y Leptospirosis Urbana, en el cual la población expuesta corresponde a grupos profesionales u ocupacionales como médicos veterinarios y zootecnistas, personal de limpieza, obreros de saneamiento, personal de centros zoológicos y/o zocriaderos, etc.) (Acha y Szyfres, 1992; Benenson, 1997).

2.3.4. Prevalencia

Céspedes et al. (2006) menciona que durante los años de 1994 a 2004 se reportaron prevalencias superiores al 10% en las regiones de Loreto (24.6%), Cusco (14.8%), Madre de Dios (11.6%) y Lima (11.1%); mientras que, las regiones de Tumbes, La Libertad, Ancash, Amazonas, San Martín, Ayacucho y Huancavelica presentaron una prevalencia inferior al 2%.

La especie porcina no llega a presentar signos clínicos; sin embargo, alberga alta concentración de leptospiras en la orina por periodos prolongados, por lo que son considerados una fuente importante de infección (Michna y Campbell, 1969). Según Acha y Szyfres (2003), los serovares frecuentes en cerdos son Pomona, Grippytyphosa, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae y Canicola, así como Muenchen y Bratislava del serogrupo Australis.

En Iowa, EEUU, Miller *et al.* (1990), hallaron una prevalencia del 38% (480/1264) de *Leptospira* en cerdos, siendo el serovar Bratislava (42%), el más frecuente. Además, aislaron 9 (1.6%) cepas de *Leptospiras* de 578 muestras de fetos abortados, mortinatos y lechones muertos; de las cuales siete fueron serovar Pomona y dos, Grippytyphosa. En Tailandia, Niwetpathomwat *et al.* (2006), reportaron una prevalencia de *Leptospira* del 10% (40/400) donde el 55% de positivos pertenecieron al serovar Grippytyphosa.

En el Perú, Herrer *et al.* (1960) hallaron una seroprevalencia de 20% de serovares Pomona, Autumnalis y Tarassovi, así como el aislamiento de las cepas Tarassovi, Pomona y Canicola en cultivo de riñón. En ese mismo año, un estudio realizado por Martínez (1960) reportó una prevalencia de 13.24% para el serovar Pomona.

Liceras e Hidalgo (1970), aislaron cepas de *Leptospira* Pomona y *Leptospira* Canicola; mientras, siendo el 23.4% positivos en su mayoría al serovar Pomona. Por otra parte, en Arequipa, se diagnosticó un brote de *Leptospira* en una granja de cerdos, donde se observó abortos, fetos

momificados, mortinatos, y lechones nacidos débiles, a los análisis serológicos y microbiológicos se detectó o al serovar *Canicola* como agente causal (Valdivia *et al.*, 1991).

Posteriormente, Anampa *et al.* (2010). evaluaron 338 muestras de sangre cerdos procedentes de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima, hallando una seroprevalencia de *Leptospira* de 86.1% contra los serovares *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Georgia*, *Ballum*, *Canicola* Y *Tarassovi*.

2.4. Patogenia

Leptospira ingresa por la piel y mucosas (sanas o erosionadas), después de una exposición prolongadas en zonas húmedas (Asuthkar *et al.*, 2007; Ayanegui *et al.*, 2007; Adler y De la Peña, 2010). La infección vaginal y transmisión vía lactogénica en cerdas se han demostrado experimentalmente (Tripathy *et al.*, 1981). Posteriormente *Leptospira* se difunde rápidamente las primeras 48 h alcanzando los riñones, corazón, hígado, pulmón y músculo esquelético (Marotto *et al.*, 2010).

Se ha evidenciado la resistencia a la acción bactericida del suero sanguíneo y evasión de la fagocitosis en ausencia de anticuerpos (Choy *et al.*, 2007; Chierakul *et al.*, 2008). La leptospirosis se considera una enfermedad sistémica, debido a que se produce una vasculitis bacteriana hepática, pulmonar y renal (Rocha *et al.*, 2010).

El daño ocasionado por una dosis baja de *Leptospira*, sugiere la presencia de factores de virulencia y susceptibilidad de la bacteria y huésped respectivamente (Ayanegui-Alcerreca *et al.*, 2007; Adler y De la Peña, 2009). Asimismo, los pocos hallazgos patológicos, a pesar de los graves disturbios funcionales, indicaría que la enfermedad es causada por tóxicos bacterianos, la liberación de estos a través de la lisis bacteriana conduce a un incremento en la permeabilidad vascular, hipoxemia y daño en la membrana celular (Silva *et al.*, 2008). Sin embargo, no se ha descrito la

presencia de una toxina específica de *Leptospira*; en el caso de cuyes infectados en laboratorio, el daño en el endotelio renal se asocia a la presencia de bacterias remanentes (Silva *et al.*, 2008). Mientras que, se ha demostrado que un factor de virulencia es la habilidad para invasión de células Vero e inducción de la apoptosis de macrófagos (Xue *et al.*, 2009; Adler y De la Peña, 2010).

La respuesta inmune interviene en la fisiopatología mediante la formación de inmunocomplejos, secreción de citoquinas y su consecuente vasculitis autoinmune (Cinco *et al.*, 2006). La signología asociada al daño renal, hepático y pulmonar, aparecen en la fase inmune durante la seroconversión. En consonancia, Malajov *et al.* (2007) sugieren que el grado de la enfermedad se asocia a la intensidad de la respuesta inmunológica.

Los anticuerpos específicos se detectan a los 5-10 días postinfección, con la desaparición de *Leptospiras* en sangre; sin embargo, estas se pueden localizar en líquido cefalorraquídeo, humor vítreo, tracto genital y en los túbulos proximales renales, donde los anticuerpos tienen acceso limitado y las bacterias son excretadas por la orina, la intensidad y duración varía según hospedero y serovar infectante, aunque en algunos casos pueden superar los 2 años (Mitchell *et al.*, 1966).

Leptospira infecta el útero de cerdas gestantes, si la infección ocurre durante la segunda mitad de la gestación se producen abortos, mortinatos y neonatos débiles. Los abortos y mortinatos sobrevienen 1 a 4 semanas postinfección (Hanson y Tripathy, 1986). Mientras que, si la infección ocurre cuando el feto presenta sistema inmune inmaduro, se produce la muerte fetal y reabsorción, así como abortos o nacido muerto. En caso que la infección se desarrolle al inicio de la gestación, el embrión e reabsorbe produciendo bajos porcentajes de partos. La infección al final de la gestación reduce el tamaño de la camada, y en caso de presentar un sistema inmune desarrollado, los lechones muertos contendrán anticuerpos, que permite el diagnóstico serológico desde los fluidos fetales (Frantz *et al.*, 1989). La infección transplacentaria durante la bacteriemia es más probable al final de la gestación, debido a la alta permeabilidad de la placenta, lo que explica el alto riesgo de

infección en la segunda mitad de gestación y abortos tardíos. La expulsión fetal ocurre 5 a 6 días postmortem, siendo el aborto ocasionado por las toxinas generadas por los fetos muertos y autolíticos (García *et al.*, 2004). Los serovares Bratislava y Muenchen persisten en el oviducto, útero y aparato genital masculino contribuyendo a la infertilidad y a la infección durante el apareamiento (Cisneros *et al.*, 2000).

Los estudios moleculares han comparado cepas patógenas y saprófitas, hallando varios factores de virulencia (Hoke *et al.*, 2008) como las hemolisinas, catalasas, fosfolipasas, hialuronidasas y colagenasas (Xue *et al.*, 2009).

2.5. Manifestaciones clínicas

2.5.1. Signos clínicos

La leptospirosis en la industria porcina es generalmente asintomática; en algunos casos puede transcurrir de forma subclínica, o con reacciones febriles por algunos días. Los lechones y cerdas preñadas son la población más susceptible, mientras que las hembras preñadas presentan una baja probabilidad de infección; en caso se manifiesten signos clínicos, se observan abortos, fetos momificados y lechones que presentan mortalidad temprana (Bolin *et al.*, 1991; García *et al.*, 2004).

Los fetos abortados son de diferentes tamaños y presentan una leve ictericia, los cerdos pueden presentar fiebre (40°C), letargia, hematuria y casos de infertilidad; los signos clínicos en animales jóvenes son poco frecuentes. Finalmente, un cuadro hiperagudo cursa con anorexia, fiebre, debilidad, cuadros diarreicos e ictericia (con o sin hemoglobinuria); en algunos casos se producen meningitis con nerviosos llegando a ser fatal (García *et al.*, 2004).

2.5.2. Lesiones

Las lesiones dependen de la virulencia, serovar y sistema inmunológico del animal, las lesiones no son patognomónicas de Leptospirosis (Baskerville, 1986). Sin embargo, la lesión principal a causa del daño endotelial en vasos sanguíneos es la nefritis intersticial, cuya severidad depende de la extensión, distribución (aleatoria y focal) y particularmente a la presencia del serovar Pomona (García *et al.*, 2004). Histológicamente, las lesiones focales corresponden a infiltración de células mononucleares a nivel intersticial, junto a la degeneración de las nefronas. En los casos crónicos, se observa reemplazo de tejido conectivo (García *et al.*, 2004).

Generalmente, las lesiones no suelen ser lo suficientemente extendidas para ocasionar alteraciones renales, por lo que los cerdos solo eliminan el microorganismo durante un tiempo prolongado, en ese sentido, las lesiones más frecuentes son los fetos abortados con necrosis hepáticas focales, ictericia edema generalizado, líquido seroso a hemorrágico en las cavidades corporales, y petequias en la corteza renal (Wrathall, 1975; Hathaway *et al.*, 1983), como resultado de la autólisis intrauterina (García *et al.*, 2004).

2.6. Inmunidad

La respuesta inmune humoral juega un rol fundamental en la resistencia a la infección por *Leptospira* (Levett, 2001), los anticuerpos aglutinantes y opsónicos están enfocados hacia antígenos de cada serovar o serogrupo (Silva *et al.*, 2008). Por otra parte, la inmunidad pasiva es conferida principalmente por inmunoglobulinas (Adler y De la Peña, 2009), así también, se reconoce la participación de la respuesta inmune celular (Adler y De la Peña, 2010).

Los antígenos protectores se han identificado como F4, TM, PE, Pag, LLS que derivan del LPS y presentan diferente acción biológica y endotóxica, generando respuesta inmune específica (Xue *et al.*, 2009), que les permite funcionar en la elaboración de vacunas (Nally *et al.*, 2005).

En el año 1994 se describieron tres PME (Proteínas de Membrana Externa) como antígenos protectores: proteínas transmembrana, LPS y proteínas periféricas (Xue *et al.*, 2009), con propiedad inmunogénica reaccionando a los anticuerpos y fijadores de complemento, principalmente IgG (Stevenson *et al.*, 2007; Vivian *et al.*, 2009).

La OmpL1, presenta más de 10 segmentos transmembrana, que pueden estar involucrados en la movilidad durante la electroforesis (Maneewatch *et al.*, 2007). Mientras que, Omp52 posee un dominio consenso OmpA C-terminal, que le confiere la propiedad de interactuar con la célula huésped (Hsie *et al.*, 2005).

Las lipoproteínas (LPS) se localizan en la membrana externa fijadas por ácidos grasos unidos a una cisteína amino terminal, se han identificado las siguientes proteínas: LipL21, LipL32, LipL41, LipL45 y LipL48. De las cuales, LipL32 es la única proteína que no está expuesta en la superficie y es considerada como inmunodominante en la Leptospirosis Humana (Adler y De la Peña, 2010).

Por otro lado, LipL41 en sinergismo con OmpL1 proveen inmunoprotección, que las cataloga como candidatas para la elaboración de vacunas (Feng *et al.*, 2009). Algunas lipoproteínas como LipL36 y Q1p42, solamente se expresan *in vitro*, mientras que, Loa22 se encuentra en las cepas patógenas a nivel de la envoltura externa (Batista *et al.*, 2011). Las proteínas periféricas, como P31LipL45 asociada a la envoltura externa se exportan como una LPS de 45 kDa para su procesamiento en forma de 31 kDa C-terminal (Adler y De la Peña, 2010).

Las PMEs son identificadas por el sistema inmunológico del hospedero para la generación de anticuerpos (Turhan *et al.*, 2006; Guerra, 2009). Algunas de ellas, se reconocen como género-específicas (Adler y De la Peña, 2010; Deanna *et al.*, 2011) e intervienen en la fisiopatología y desarrollo en ambientes adversos (Matsunaga *et al.*, 2007; Stevenson *et al.*, 2007).

Actualmente, se ha identificado en la membrana interna algunas moléculas de interés inmunológico, como Lag42, proteína de 42 kDa, localizada en cepas patógenas y no patógenas (Hung *et al.*, 2006; Palaniappan *et al.*, 2007). Asimismo, se ha descrito la expresión de la LipL31 (lipoproteína) y ImpL63 (proteína transmembrana) (Trueba *et al.*, 2004).

Las proteínas de shock térmico localizadas en el citoplasma: GroEL (15 a 64 kDa) y DnaK (76 kDa) funcionan como "chaperonas" incrementando su expresión a temperaturas altas dentro del hospedero (Ballard *et al.*, 1998). Se pueden reconocer durante la fase aguda de infección y convalecencia (Nally *et al.*, 2005; Nally *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 2009a).

Las proteínas flagelares de 35-36 kD a diferencia del LPS, se conservan en todas las serovariedades patógenas de *Leptospira*, siendo responsables de la inmunidad cruzada entre serogrupos (Maneewatch *et al.*, 2007; Naranjo *et al.*, 2008; Adler y De la Peña, 2010).

La inmunidad frente a *Leptospira* varía de acuerdo a la especie siendo humoral en humanos y celular en bovinos (Maneewatch *et al.*, 2007; Adler y De la Peña, 2010). La inmunoprotección puede ser específica (por serovar o serogrupo) en función al LPS, o cruzada (por proteínas conservadas). Asimismo, los anticuerpos generados perduran poco tiempo como la IgM (Maneewatch *et al.*, 2007).

El mecanismo principal de evasión del sistema inmune es la alta invasividad, *Leptospira* se disemina por diferentes órganos antes de la generación de la respuesta inmune. Esta propiedad sumada a la baja densidad proteica en la superficie celular debido a la presencia de LPS y redundancia en los factores de virulencia (Rosario *et al.*, 2012).

2.7. Vacunas

Las vacunas multivalentes se utilizan principalmente frente a serovares prevalentes de zonas determinadas; sin embargo, su eficacia es dudosa debido a factores como la disminución de los niveles de IgM 28 días postvacunación, y al desarrollo incompleto de anticuerpos contra todos los serovares vacunales (Srivastava, 2006). Los serovalres involucrados en la fabricación de vacinas son: *Leptospira bratislava* (cepa JEZ), *Leptospira canicola* (cepa C-51), *Leptospira grippityphosa* (cepa MAL-1540), *Leptospira hardjo* (cepa Hardjoprajitno), *Leptospira icterohaemorrhagiae* (cepa NADL-11403) y *Leptospira pomona* (cepa T-262) (Zoetis, 2016).

2.8. Diagnóstico:

2.8.1. Tiempo y tipo de muestra

La infección por leptospiros patógenos se divide en una primera etapa: Fase Septicémica septicémica (fase aguda), aproximadamente de 3 a 10 días, las leptospiros decrecen en 15 días después de iniciados los signos clínicos, el diagnóstico se debe realizar hasta 2 días después de iniciado el tratamiento antibiótico. La segunda etapa (fase inmune), ocurre durante la segunda semana después de iniciado los signos clínicos y dura aproximadamente de 4 a 30 días, en el cual se lleva a cabo el aumento de títulos de anticuerpos asociado a la eliminación de las leptospiros en sangre (Picardeu, 2013). En algunos casos a nivel sanguíneo, las leptospiros no pueden detectarse debido a una leptospiremia corta en la fase aguda, a un muestreo tardío, o a la antibioticoterapia (Picardeu, 2013).

La toma de muestra dependerá de la prueba a realizar, para el hemocultivo, la muestra se debe coleccionar durante la fase septicémica (entre el primer y séptimo día), antes de iniciar la antibioticoterapia (figura 1) (INS, 2002).

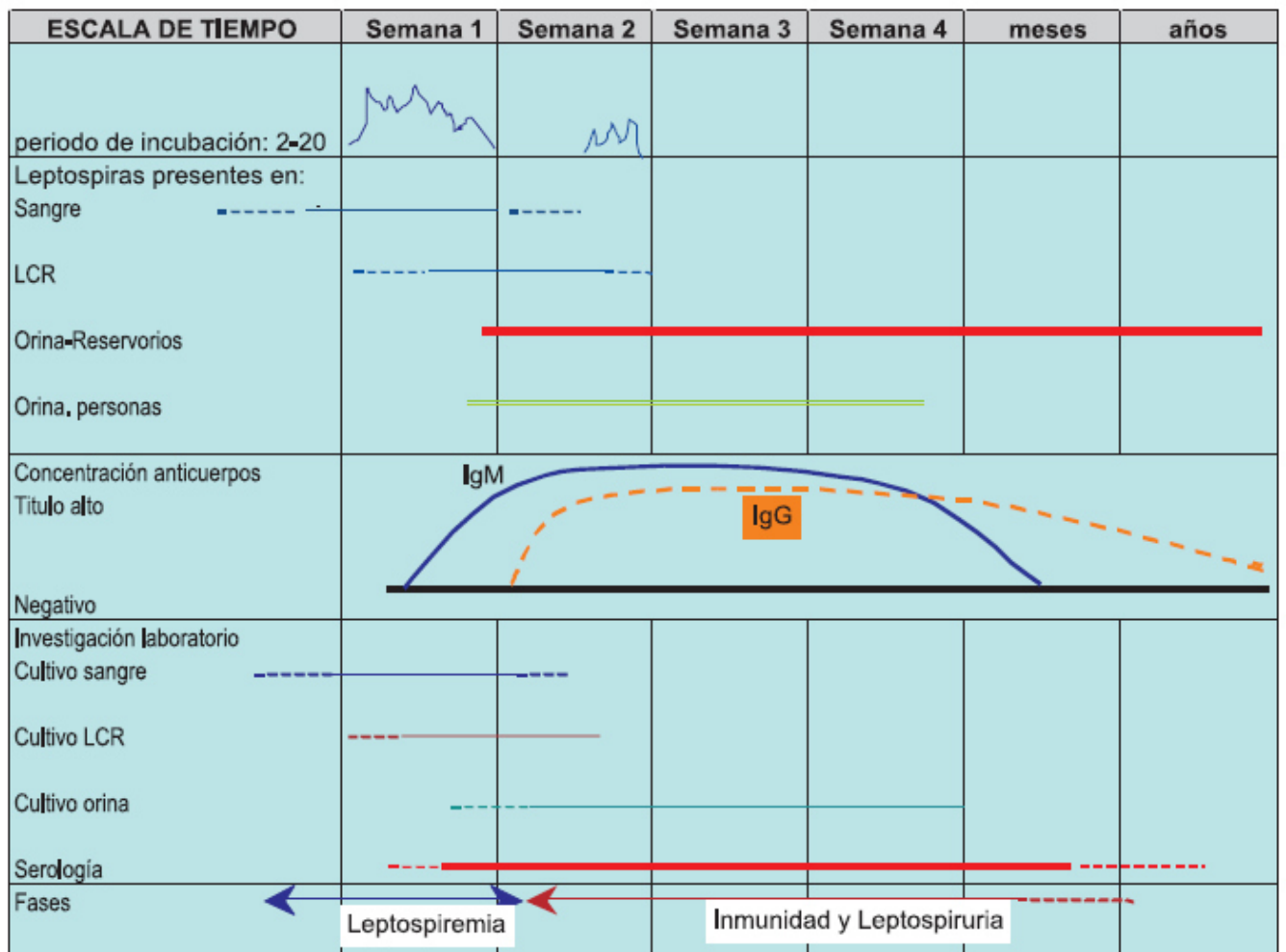


Figura 1. Cinética de la infección por *Leptospira* (Céspedes, 2005)

2.8.2. Diagnóstico anatomopatológico

Feraud *et al.*, (2006) establecen que la leptospirosis cursa con una etapa aguda y crónica caracterizadas por ictericia, abortos y diferentes cambios anatomopatológicos por especie con una lesión común: nefritis intersticial (Adler y De la Peña, 2009). Suárez *et al.*, (2005) que la presencia de una ictericia se debe a los daños endoteliales con la consecuente hemorragia en las mucosas digestiva, bronquial, urinaria y pulmonar. A nivel de la corteza renal se observa congestión con petequias; la microscopia del músculo estriado evidencia necrosis, vacuolización, depósitos

hialinos e infiltración de granulocitos, histiocitos y células plasmáticas, así como la presencia de antígenos detectados mediante Inmunofluorescencia (Oliva *et al.*, 1998; Malajov *et al.*, 2007).

Asimismo, Bal (2005) describe a la vasculitis como la lesión más común en histopatología renal y hepática, que en grados severos se produce una hemorragia generalizada (a nivel muscular, visceral y glandular). Una lesión predominante es la ictericia subcutánea, esplenomegalia y hemorragias petequiales y equimóticas, úlceras a nivel oral (encías, lengua y labios) se observa en casos de uremia; nefritis, ictericia y necrosis hepática focal (Malajov *et al.*, 2007).

2.8.3. Diagnóstico de laboratorio

2.8.3.1. Examen directo

La visualización de leptospira se lleva a cabo a través de un microscopio de campo oscuro debido a su morfología: 6 a 20 μm de longitud y 0.15 μm de diámetro. El examen directo es efectivo en la fase aguda ya que las bacterias se encuentran en sangre entre 10^2 - 10^6 leptospiras/ml con la probabilidad de obtener falsos negativos (Picardeau, 2013).

Según la Sociedad Internacional de Leptospirosis, se recomienda utilizar el método directo a partir de orina, leche, sangre y tejidos infectados colocados en suspensión (médula ósea, hígado, riñón) cultivados en medio Fletcher y caldo EMJH (Ellinghausen, Mc Cullough, Jonson, Harris) (Rosario *et al.*, 2012).

2.8.3.2. Aislamiento

Leptospira se cultiva en medio EMJH con 5 fluorouracilo a 28 °C de incubación, a partir de muestras de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo; la visualización en microscopio de campo oscuro evidencia formas filamentosas a manera de espiral con extremos curvados y movimiento de rotación y traslación. Las muestras sanguíneas se colectan entre 1-10 días que corresponden a la

fase septicémica y las muestras de orina se colectan entre la 2da y 4ta semana durante la fase leptospirúrica (Céspedes, 2005; Feraud *et al.*, 2006).

2.8.3.3. Diagnóstico molecular

Las técnicas moleculares más utilizadas detectan genes específicos de cada especie; presentan alta sensibilidad y especificidad en una infección aguda. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es la técnica más aplicada que permite la amplificación de secuencias de ADN mediante dos set de cebadores: forward y reverse con una especificidad de 95,2% y de 91,4% (Vijayachari y Sehgal, 2006).

La PCR detecta *Leptospiras* en sangre entre 5-10 días postinfección, hasta el día 15 (Musso y La Scola, 2013). Así también puede detectar a la bacteria en cultivos negativos de pacientes con terapia antimicrobiana (Boonsilp *et al.*, 2011). El umbral de detección oscila entre 10 a 100 leptospiras/ml de sangre u orina. Sin embargo, esta prueba no es capaz de identificar el serovar o serogrupo infectante, para un correcto monitoreo epidemiológico (Céspedes, 2005; Cerqueira y Picardeau, 2009; Picardeau, 2013).

2.8.3.4. Diagnóstico serológico

La Organización Mundial de Sanidad Animal establece la técnica de Microaglutinación (MAT), como el análisis referencial para el diagnóstico de leptospirosis (OIE, 2008, OMS, 2008). Esta se emplea antígenos vivos para la detección de anticuerpos serogrupo específicos y sirve como base para la evaluación de otros métodos serológicos (Ooteman *et al.*, 2006). Para el análisis se requiere mantener una colección de cepas vivas representativas de cada serogrupo y serovar endémicos que funcionan como antígeno (Picardeau, 2013). Esta prueba no diferencia entre una

infección aguda o crónica. Para ello se debe analizar dos muestras séricas consecutivas para observar seroconversión o un aumento de cuatro veces a más los títulos normales (Céspedes, 2005).

También suele utilizarse la cepa Patoc 1, una cepa de *Leptospira biflexa*, con propiedad de realizar reacción cruzada con varios antígenos patógenos (Picardeau, 2013). La prueba es más sensible entre los días 10^o-12^o considerando los casos de reacción cruzada (Faine, 1982). El MAT se fundamenta en diluciones seriadas del suero problema con antígenos específicos; se considera positivo, si se observa al menos el 50% de aglutinación respecto al antígeno control (Picardeau, 2013).

La titulación depende del riesgo de exposición y la prevalencia serológica, un título bajo (>1/100) asociado a signos clínicos puede indicar un caso probable. Por otro lado, se esperan títulos altos (>1/400) en zonas endémicas (Cerqueira y Picardeau, 2009).

El tratamiento antimicrobiano temprano puede eliminar las leptospiras rápidamente, disminuyendo la probabilidad de detección por el MAT (Faine *et al*, 1999). Para ello, se requiere de dos muestreos hechos con 2 semanas de diferencia, con una seroconversión significativa (Picardeau, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio:

Las muestras de sangre fueron tomadas de porcinos provenientes de granjas de producción ubicadas en 10 distritos de Lima: Villa El Salvador, Pachacamac, Chosica, San Juan de Lurigancho, Ventanilla, Cieneguilla, San Bartolo, Huaral, Lurín y Puente Piedra. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

3.2. Tamaño de muestra y muestreo:

El tamaño de muestra se calculó mediante el uso de la fórmula de “Estimación de proporciones” (Thrusfield, 1990). Se consideró una proporción esperada del 86.1% (Anampa *et al.*, 2010) con un nivel de confianza del 95% y un error máximo admisible de 4%. Se calculó un tamaño muestral mínimo de 288 animales. Este resultado fue ajustado a 296 animales, debido a la disponibilidad de muestras.

Fórmula de “Estimación de proporción” (Thrusfield, 1990).

$$n = \frac{z^2 p.q}{e^2}$$

Z = valor de la distribución normal Z para tener un intervalo de confianza del 95%.

p = prevalencia referencial o proporción conocida.

q = 100-p.

e = error máximo admisible.

El muestreo fue realizado por conveniencia: del total de muestras, un grupo fue obtenido a partir de la seroteca del Laboratorio de Microbiología y Parasitología (FMV-UNMSM) y otro mediante venopunción de porcinos en granjas de producción ubicadas en la provincia de Lima. . Las muestras fueron obtenidas durante los años 2013 y 2014. El total de muestras por distrito de procedencia y origen, así como el tipo de crianza se detallan en el Cuadro 1 y 2 respectivamente.

Cuadro 1. Distribución de las muestras de porcinos según distritos y origen.

Distrito de procedencia	Número de muestras	Origen	
		Seroteca*	Muestreo
Villa El Salvador	60	40	20
Pachacamac	45	35	10
Chosica	40	20	20
San Juan de Lurigancho	33	33	-
Ventanilla	30	20	10
Cieneguilla	28	18	10
San Bartolo	24	14	10
Huaral	16	6	10
Lurín	10	-	10
Puente Piedra	10	-	10

*Laboratorio de Microbiología y Parasitología, FMV-UNMSM

Cuadro 2. Distribución de las muestras de porcinos según tipo de crianza.

Tipo de granja	Frecuencia	Porcentaje
Artisanal	167	56.42
Tecnificada	129	43.58
Total	296	100

3.3. Toma de muestra:

Para el ingreso a las granjas se utilizaron los implementos necesarios (guantes, botas, overol de trabajo) para respetar las normas de bioseguridad. Los animales fueron seleccionados según conveniencia y/o disponibilidad en cada granja. Los animales muestreados fueron mayores de 70 días de edad según el siguiente procedimiento:

1. Sujeción del animal con un lazo colocado en el hocico.
2. Se levanta la cabeza del animal estirando el cuello.
3. Se limpia la zona del cuello a muestrear con alcohol (96°) y algodón.
4. Se introduce la aguja en el punto medio del surco lateral a la tráquea, en la vena yugular externa.
5. Se introduce la aguja con el sistema Vacutainer de manera perpendicular y luego se presiona el tubo y se empieza a tomar la muestra de sangre.
6. Cuando ya se haya llenado el tubo al menos con 3ml de sangre se retira el tubo antes de sacar la aguja de la vena.
7. Se retira la aguja con el soporte Vacutainer y se presiona sobre la zona con un algodón limpio haciendo presión.
8. Se libera al animal y se verifica que respire con normalidad, se marcan los animales que ya han sido muestreados.
9. La sangre se deja reposar en el tubo a temperatura ambiente para la formación del coágulo 20 minutos aproximadamente, para separar el suero y pasarlo a otro tubo.

10. Los tubos deben identificarse correctamente y se colocados en una bolsa plástica empacados con geles refrigerantes.
11. Una vez terminado el muestreo, los materiales biocotaminado (guantes, algodón) y punzocortantes son eliminados.

3.4. Procesamiento:

Las muestras sanguíneas se centrifugaron a 262 rad/s durante 5 minutos. El suero se almacenó en viales eppendorf a -20 °C. el análisis serológico se realizó mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT), según Faine (1982), y los lineamientos de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2014). Se utilizaron 25 serovares de referencia de *Leptospira* de un serogrupo no patógeno (Semaranga) y 24 serogrupos patógenos: Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Djasiman, Grippytyphosa, Hebdomadis, Hurstbridge, Icterohaemorrhagiae, Iquitos, Javanica, Louisiana, Manhao, Mini, Panama, Pomona, Pyrogenes, Ranarum, Sejroe, Shermani y Tarassovi. (**Anexo 1**). Los serogrupos fueron adquiridos de la Unidad de Espiroquetas del Instituto Pasteur, procedente de Francia.

3.5. Preparación del antígeno:

Los serogrupos se mantuvieron en medio Fletcher y se evaluó su crecimiento mediante la observación del halo de crecimiento “anillo de Dinger”, el cual se forma milímetros bajo la superficie. Sin embargo, la ausencia del halo no determina un bajo crecimiento (OMS, 2008).

Para la preparación de antígeno y desarrollo de la técnica de MAT, se agregó 600µl del medio Fletcher a un tubo con 5ml del medio EMJH y se incubó a $29 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 4 a 8 días (OIE, 2008). Se evidencia crecimiento bacteriano en medio EMJH por la opalescencia a través de la luz natural o artificial (OMS, 2008).

3.6. Evaluación del antígeno:

Para la evaluación del antígeno, se colocaron gotas del medio de cultivo EMJH en un portaobjetos para su observación directa a través de un microscopio de campo oscuro. Se trabajó con medios a una concentración aproximada de 200 leptospiras por campo, una concentración de 2×10^8 leptospiras/ml y libre de aglutinaciones. Los cultivos que alcanzaron estas concentraciones se aislaron a temperatura ambiente hasta su uso en la prueba de MAT. Cada semana, se replicaron a otro medio EMJH para su mantenimiento y su uso (INS, 2002).

3.7. Prueba de Microaglutinación (MAT)

3.7.1. Evaluación serológica tamiz

Corresponde a un procedimiento inicial para determinar la presencia de anticuerpos frente a un serogrupo de *Leptospira* spp. (INS, 2002). En una placa de poliestireno de 96 pocillos se rotularon las muestras de forma vertical y los antígenos de forma horizontal (Figura 2). Se depositó 294µl de suero fisiológico (NaCl 0.85%) o solución bufferada (PBS) en la primera fila “A”, luego se agregó 6µl del suero problema y se homogenizó para obtener 300µl con una dilución 1:50. De esta solución se extrajo 50µl y se depositó en forma vertical en la fila “C”, “E” y “G”. Luego se agregó 25µl de solución de suero fisiológico (NaCl 0.85%) a cada pocillo de las filas “B”, “D”, “F” y “H”. A estas filas mencionadas se les agregó 25 µl de la dilución de 1:50 (Fila A), obteniendo 50µl de una dilución final de 1:100. A cada columna le correspondió una misma muestra y cuatro antígenos distintos. Se agregó 50µl de suero fisiológico (NaCl 0.85%) a un pocillo como control. Posteriormente, en la cámara de flujo laminar se agregó a todos los pocillos 50 µl de antígeno. La dilución final fue 1:100 para las filas “A”, “C”, “E” y “G”; y de 1:200 para las filas “B”, “D”, “F” y “H”. La microplaca se homogenizó a 52 rad/s durante cuatro segundos mediante el uso de un *shaker*. Se cubrió con Parafilm para evitar su evaporación y se incubó a 28 °C durante dos horas. Finalmente, se extrajo 2.5µl de cada uno de las diluciones para la lectura en el microscopio de campo oscuro.

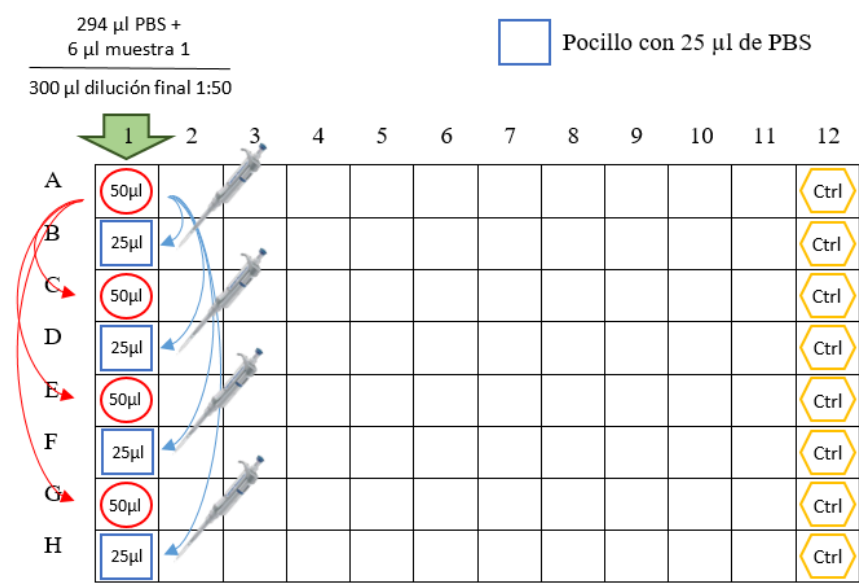


Figura 2. Diagrama del procesamiento para la prueba de Microaglutinación (MAT).

PBS: Buffer Fosfato Salino

Ctrl: control para cada serogrupo

3.7.2. Evaluación serológica cuantitativa

El procedimiento serológico determinó la dilución máxima de aglutinación (INS, 2002). Se retuló cada fila de la microplaca con el código de un serogrupo; y cada columna, con las diluciones 1:50 al 1:1600. Se agregó 245 μl de solución salina (NaCl 0.85%) o bufferada (PBS) en la primera columna, posteriormente, se agregó 5 μl del suero problema para obtener una dilución final de 1:50, se realizó la homogenización. Seguidamente, a todos los pocillos de la segunda a la sexta columna se añadió 50 μl de solución salina (NaCl 0.85%) o bufferada (PBS). Se procedió a realizar diluciones seriadas retirando 50 μl de un pocillo y agregándolo al siguiente. Se agregó 50 μl de antígeno en todos los pocillos, se homogenizó la microplaca a un movimiento 52 rad/s durante cuatro segundos a través de un *shaker*. Posteriormente, la microplaca se selló con parafilm y se incubó a 28°C durante dos horas. Finalmente, se extrajo 2.5 μl de cada pocillo, y se colocó a una lámina portaobjetos, para la lectura en el microscopio de campo oscuro.

3.7.3. Lectura

La formación de sedimento denso por el movimiento de los extremos libres de las leptospiras fue considerada como una reacción seropositiva. La dilución $>1:100$ fue establecida como punto de corte mediante el Subcomité de Taxonomía en *Leptospira* (1984) observando un suero positivo con 50% de aglutinación respecto al control. El punto de corte $\geq 1:400$ fue utilizado para considerar a una muestra como seropositiva. Diluciones superiores al punto de corte donde no se observó aglutinación o la proporción de leptospiras libres fue de 50-100%, se consideraron resultados negativos (OMS, 2008). Las muestras con 25-50% de aglutinación se estimaron como sospechosas, por lo requieren un segundo análisis (INS, 2002). Se estableció como coaglutinación en casos donde las muestras presentaron serorreacción a dos o más serogrupos con títulos similares (OMS, 2008).

3.8. Análisis Estadístico

Las variables fueron descritas mediante el uso de frecuencias y porcentajes. El análisis bivariado se realizó mediante el uso de la prueba de Chi² y estimación de Odds Ratio (OR). Se utilizó un nivel de confianza del 95% y los paquetes estadísticos Microsoft Excel 2015 y STATA v.15.

IV. RESULTADOS

El objetivo del estudio fue determinar los principales serogrupos circulantes de *Leptospira* spp. en porcinos provenientes de granjas de producción ubicadas en Lima. Del total de muestras (n=296), el 98.65% (n=292) fue seropositivo a al menos un serogrupo (título igual o mayor a 1/100) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Frecuencia y porcentaje de muestras seropositivas a al menos un serogrupo según prueba de Microaglutinación (MAT).

Resultados	N (%)
Positivo	292 (98.65)
Negativo	4 (1.35)

Las muestras utilizadas en el estudio provienen de granjas ubicadas de 10 distritos de Lima. Las cuatro muestras seronegativas proceden únicamente del distrito de Cieneguilla. Al considerar como punto de corte un título igual o mayor a 1/400, el distrito de Pachacamac presentó la mayor cantidad con un 20.13% (n=32), seguido por Villa El Salvador (18.87%, n=30) y Chosica (14.47%, n=23). La prueba de chi² de independencia mostró asociación entre el resultado de la prueba de microaglutinación y el distrito de procedencia (Chi²=25.51, p=0.002). Se determinó el OR para cada distrito siendo significativos sólo para Huaral, Chosica y Pachacamac (Cuadro 4).

Distrito	Resultados N (%)		Total	OR	Valor p	IC - 95%	
	Negativo	Positivo*					
Lurín	8 (5.84)	2 (1.26)	10			<i>Categoría de referencia</i>	
Puente Piedra	4 (2.92)	6 (3.77)	10	6	0.079	0.81	44.35
Huaral	3 (2.19)	13 (8.18)	16	17.3	0.005	2.36	127.34
San Bartolo	10 (7.30)	14 (8.81)	24	5.6	0.054	0.97	32.19
Cieneguilla	21 (15.33)	7 (4.40)	28	1.3	0.75	0.23	7.83
Ventanilla	14 (10.22)	16 (10.06)	30	4.6	0.081	0.83	25.21
San Juan de Lurigancho	17 (12.41)	16 (10.06)	33	3.8	0.125	0.69	20.47

Chosica	17 (12.41)	23 (14.47)	40	5.4	0.048	1.02	28.79
Pachacamac	13 (9.49)	32 (20.13)	45	5.4	0.008	1.84	52.74
Villa El Salvador	30 (21.90)	30 (18.87)	60	4	0.096	0.78	20.42

Cuadro 4. Muestras seropositivas a al menos un serogrupo (título mayor o igual a 1/400) por distrito de procedencia.

* Se consideró como punto de corte un título mayor o igual a 1/400

Los resultados de seropositividad de acuerdo al tipo de crianza se muestran en el Cuadro 5, del total de seropositivos se evidenció una mayor proporción en los animales provenientes de granjas artesanales con un 53.46%; sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre los dos tipos de crianza.

Cuadro 5. Muestras seropositivas según el tipo de crianza de acuerdo a la prueba de Microaglutinación (MAT)

Para el análisis de las muestras con la prueba de Microaglutinación (MAT), se utilizó un total de 25 serogrupos. Según los resultados de la prueba, los serogrupos Iquitos (77.03%), Tarassovi (62.84%), Hurstbridge (47.64%), Panama (47.64%), Canicola (44.59%), Pomona (42.57%), Javanica (41.89%) e Icterohaemorrhagiae (34.8%) fueron los más comunes. Del total, no se detectaron muestras seropositivas a los serogrupos Hebdomadis, Manhao y Patoc. Los resultados detallados de seropositividad para cada serogrupo se encuentran en el Cuadro 6. La Figura 3 muestra el total de muestras seropositivas por serogrupo para la prueba de

Resultados	Tipo de crianza		N (100%)
	Artisanal	Tecnificada	
Negativo	82 (59.85%)	55 (40.15%)	137 (100%)
Positivo	85 (53.46%)	74 (46.54%)	159 (100%)

microaglutinación (MAT).

Cuadro 6. Frecuencia y porcentajes de seropositivos por serogrupo de *Leptospira* spp. según la prueba de Microaglutinación (MAT)

Del total de muestras (n=296), el 86.82% (n=257) presentaron coaglutinaciones de dos o más serogrupos (Cuadro 7). La coaglutinación de los serogrupos Tarassovi-Iquitos fue la más frecuente, representando un 2.7% (8/296) del total.

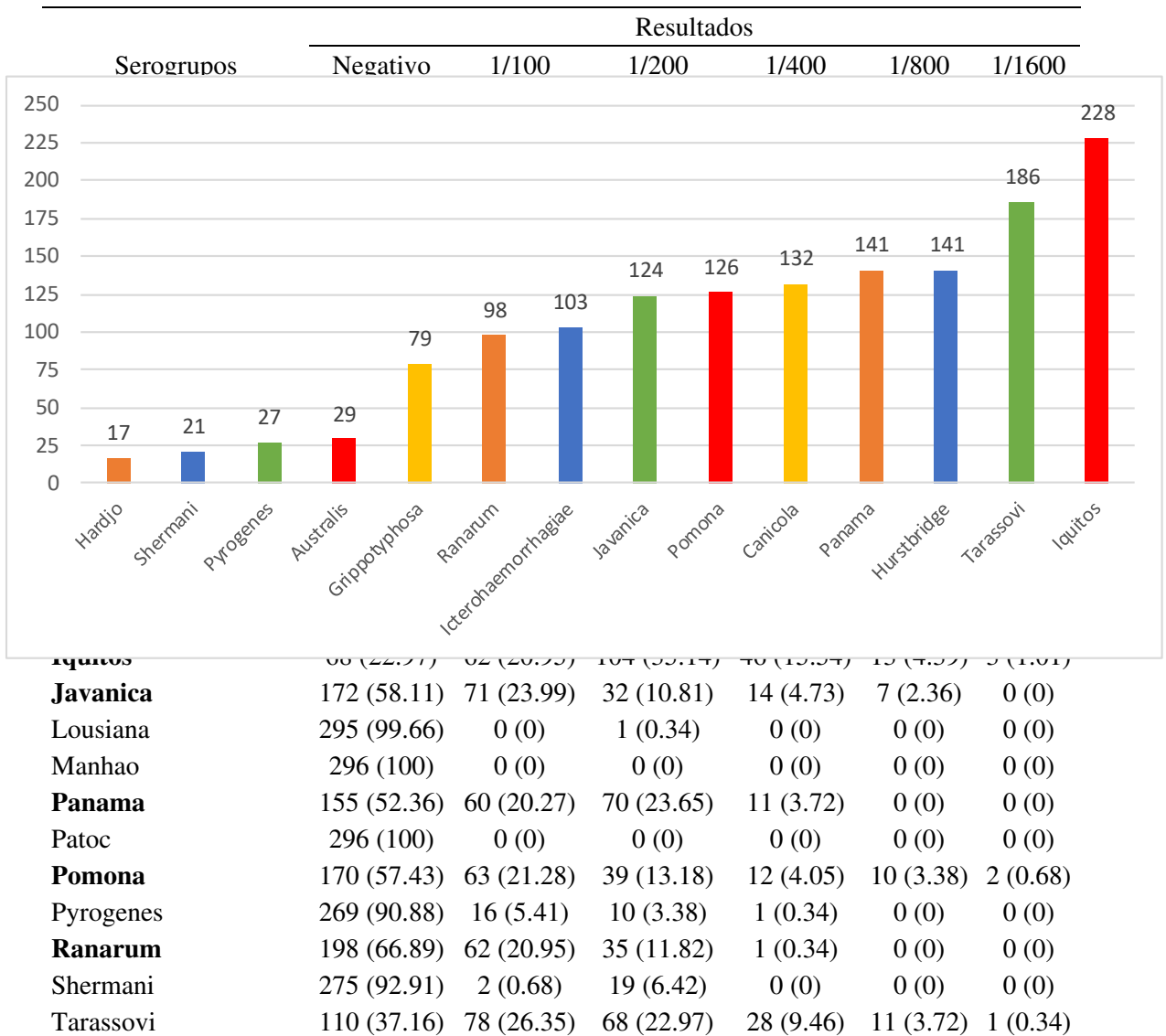


Figura 3. Frecuencia de muestras seropositivas a cada serogrupo utilizando la prueba de Microaglutinación (MAT)

Cuadro 7. Frecuencia y porcentaje de títulos de coaglutinaciones en las muestras seropositivas según prueba de Microaglutinación (MAT)

Título de anticuerpos	N (%)
1/100	213 (71.96)
1/200	44 (14.86)

V. DISCUSIÓN

El objetivo del estudio fue determinar la proporción de seropositivos en porcinos provenientes de granjas de producción ubicadas en Lima. Se utilizó un total de 296 muestras de suero provenientes de los distritos Pachacamac, Villa El Salvador, Chosica, San Juan de Lurigancho, Ventanilla, San Bartolo, Huaral, Cieneguilla, Puente Piedra y Lurín. La prevalencia de muestras seropositivas (98.65%) fue superior a la descrita en otros estudios realizados en porcinos en el Perú (20%-86%) (Herrer *et al.*, 1960; Martínez, 1960; Liceras e Hidalgo, 1970; Anampa *et al.*, 2010). Los porcinos infectados generalmente son asintomáticos, pero pueden diseminar grandes cantidades de leptospiras a través de la orina por largos periodos (Michna y Campbell, 1969). La presencia de animales clínicamente sanos en una granja porcina con la capacidad de eliminar leptospiras por la orina los convierte en fuentes de infección importantes para otras especies e inclusive el humano. Por ello, la leptospirosis porcina es considerada un problema en la salud pública que involucra a las personas en riesgo como ganaderos, médicos veterinarios y personal de granja en general.

Existen más de 250 serovariedades de *Leptospira* agrupadas en 25 serogrupos distintos con características antigénicas de superficie distintas (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010). En los porcinos, se han identificado los serogrupos Pomona, Tarassovi, Canicola y Australis en

diferentes países en el mundo (Nisbet, 1951; Peterson, 1951; Van Der Hoeden, 1956; Bhattacharya, 1967; Chappel *et al.*, 1992; Perea *et al.*, 1994; Chappel *et al.*, 1998).

En las Américas, los serovares más comunes son Pomona, Grippotyphosa, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi y Australis (Acha y Szyfres, 2003). En el Perú, Herrero *et al.* (1960) evaluaron 500 porcinos de diferentes regiones hallando la presencia de anticuerpos en 99 cerdos (20%) frente a los serogrupos Pomona, Autumnalis y Tarassovi. Así como el aislamiento de ocho cepas de *Leptospira*, identificándolas como Tarassovi (5), Pomona (2) y Canicola (1). Mientras que, Martínez (1960) evaluó 717 porcinos, y reportó que 91 (13.24%) fueron serorreactivos al serovar Pomona. Posteriormente, Licerías e Hidalgo (1970), aislaron e identificaron los serogrupos Canicola y Pomona de cultivo de riñón y análisis serológico. En Arequipa, un brote de *Leptospira* serovar Canicola se identificó por aislamiento y serología de fetos abortados, fetos momificados y lechones nacidos débiles o muertos (Valdivia *et al.*, 1991). Anampa *et al.* (2010) realizaron un estudio para determinar la seroprevalencia de *Leptospira* en granjas ubicadas en Lima. A partir de 338 muestras de sangre de porcinos, determinaron una prevalencia de 86.1% a los serogrupos Pomona, Icterohaemorrhagiae, Georgia, Ballum, Canicola y Tarassovi.

A diferencia de los estudios mencionados previamente, en el presente trabajo se utilizaron 25 serogrupos: 24 patógenos y 1 saprófito (Cuadro A1). Según los resultados de la prueba MAT para las muestras que presentaron títulos iguales o mayores a 1/100, los serogrupos más comunes fueron: Iquitos (77.03%), Tarassovi (62.84%), Hurstbridge (47.64%), Panama (47.64%), Canicola (44.59%), Pomona (42.57%), Javanica (41.89%) e Icterohaemorrhagiae (34.8%). Del total, no se detectaron muestras seropositivas a los serogrupos Hebdomadis, Manhao y Patoc.

Al considerar un punto de corte igual o mayor al título de 1/400, los serogrupos más comunes fueron Iquitos (20.95%, n=62), Tarassovi (13.51%, n=40), Pomona (8.11%, n=24),

Hurstbridge (7.09%, n=21), Javanica (6.89%, n=21), Icterohaemorrhagiae (6.76%, n=20), Canicola (5.41%, n=16), Grippytyphosa (5.07%, n=15), Panama (3.72%, n=11), Australis (1.69%, n=5), Hardjo (0.68%, n=2), Pyrogenes (0.34%, n=1) y Ranarum (0.34%, n=1).

Los serogrupos identificados son similares a los encontrados en otros estudios (Nisbet, 1951; Peterson, 1951; Van Der Hoeden, 1956; Herrer *et al.*, 1960; Bhattacharya, 1967; Liecras e Hidalgo, 1970; Valdivia *et al.*, 1991; Chappel *et al.*, 1992; Perea *et al.*, 1994; Chappel *et al.*, 1998; Acha y Szyfres, 2003; Anampa *et al.*, 2010). Sin embargo, la inclusión de una mayor diversidad de serogrupos identificó a Iquitos como el más frecuente inclusive con títulos iguales o superiores a 1/400. Hasta la fecha, este serogrupo no había sido utilizado para evaluar seroprevalencia en porcinos en el Perú. Un estudio similar realizado en caninos en Lima Metropolitana (Siuce *et al.*, 2015) identificó al serogrupo Iquitos como el de mayor prevalencia con un 15.08% a partir de 305 muestras de suero sanguíneo. Inclusive, según reportes del Instituto Nacional de Salud, el serovar Varillal, perteneciente al serogrupo Iquitos, es uno de los serovares de mayor frecuencia identificados en diversas regiones del país (INS, 2017). Esos resultados resaltan el rol que tienen los animales como potenciales reservorios para la diseminación de *Leptospira* al humano. Según los hallazgos, la circulación activa del serogrupo Iquitos podría implicar a los caninos y porcinos, e inclusive estar relacionados a la presentación de casos de leptospirosis humana.

La vacunación en porcinos ha sido documentada como una herramienta útil para generar una cobertura inmunológica frente a un grupo de serogrupos incluidos en la misma, lo que brinda cierta protección frente a cepas de campo (Srivastava, 2006). En el Perú, las vacunas comerciales son polivalentes y contienen los serogrupos Canicola (cepa C-51), Bratislava (cepa JEZ), Grippytyphosa (cepa MAL-1540), Icterohaemorrhagiae (cepa NADL-11403), Hardjo (cepa Hardjoprajitno) y Pomona (cepa T-262) (Zoetis, 2016). En el estudio, se encontró seropositividad a los serogrupos incluidos en la vacuna, aunque los más prevalentes fueron Iquitos, Tarassovi, Hurstbridge y Panama. Los resultados resaltan la necesidad de evaluar los serogrupos que se

deben de incluir en la vacuna comercial con el fin de generar una mejor protección inmunológica. La infección en porcinos usualmente es asintomática con la capacidad de generar abortos y altas pérdidas económicas (García *et al.*, 2004). En el Perú, las vacunas disponibles en el mercado sólo incluyen antígenos para algunos serogrupos. Se sugiere adaptar las vacunas a las necesidades de cada región basada en los serogrupos circulantes. Para ello, se sugiere entablar comunicación con los principales laboratorios con el fin de generar un convenio con ellos para la producción de vacunas que brinden una mayor protección de acuerdo a las necesidades locales.

Durante las visitas a las granjas de producción porcina para la toma de muestras de sangre, se evidenció la presencia de roedores y madrigueras distribuidas en las instalaciones. Los roedores han sido reportados como reservorios de patógenos que afectan a los porcinos (Le Moine *et al.*, 1987, Duarte *et al.*, 2010, Duarte *et al.*, 2012). El contacto y la proximidad de roedores con porcinos aumentan la probabilidad de transmisión de estas infecciones (Leutenegger *et al.*, 1999).

Los roedores han sido identificados como los principales reservorios para *Leptospira* (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010), por lo que su presencia es necesaria para el mantenimiento de la infección en la población de porcinos. Su condición de reservorio permite el mantenimiento de las leptospiras en la orina por largos periodos de tiempo, debido a que generalmente son portadores (Levett, 2001). La eliminación ininterrumpida de la bacteria por la orina de roedores al medio ambiente brinda las oportunidades para el desarrollo de infecciones en porcinos o inclusive su transmisión al ser humano. La alta prevalencia y la diversidad de serogrupos circulantes encontradas en el estudio señalan una transmisión activa y que posiblemente los roedores estén involucrados. Se deben de implementar intervenciones de salud pública para controlar la población de roedores en las granjas de producción porcina con el fin de reducir las pérdidas económicas generadas en la producción y el impacto epidemiológico en la población en riesgo.

Para evitar la transmisión de la leptospirosis en una granja porcina y disminuir la presentación de casos y/o pérdidas económicas, son necesarias normas de bioseguridad bien establecidas. Sin embargo, esta no podrá ser alcanzada si existe una presencia tolerada de roedores por parte del personal. Todos los centros de producción deben de tener un sistema activo para el control y monitoreo de la población de roedores. Se debe inspeccionar las áreas para la búsqueda de roedores y/o madrigueras. Se deberán de eliminar las áreas que sirvan como escondites potenciales y en lo posible, eliminar vegetación circundante. Una metodología adecuada para controlar la población de roedores es la captura y eliminación mediante el uso de trampas (FAO, 2010; Donald, 2011).

Las muestras incluidas en el estudio provienen de 10 distritos ubicados en el departamento de Lima: Pachacamac, Villa El Salvador, Chosica, San Juan de Lurigancho, Ventanilla, San Bartolo, Huaral, Cieneguilla, Puente Piedra y Lurín. La prueba de χ^2 de independencia mostró asociación entre el resultado seropositivo de la prueba de microaglutinación y el distrito de procedencia. Los resultados de OR según distrito de procedencia fueron significativos únicamente para Pachacamac (OR = 5.4, IC: 1.84 – 52.74), Chosica (OR = 5.4, IC: 1.02 – 28.79) y Huaral (OR = 17.3, IC: 2.36 – 127.34). Del total de muestras seropositivas considerando un punto de corte mayor o igual a 1/400, la mayoría provenía de Pachacamac (20.13%) y Villa El Salvador (18.87%) durante los muestreos realizados se evidenció mayor presencia de roedores en las granjas de estos distritos.

Según el tipo de crianza, se evidenció una mayor proporción de animales seropositivos procedentes de granjas artesanales (53.46%); sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$), este resultado fue similar al estudio realizado por Anampa *et al* en el año 2012, el cual evidenció un proporción similar de seropositivos en ambos tipos de crianza, indicando la presencia de roedores y la contaminación de fuentes de agua, como factores predisponentes comunes en ambos sistemas de crianza.

Los resultados obtenidos en el estudio evidencian el riesgo epidemiológico existente para leptospirosis en granjas porcinas ubicadas en Lima, Perú. La presencia de anticuerpos frente a una gran variedad de serogrupos de *Leptospira* resalta la importancia y necesidad de incluir serogrupos adicionales en las vacunas comerciales e implementar medidas sanitarias para minimizar la población de roedores en las instalaciones como principal acción para disminuir el riesgo de transmisión. Son necesarios estudios futuros que permitan el monitoreo de roedores en granjas de producción porcina para detectar serogrupos circulantes mediante pruebas serológicas, cultivo o PCR. Estos estudios permitirán considerar a los roedores como reservorios de leptospiras en granjas de producción porcina, establecer programas para su eliminación y prevenir infecciones en porcinos y su transmisión al ser humano.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ Se encontraron seropositivos en el 98.65% (292/296) de los porcinos muestreados, siendo los serogrupos Iquitos, Tarassovi, Hurstbridge, Panama, Canicola, Pomona, Javanica e Icterohaemorrhagiae los más frecuentes.

- ✓ Se encontraron anticuerpos frente a 22 de los 25 serogrupos usados en este estudio. No se encontró seropositividad para los serogrupos Hebdomadis, Manhao y Patoc.

- ✓ Se encontró una mayor proporción de animales seropositivos en los porcinos de crianza artesanal; sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos tipos de crianza.

VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. [FAO]. **The Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2010.** Good Practices For Biosecurity in the Pig Sector. [Internet] [5 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i1435e.pdf>
2. [ICSP]. **International Committee on Systematics of Prokaryotes. 2008.** Subcommittee on the taxonomy of Leptospiraceae. *Int J Syst Evol Microbiol*; 58:1049-1050.
3. [INS]. **Instituto Nacional de Salud. 2002.** Manual de procedimientos bacteriológicos y serológicos para el diagnóstico de la leptospirosis. Perú. INS. Serie de normas técnicas. 53 p.
4. [INS]. **Instituto Nacional de Salud. 2017.** Boletín institucional: Enfermedades de Notificación Obligatoria. [Internet] [5 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/1021/84-86.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. [OIE]. **Organización mundial de la Sanidad Animal. 2008.** Manual de las pruebas diagnósticas y de vacunas para los animales terrestres. [Internet]. [21 agosto 2016]. Disponible en: http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.01.09.%20Leptospirosis.pdf
6. [OMS]. **Organización Mundial de la Salud. 2008.** Leptospirosis humana: Guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Serie de manuales técnicos N° 12. [Internet]. [22 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/guia-esp.pdf>
7. **Abuauad M, Osorio G, Rojas J. 2005.** Leptospirosis: Presentación de una infección fulminante y revisión de la literatura. *Revista chilena de infectología*. Vol. 22, No.1, p. 93-97.
8. **Acha P, y Szyfres B. 1992.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da. edición. Publicación Científica N° 503. OPS.

9. **Acha P, y Szyfres B. 2003.** Leptospirosis. In Zoonosis y enfermedades transmisibles
10. **Acosta H, Moreno C, Viáfara D. 1994.** Leptospirosis: Revisión del tema. Colombia Médica. Vol. 25: 36-42.
11. **Adler B, De La Pena Moctezuma A. 2009.** Leptospira and leptospirosis. Vet. Microbiol. 140. p287–296.
12. **Adler B, De La Peña M. 2009.** Leptospira and Leptospirosis. Vet Microbiol. 2:4382-4392.
13. **Adler B, De La Peña M. 2010.** Leptospira In: Gyles, CL.; Prescott, JF.; Songer, G.; Thoen, CO. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals 4.Ed. cap 28. Wiley-Blackwell. p.527-547.
14. **Adler B. 2015.** History of leptospirosis and leptospira. In Leptospira and Leptospirosis (pp. 1-9). Springer Berlin Heidelberg.
15. **Alfaro C, Aranguren Y, Clavijo A. 2004.** Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis como fundamentos para el diseño de estrategias de control. Revista digital CENIAP.
16. **Anampa, L, Rivera GH, Falcon PN, Arainga M, Ramirez M. 2012.** Frecuencia de Leptospira spp. en porcinos de crianza tecnificada y de traspatio beneficiados en dos mataderos de Lima. Rev. Investig. Vet. Perú 23. p240-245.
17. **Asuthkar S, Velineni S, Stadlmann J, Altmann F, Sritharan M. 2007.** Expression and characterization of an iron-regulated hemin-binding protein, HbpA. Leptospira interrogans serovar Lai. Infect. Immun. 75(9):4582-4591.
18. **Ayanegui MA, Wilson PR, Mackintosh CG, Collins JM, Heuer C, Midwinter AC. 2007.** Leptospirosis in farmed deer in New Zealand: A review. NZ Vet. J. 55(3):102-108.
19. **Bal AM. 2005.** Unusual clinical manifestation of leptospirosis. Department of Medical Microbiology. Aberdeen Royal Infirmary, Scotland, United Kingdom Symposium. 51(3):179-183.
20. **Ballard S, Go A, Segers R, Adler B. 1998.** Molecular analysis of the dnaK locus of Leptospira interrogans serovar Copenhageni. Gene 1998; 216:21-29.
21. **Baskerville A. 1986.** Histological aspects of diagnosis of leptospirosis. In The Present State of Leptospirosis Diagnosis and Control. Dordrecht, Netherlands: Martinus Nijhoff, 33–43.
22. **Benenson A. 1997.** Manual para el control de las Enfermedades Transmisibles. Décimosexta Edición. Publ. Científica N° 564. OPS.
23. **Bhattacharya P. 1967.** Epizootiology, diagnosis and control of the leptospirosis of cattle, sheep and pigs in India. Bull Off Int Epizoot 68, 41-42.
24. **Bolin CA, Cassells JA, Hill HT, Frantz JC, Nielsen JN. 1991.** Reproductive failure associated with Leptospira interrogans serovar bratislava infection of swine. J Vet Diagn Invest. 3: 152-154.

25. **Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Chierakul W, Limmathurotsakul D. 2011.** Molecular detection and speciation of pathogenic *Leptospira* spp. in blood from patients with culture-negative leptospirosis. *BMC Infect Dis* 11: 338-346.
26. **Boqvist S. 2002.** *Leptospira* infection among pigs in southern Vietnam. Aspects on epidemiology, clinical affection and bacteriology. Doctoral thesis of Veterinary Medicine. Upsala: Swedish University of Agricultural Sciences. 42 p.
27. **Borrero R, González A, Del Puerto C, Batista N, Valdés Y. 2006.** Conservación de cepas vacunales de *Leptospira* a -70 °C. *Rev Cub Med Trop.* 58(1):50-55.
28. **Bulach D, Zuerner R, Wilson P, Seemann T, Mcgrath A, Cullen P. 2006.** Genome reduction in *Leptospira borgpetersenii* reflects limited transmission potential. *Proceed Nat Acad Sciences.* 103:14560-14565.
29. **Cachay E, Vinetz J. 2005.** A global research agenda for Leptospirosis. *J Postgrad Med;* 51:174-178.
30. **Carneiro M, Giacomini L, Costa M. 2004.** Leptospirosis asociada a la exposición ocupacional: Estudio clínico y epidemiológico. *Revista chilena de infectología.* Vol. 21, No. 4, p 339-344.
31. **Cediel N, Villamil L. 2004.** Riesgo biológico ocupacional en la medicina veterinaria, área de intervención prioritaria. *Rev. Salud Pública,* Vol. 6, No.1, p 28-43.
32. **Cerqueira G, Picardeau M. 2009.** A century of *Leptospira* strain typing. *Infection Genetics and Evolution.* 9: 760-768.
33. **Céspedes M, Balda L, Gonzales D, Tapia R. 2006.** Situación de la leptospirosis en el Perú 1994 -2004. *Rev Perú Med Exp Salud Publica* 23(1): 52-62.
34. **Céspedes M. 2005.** Leptospirosis: Enfermedad zoonótica reemergente. *Rev Perú Med Exp Salud Pública.* 22(4): 290-307.
35. **Chappel RJ, Ellis WA, Adler B, Amon L, Millar BD, Zhu SS, Prime RW. 1992.** Serological evidence for the presence of *Leptospira interrogans* serovar bratislava in Australian pigs. *Aust Vet J* 69, 119-120.
36. **Chappel RJ, Prime RW, Millar BD, Jones RT, Cutler RS, Adler B. 1998.** Prevalence and geographic origin of pigs with serological evidence of infection with *Leptospira interrogans* serovar pomona slaughtered in abattoirs in Victoria, Australia. *Vet Microbiol* 62, 235-242.
37. **Chierakul W, Tientadakul P, Suputtamongkol Y, Wuthiekanun V, Phimda K, Limpai boon R. 2008.** Activation of the coagulation cascade in patients with leptospirosis. *Clin Infect Dis.* 46:254-260.
38. **Choy HA, Kelley MM, Chen TL, Moller AK, Matsunaga J, Haake DA. 2007.** Physiological osmotic induction of *Leptospira interrogans* adhesion: LigA and LigB bind extracellular matrix proteins and fibrinogen. *Infect. Immun.* 75(5):2441-2450.

39. **Cinco M, Domenis R, Perticarari S, Presani G, Marangoni A, Blasi E. 2006.** Interaction of leptospire with murine microglial cells. *New Microbiol.* 29(3):193-199.
40. **Cisneros MA, Moles LP, Gavaldon D, Rojas N, Torres JI. 2000.** Serología diagnóstica de leptospirosis porcina en México 1995-2000. *Revista Cubana de Medicina Tropical.* N°54. p.28-31.
41. **Corney B, Slack A, Symonds M, Dohnt M, Mcclintock C, Gowan M. 2008.** *Leptospira weilii* serovar Topaz, a new member of the Tarassovi serogroup isolated from a bovine source in Queensland, Australia. *Int J Syst Evol Microbiol*; 58:2249-2252.
42. **Croda J, Figueira C, Wunder E, Santos C, Reis M, Ko AI. 2008.** Targeted mutagenesis in pathogenic *Leptospira*: disruption of the LigB gene does not affect virulence in animal models of leptospirosis. *Infect Immun.* 76:5826-5833.
43. **Deanna S, Deveson L, Cullen PA, Miranda L, Srikrum A, Rasana W. 2011.** Recombinant LipL32 and LigA from *Leptospira* are unable to stimulate protective immunity against leptospirosis in the hamster model. *Vaccine*; 29(18):3413-3418.
44. **Donald G. 2011.** Biosecurity of pigs and farm security. Department of Animal Science, University of Nebraska-Lincoln. [Internet]. [5 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://extensionpublications.unl.edu/assets/pdf/ec289.pdf>
45. **Dong H, Hu Y, Xue F, Sun D, Ojcius D, Mao Y. 2008.** Characterization of the ompL1 gene of pathogenic *Leptospira* species in China and cross-immunogenicity of the OmpL1 protein. *BMC Microbiol*; 8:223-227.
46. **Duarte A, Castro I, Da Fonseca I, Almeida V, De Carvalho LM, Meireles J, Fazendeiro M, Tavares L, Vaz Y. 2010.** Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *J. Feline Med. Surg.* 12: 441-446.
47. **Duarte A, Fernandes M, Santos N, Tavares L. 2012.** Virological Survey in free-ranging wildcats (*Felis silvestris*) and feral domestic cats in Portugal. *Vet. Microbiol.* 158: 400-404.
48. **Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. 1999.** *Leptospira* and leptospirosis. 2nd ed. Melbourne: Edit MediSci.p.69-75.
49. **Faine S. 1982.** Guidelines for the Control of Leptospirosis. Geneva, World Health Organization. WHO Offset Publication No 67.
50. **Feraud D, Cueto J, Chamizo E. 2006.** Aislamiento de *Leptospira Canicola* en hemocultivo: análisis epidemiológico. *REDVET* 6:60-66.
51. **Frantz JC, Hanson LE, Brown AL. 1989.** Effect of vaccination with a bacterin containing *Leptospira interrogans* serovar Bratislava on the breeding performance of swine herds. *Am J Vet Res.* 50:1044-1047.

52. **García A, Benítez JM, García WL, Martínez R, Sánchez S, Risco D, García L, Alonso, J.M.; Alonso, J.M. 2004.** Leptospirosis en porcino ibérico. *Anaporc. MAY*; VIII (79). p 24-30.
53. **Guerra MA. 2009.** Leptospirosis. *J Am Vet Med Assoc*; 234(4):472-478.
54. **Hanson LE, Tripathy DN. 1986.** Leptospirosis. In *Diseases of Swine*, 6th ed. AD Leman, B Straw, RD Glock, WL Mengeling, RHC Penny, E Scholl, eds. Ames: Iowa State Univ Press, 591–599.
55. **Hathaway SC. 1983.** Leptospirosis in Pigs in England. FRCVS thesis. Royal College Vet Surgeons, London.
56. **Herrer A, Literas De Hidalgo J, Meneses O. 1960.** Nota preliminar sobre leptospirosis en los cerdos del Perú *Rev Med Exp Lima* 13, 119-123.
57. **Hoke DE, Egan S, Cullen PA, Adler B. 2008.** LipL32 Is an extracellular matrix interacting protein of *Leptospira* spp. and *Pseudoalteromonas tunicata*. *Infect Immun.* 76(5):2063-2069.
58. **Hovind-Hougen K. 1979.** Leptospiraceae, a new family to include *Leptospira* Noguchi 1917 and *Leptonema* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol* 29:245–251.
59. **Hung CC, Chang CT, Tian YC, WU MS, YU CC, Pan MJ. 2006.** Leptospiral membrane proteins stimulate pro-inflammatory chemokines secretion by renal tubule epithelial cells through toll like receptor 2 and p38 mitogen activated protein kinase. *NDT.* 21:898-910.
60. **Ido Y, Hoki R, Ito H, Wani H. 1917.** The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, the causative agent of *Spirochaetosis icterohaemorrhagica*. *J Exp Med* 26:341–353.
61. **Inada R, Ido Y, Hoki R, Kaneko R, Ito H. 1916.** The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). *J Exp Med* 23:377–402.
62. **Johnson RC, Faine S. 1984.** *Leptospira*, p. 62–67. In N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
63. **Ko A, Goarant C, Picardeau M. 2009.** *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nature*; 7:736-747.
64. **Le Moine V., Vannier P., Jestin A. 1987.** Microbiological studies of wild rodents in farms as carriers of pig infectious agents. *Prev. Vet. Med.* 4: 399–408.
65. **Leutenegger C. M., Hofmann-Lehmann R., Riols C., Liberek M., Worel G., Lups P., Fehr D., Hartmann M., Weilenmann P., Lutzl H. 1999.** Viral infections in free-living populations of the European wildcat. *J. Wildl.*
66. **Levett P, Morey R, Galloway R, Steigerwalt A. 2006.** *Leptospira broomii* sp. nov, isolated from humans with leptospirosis. *Int J Syst Evol Microbiol.* 56:671-673.

67. **Levett PN, Morey RE, Galloway R, Steigerwalt AG, Ellis WA .2005.** Reclassification of *Leptospira parva* Hovind-Hougen et al., 1982 as *Turneriella parva* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:1497–1499.
68. **Levett PN. 2001.** Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 14: 296-326.
69. **Liceras J, Hidalgo R. 1970.** Leptospirosis en el ganado y matarifes de Tumbes, Perú. *Bol Sanit Panam.* 68 (4): 297-306.
70. **Malajov Y, Panin A, Sovoliova G. 2007.** Leptospirosis de los animales. 3ra. ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, Cuba. p.24-53.
71. **Maneewatch S, Tapchaisri P, Sakolvaree Y, Klaysing B, Tongtawe P. 2007.** OmpL1 DNA vaccine cross-protects against heterologous *Leptospira* spp. Challenge. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 25(1):75-82.
72. **Marotto P, Ko A, Murta C, Seguro F, Prado R, Barbosa M. 2010.** Early identification of leptospirosis-associated pulmonary hemorrhage syndrome by use of a validated prediction model. *J Infect.* 60:218-223.
73. **Martínez AJ, 1960.** Encuesta de leptospirosis en cerdos sacrificados en el frigorífico nacional del Callao. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos.21 p.
74. **Matsunaga J, Lo M, Bulach DM, Zuerner RL, Adler B, Haake DA. 2007.** Response of *Leptospira interrogans* to physiologic osmolarity: relevance in signaling the environment-to-host transition. *Infect Immun;* 75:2864-2874.
75. **Matsunaga J, Young T, Barnett J, Barnett D, Bolin C, Haake D. 2002.** Novel 45-kilodalton leptospiral protein that is processed to a 31-kilodalton growth-phase-regulated peripheral membrane protein. *Infect Immun;* 70(1):323-334.
76. **Mcdonough L. 2001.** Leptospirosis en caninos - estado actual. Department of Population Medicine and Diagnostic Science, Diagnostic Laboratory, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, New York, USA. A0112.0701.ES.
77. **Meites E, Jay MT, Deresinski S, Shieh W, Zaki SR, Tompkins L, Smith DS. 2004.** Reemerging Leptospirosis, California; *Emerg. Infect. Dis.* 10 406–412.
78. **Michna SW, Campbell RS. 1969.** Leptospirosis in pigs: epidemiology, microbiology and pathology. *Vet Rec* 84, 135-138.
79. **Miller DA, Wilson MA, Owen WJ, Beran GW. 1990.** Porcine leptospirosis in Iowa. *J Vet Diagn Invest* 2, 171-175.
80. **Mitchell D, Robertson A, Corner AH, Boulanger P. 1966.** Some observations on the diagnosis and epidemiology of leptospirosis in swine. *Can J Comp Med Vet Sci.* 30: 211-217.
81. **Murray G, Ellis K, Lo M, Adler B. 2008.** *Leptospira interrogans* requires a functional heme oxygenase to scavenge iron from hemoglobin. *Microb Infect.* 10:791-797.

- 82. Murray G, Srikram A, Henry R, Puapairoj A, Sermswan R, Adler B. 2009.** *Leptospira interrogans* requires heme oxygenase for disease pathogenesis. *Microb Infect.* 11:311-314.
- 83. Murray GL, Srikram A, Hoke DE, Wunder EA, Henry R, Lo M. 2009a.** Major surface protein LipL32 is not required for either acute or chronic infection with *Leptospira interrogans*. *Infect Immun*; 77(3):952-958.
- 84. Musso D, La Scola B. 2013.** Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* 46: 245-252.
- 85. Nally J, Chow E, Fishbein M, Blanco D, Lovett M. 2005.** Changes in lipopolysaccharide O antigen distinguishes acute versus chronic *Leptospira interrogans* infections. *Infect Immun.* 73(6):3251-3260.
- 86. Nally J, Whitelegge JP, Bassilian S, Blanco DR, Lovett MA. 2007.** Characterization of the outer membrane proteome of *Leptospira interrogans* expressed during acute lethal infection. *Infect Immun*; 75:766-773.
- 87. Naranjo M, Suárez M, Fernández C, Amador N, González M, Batista N. 2008.** Study of a Leptospirosis Outbreak in Honduras Following Hurricane Mitch and Prophylactic Protection of the vax-SPIRAL® Vaccine. *MEDICC Review*; 10(3):38-42.
- 88. Nisbet DI. 1951.** *Leptospira icterohaemorrhagiae* infection in pigs. *J Comp Pathol* 61, 155-160
- 89. Niwetpathomwat A, Luengyosluechakul S, Geawduanglek S. 2006.** A serological investigation of leptospirosis in sows from central Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 37(4): 716-719.
- 90. Noguchi H. 1918.** Morphological characteristics and nomenclature of *Leptospira* (*Spirochaeta*) *icterohaemorrhagiae*. *J Exp Med* 27:575–592.
- 91. Oliva R, Infante J, González M, González I, Fariñas M. 1998.** Comparación clínico-patológica de la leptosirosis, en hámster sirio o dorado y el curiel Ducan Hartley mediante la infección experimental con tres serovares de *L. interrogans*. *VacciMonitor*; 7(5):8-13.
- 92. Ooteman M, Vago A, Koury M. 2006.** Evaluation of MAT, IgM ELISA and PCR methods for the diagnosis of human leptospirosis. *J Microbiol Methods* 65: 247-257.
- 93. Palaniappan RU, Ramanujam S, Chang YF. 2007.** Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis. *Curr Opin Infect Dis.* 20(3):284-292.
- 94. Pappas G, Papadimitriou P, Siozopoulou V, Christou L, Akritidis N. 2008.** The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int J Infect Dis*; 12(4):351-357.
- 95. Perea A, Garcia R, Maldonado A, Tarradas MC, Luque I, Astorga R, Arenas A. 1994.** Prevalence of antibodies to different *Leptospira interrogans* serovars in pigs on large farms. *Zentralbl Veterinarmed B* 41, 512-516.

96. **Peterson JE. 1951.** Leptospirosis of cattle and pigs in western Australia. *Aust Vet J* 27, 40-43.
97. **Picardeau M, Bulach D, Bouchier C, Zuerner R, Zidane N, Wilson P. 2008.** Genome sequence of the saprophyte *Leptospira biflexa* provides insights into the evolution of *Leptospira* and the pathogenesis of leptospirosis. *PLoS ONE*. 3:1599-1607.
98. **Picardeau M. 2013.** Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine et maladies infectieuses*. 43: 1-9.
99. **Que N, Ribeiro A, Kalb S, Cotter R, Bulach D, Adler B. 2004.** A methylated phosphate group and four amide-linked acyl chains in *Leptospira interrogans* Lipid A: The membrane anchor of an unusual lipopolysaccharide that activates TLR2. *J Biol Chem*; 279:25420-25429.
100. **Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RD. 2008.** Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Negl Trop Dis*; 2(4):228.
101. **Ristow P, Bourhy P, McBride F, Figueira C, Huerre M, Ave P. 2007.** The OmpA Like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence. *PLoS Pathogens*. 3:90-97.
102. **Rocha F, Spichler A, Athanzio D. 2010.** Leptospirosis-associated disturbances of blood vessels, lungs and hemostasis. *Acta Tropica*. 115:155-162.
103. **Rosario L, Arencibia D, Batista N, Jirón W, Valdés B, Suárez Y, Infante J. 2012.** Leptospirosis una revisión actualizada. *Revista Veterinaria Argentina Vol. XXIX. Nro. 291. 53p.*
104. **Sadow K, Ramírez W. 2005.** Leptospirosis. *REDVET*; 6:26-29.
105. **Silva E, Cerqueira G, Seyffert N, Seixas F, Hartwig D, Brod C. 2009.** *Leptospira noguchii* and human and animal leptospirosis, southern Brazil. *Emerg Infect Dis*; 15(4):621-623.
106. **Silva E, Santo C, Athanzio D, Seyffert N, Seixas F, Cerqueira GM. 2008.** Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in hamster model. *Vaccine*. 26:3892-3896.
107. **Siuce J, Calle S, Pinto C, Pacheco G, Salvatierra G. 2015.** Identificación de serogrupos patógenos de *Leptospira* en canes domésticos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(4), 664-675.
108. **Slack A, Kalambaheti T, Symonds M, Dohnt M, Galloway R, Steigerwalt A. 2008.** *Leptospira wolffii* sp. nov, isolated from a human with suspected leptospirosis in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol*; 58:2305-2308.
109. **Slack A, Khairani-Bejo S, Symonds M, Dohnt M, Galloway R, Steigerwalt A. 2009.** *Leptospira kmetyi* sp. nov, isolated from an environmental source in Malaysia. *Int J Syst Evol Microbiol*; 59:705-708.
110. **Srivastava SK. 2006.** Prospects of developing leptospiral vaccines for animals. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 34:331-336.

- 111. Stevenson B, Choy HA, Pinne M, Rotondi ML, Miller MC, Demoll E. 2007.** *Leptospira interrogans* endostatin-like outer membrane proteins bind host fibronectin, laminin and regulators of complement. *PLoS ONE*. 2(11):1188-1195.
- 112. Stimson AM. 1907.** Note on an organism found in yellow-fever tissue. *Pub Health Rep. Washington*; 22:541
- 113. Suárez M, Morera J, Díaz C, Sánchez Jm. 2005.** Brotes de leptospirosis animal y humana en la provincia Ciego de Ávila. *Rev Cub Med Trop*; 57(1):79-80.
- 114. Tripathy DN, Hanson LE, Mansfield ME. 1981.** Pathogenesis of *Leptospira pomona* in lactating sows and transmission to piglets. *Proc US Anim Health Assoc* 85:188.
- 115. Trueba G, Zapata S, Madrid K, Cullen P, Haake D. 2004.** Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. *Intern Microbiol*; 7:35-40.
- 116. Turhan V, Polat E, Atasoyu EM, Ozmen N, Kucukardali Y, Cavuslu S. 2006.** Leptospirosis in Istanbul, Turkey: A wide spectrum in clinical course and complications. *Scand Journal of Infect Dis*; 38(10):845-852.
- 117. Valdivia S, Terán M, Windsor RS. 1991.** *Leptospira interrogans* serovar canicola: a causal agent of sow abortions in Arequipa, Perú. *Trop Anim Hlth prod*. 23: 233-240.
- 118. Valverde M, Ramírez J, Montes De Oca L, Goris M, Ahmed N, Hartskeerl R. 2008.** A new leptospira serovar of serogroup Javanica, isolated from a patient in Costa Rica. *Infect Genet Evol*; 8:529-533.
- 119. Van Der Hoeden, J. 1956.** Leptospirosis canicularis in pigs and its probable transfer to human beings. *J Infect Dis* 98, 33-38.
- 120. Vijayachari P, Sehgal SC. 2006.** Advance in the laboratory diagnosis of leptospirosis and characterisation of leptospirosis. *Indian J Med Microbiol*; 24(4):320-322.
- 121. Vivian JP, Beddoe T, Mcalister AD, Wilce MCJ, Zaker-Tabrizi L, Troy S. 2009.** Crystal structure of LipL32, the most abundant surface protein of pathogenic *Leptospira* spp. *J Mol Biol*. 387(5):1229-1238.
- 122. Waitkins SA. 1987.** Leptospirosis; in *Manson's tropical diseases 19th edition* (eds) P E C Manson-Bhar and D R Bell (London: Baillière Tindall) p 657–665.
- 123. Weil A .1886.** Ueber einer eigenhuemliche, mit Milztumor, Icterus un Nephritis einhergehende, acute Infektionskrankheit. *Deutsch Arch Klin Med* 39:209.
- 124. Wrathall AE. 1975.** Reproductive Disorders in Pigs. *Anim Health Rev Ser no. 11. Commonwealth Agricultural Bureaux.*
- 125. Xue F, Yan J, Picardeau M. 2009.** Evolution and pathogenesis of *Leptospira* spp.: lessons learned from the genomes. *Microb Infect*. 11:328-333.

- 126. Yang CW, Hung CC, Wu MS, Tian YC, Chang CT, Pan MJ. 2006.** Toll-like receptor 2 mediates early inflammation by leptospiral outer membrane proteins in proximal tubule cells. *Kidney International*. 69:815-822.
- 127. Zamora J, Riedmann S. 1990.** Encuesta Serológica de Leptospirosis Humana en Ocupaciones de alto riesgo en Chile”. *Rev. Med. Chile*; 118: 247-252.
- 128. Zoetis. Sitio Web FarrowSure® Gold B Composición. 2016.** [internet]. [17 de enero 2016]. Disponible en: <http://www.zoetis.pe/products/porcinos/farrowsure-gold-b.aspx>.
- 129. Zuerner RL. 2010.** Family IV. Leptospiraceae Hovind-Hougen 1979, 245AL emend. Levett, Morey, Galloway, Steigerwalt and Ellis 2005, 1499. In: Krieg NR, Staley JT, Brown DR, Hedlund BP, Paster BJ, Ward NL, Ludwig W, Whitman WB (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer, New York, p 546–563.

VIII. APENDICES

Cuadro A.1. Lista de serovares de *Leptospira* spp. utilizados en la prueba de Microaglutinación (MAT)

Nº	Especie	Serogrupo	Serovar	Cepa
1	<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	Jez-Bratislava
2	<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
3	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis	Castellon 3
4	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Van Tienen
5	<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
6	<i>L. weilii</i>	Celedoni	ND	2011/01963
7	<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
8	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	Djasiman
9	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
10	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
11	<i>L. fainei</i>	Hurtsbridge	Hurtsbridge	BUT6
12	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Verdun
13	<i>L. licerasiae</i>	Iquitos	Varillal	VAR10
14	<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Poi
15	<i>L. noguchii</i>	Louisiana	Louisiana	LUC1945
16	<i>L. interrogans</i>	Manhao	Lincang	L14
17	<i>L. santarosai</i>	Mini	Georgia	LT117
18	<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214 K
19	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
20	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
21	<i>L. meyeri</i>	Ranarum	Ranarum	ICF
22	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjobovis	Sponselee
23	<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342 K
24	<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
25	<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc 1