

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Estudio de caso-control para evaluar factores de riesgo  
en la presentación de leptospirosis canina en la Clínica de  
Animales Menores de la Facultad de Medicina  
Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San  
Marcos**

TESIS

para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Carlos Eusebio Huerta Medina

Lima – Perú

2009

## **AGRADECIMIENTOS**

A Ti, mi Señor,  
que me guías y me acompañas.

A mis padres, Próspero y Carmen, y a mis hermanos,  
que me apoyan en todo momento.

A mi mamita,  
que desde el cielo me da fortaleza.

Al Director de mi tesis y mis asesores,  
por sus recomendaciones y su paciencia para ayudarme a terminar mi  
trabajo.

A mis amigos,  
por sus consejos y compañía.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
Página del Título	i
Certificación de la Tesis	ii
Acta de Sustentación	iii
Agradecimientos	iv
Tabla de contenido	v
Resumen en español	viii
Resumen en Inglés (Abstract)	ix
Lista de cuadros	x
I. Introducción.	01
II. Revisión bibliográfica.	03
2.1 Generalidades.	03
2.2 Epidemiología.	05
2.3 Fisiopatología de la enfermedad.	07
2.4 Signos clínicos.	08
2.5 Diagnóstico.	10
2.5.1 Prueba Microscópica de Aglutinación para <i>Leptospira</i> (L-MAT).	10

2.5.2	Análisis de orina por microscopía de campo oscuro versus anticuerpos fluorescentes (FA).	13
2.5.3	Cultivo.	13
2.5.4	Prueba de anticuerpos fluorescentes (FA).	13
2.5.5	ELISA.	14
2.5.6	IgM DipStick.	14
2.5.7	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).	14
2.5.8	Histopatología.	14
2.6	Diagnóstico diferencial.	15
2.7	Tratamiento.	15
2.8	Control.	16
2.9	Prevención.	17
2.10	La leptospirosis en medicina humana.	19
III.	Materiales y métodos.	21
3.1	Lugar de estudio.	21
3.2	Diseño de estudio.	21
3.3	Tamaño de la muestra.	21
3.4	Obtención y procesamiento de las muestras.	22
3.4.1	Definición de caso	23
3.4.2	Definición de control.	24
3.5	Análisis de datos.	24
IV.	Resultados.	26
V.	Discusión.	29
VI.	Conclusiones.	34
VII.	Recomendaciones.	35
VIII.	Bibliografía	36
	Apéndice	42
	Apéndice 1. Serogrupos de <i>Leptospira interrogans</i>	43
	Apéndice 2. Serogrupos de <i>Leptospira biflexa</i>	44
	Apéndice 3. Genomospecies de <i>Leptospira sp</i>	45
	Apéndice 4. Genomospecies de <i>Leptospira sp</i> y distribución en serogrupos	46

Apéndice 5. Serogrupos asociados con genomospecies de <i>Leptospira sp</i>	47
Apéndice 6. Fisiopatología de la leptospirosis en caninos	48

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio caso – control para evaluar factores de riesgo en la presentación de leptospirosis canina en pacientes de la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se analizaron datos de las historias clínicas y resultados de análisis serológicos de los años 2002 al 2007. Se trabajó con un grupo caso (n=54) y un grupo control (n=394). Los datos se agruparon en las variables sexo, tamaño, edad, temporada del año y residencia. Fueron analizadas mediante la prueba de regresión logística. Los factores de riesgo asociados a la enfermedad fueron el sexo (el macho presenta el doble de riesgo que la hembra), el tamaño (los perros grandes presentan el doble de riesgo de presentar la enfermedad versus perros pequeños) y la edad (los animales de edades entre uno y tres años presentan cuatro veces más riesgo, los perros de tres a cinco años mostraron seis veces mayor riesgo, los animales de cinco a ocho años presentan diez veces mayor riesgo, y los caninos mayores de ocho años presentan ocho veces más riesgo que los menores de un año).

Palabras claves: leptospirosis, caninos, factores de riesgo, caso – control.

## **ABSTRACT**

The aim of the present study was to describe potential risk factors for canine leptospirosis infections in The Small Animal Clinic of Veterinary School in San Marcos University, through the use of a case-control study. Data from clinical historical records and serological test results from 2002 to 2007 were reviewed. Forty four cases and 394 controls were enrolled into the study. The data collected; sex, size, age, season of the year and precedence; were analyzed by multivariable logistic regression. Risk factors related to the disease were: sex (male has double risk), size (bigger dogs have two times more risk) and age (dogs between 1-3 years old have four times more risk vs. 1 year old, dogs between 3-5 years old have six times more risk vs. 1 year old, dogs between 5-8 years old have ten times more risk vs. 1 year old and dogs older than 8 years old have eight times more risk vs. 1 year old).

Key words: leptospirosis, canine, risk factors, case – control.

## LISTA DE CUADROS

Tabla 1. Total de resultados positivos en las pruebas de Microaglutinación para *Leptospira* (2002-2007).

Tabla 2. Resultado del análisis de Odds Ratio ajustado entre los grupos caso y control.



## I. INTRODUCCIÓN.

La leptospirosis es una enfermedad clínica y zoonótica importante, significativa en todo el mundo. Aunque presentan distribución global, algunos serovares presentan una distribución geográfica limitada. Hace dos décadas se le consideraba una enfermedad reemergente y hoy su notificación es obligatoria en muchos países del mundo. Los últimos brotes han permitido que aumente el interés como problema de salud pública, debido a que estos han producido formas letales y presentaciones clínicas poco frecuentes. Es una enfermedad potencialmente mortal pero tratable (Madigan, *et al*, 1999; Mc Donough, 2001; Levett, 2001; Céspedes, 2005; Quinn, *et al*, 2005; Céspedes, 2006; Moore, 2006; Schaer, 2006). Teniendo en cuenta esto, los perros pueden convertirse en centinelas de exposición en humanos de este microorganismo (Moore, 2006), sobre todo en lugares con alta prevalencia de esta enfermedad en humanos, como en la selva peruana (Loreto y Madre de Dios) (Céspedes, 2005).

Una vez infectado, el animal desarrolla la enfermedad cuyos signos clínicos se presentan de acuerdo a variables que incluyen el animal infectado y el serovar de la leptospira infectante. Así podemos encontrar desde animales que mueren sin presentar signos clínicos (leptospirosis peraguda) a animales que presentan una enfermedad larga (leptospirosis crónica) de la cual se recuperan clínicamente, pero tornándose portadores por meses, incluso años (Levett, 2001). Estos últimos pasan a eliminar

leptospira por la orina, contaminando el medio ambiente donde se encuentran, con el peligro que significa para otros animales y el hombre.

En una ciudad como Lima, donde la *Leptospira* encuentra los factores necesarios para su presencia y desarrollo, es importante conocer los factores de riesgo individuales y medioambientales que tienen los perros para contraer la enfermedad. El conocimiento de los factores de riesgo locales nos ayudará a adoptar medidas preventivas contra la enfermedad. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue realizar un estudio caso – control para evaluar factores de riesgo en la presentación de leptospirosis canina en la Clínica de animales menores de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 GENERALIDADES.

La *Leptospira sp* es una bacteria aeróbica o microaerofílica Gram negativa y miembro del Orden Spirochaetales (espiroquetas), es larga, móvil y filamentosa. Sus dimensiones son de 0.1 – 0.2 x 6 – 24  $\mu\text{m}$ . La leptospira no se tiñe bien con la tinción convencional de Gram, pero son fácilmente visibles con tinciones de anticuerpos fluorescentes (FA) de preparados tisulares o sedimento urinario, tinción de plata de Warthin – Starry o tinción de tejidos fijados por inmunohistoquímica. Su morfología microscópica es un espiral a menudo con ganchos visibles en cada extremo de la célula bacteriana. Se observa un movimiento rotacional activo, pero no se ha descubierto flagelo alguno (Ettinger, 1992; Brooks, 1999; Prescott, 1999; Mc Donough, 2001; Levett, 2001; Greene, 2003; Schaer, 2006). Usan ácidos grasos de cadena larga (por ejemplo, ácido oléico) como donadores de electrones y fuentes de carbono. Las sales de amonio son su fuente principal de nitrógeno. Con alguna excepción, estos son los únicos substratos que las leptospiras usan para crecer (Brooks, *et al*, 1999; Madigan, *et al*, 1999).

En principio, las leptospiras se diferenciaban mediante reacciones serológicas (clasificación serológica) y se describieron dos especies: *Leptospira interrogans*, que incluye patógenos (Apéndice 1), y *Leptospira biflexa*, que incluye saprófitos (Apéndice 2). *L. biflexa* fue diferenciada de *L.*

*interrogans* por crecer desde los 13° C y en presencia de 8-azaguanina (225 mm/ml). Dentro de estas dos especies se encontraban cerca de 250 serovares agrupados en 23 serogrupos. Los serogrupos no tienen valor taxonómico, su utilidad solo es para la clasificación epidemiológica y reporte de la enfermedad (Madigan, *et al*, 1999; Levett, 2001; Quinn, *et al*, 2005).

En la actualidad, las especies de leptospira (genomoespecies) se clasifican mediante homología del ADN (clasificación genotípica), y dentro de cada especie se diferencian varios serovares según su reacción genotípica (Apéndice 3) (Quinn, *et al*, 2005). La heterogenicidad genética fue demostrada ya hace un tiempo atrás y los estudios de hibridación de ADN de ese entonces hallaron 10 genomoespecies. La genomoespecie *L. kirschneri* fue agregada luego. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los EEUU ha descrito recientemente dieciséis genomoespecies, agregándole cinco a las once ya presentados desde 1989. Estas genomoespecies no se corresponden con las dos especies previas (*L. interrogans* y *L. biflexa*), ya que serovares patogénicos y no patogénicos se hallan en la misma especie. La reclasificación de las leptospiras sobre una base genotípica es taxonómicamente correcta y provee un fuerte fundamento para futuras clasificaciones. Sin embargo, la clasificación molecular es problemática para los microbiologistas clínicos, porque es claramente incompatible con la clasificación serológica, inclusive una genomoespecie puede hallarse en diferentes serogrupos (Apéndice 4) y viceversa (Apéndice 5). Por ello esta nueva clasificación coexiste con la anterior (Levett, 2001; Céspedes, 2005). A los últimos estudios sobre genética de la leptospira por parte del Instituto Pasteur se ha sumado la bacteria *Turneria parva*, como posible 17ª genomoespecie (Boursaux-Eude, 2006; Kaufmann, *et al*, 2006).

En el Perú se han identificado serovares nuevos, como el *aguitia* del serogrupo Tarassovi, y el *varillal*. El serogrupo Mini destaca por ser el de mayor distribución, seguido por el *Icterohaemorrhagiae*, *Australis*,

Autumnalis, Canicola, Djasman y otras en menor proporción (Céspedes, 2006).

Los medios de cultivo pueden presentarse de tres formas: líquido, semisólido y sólido. Los medios sólidos (Cox) son en general de uso menos frecuente que los otros dos. La mayoría del medio líquido habitualmente son usados para el mantenimiento de cepas utilizadas en las pruebas serológicas. El medio semisólido resulta adecuado para el mantenimiento de cepas de referencia. Tanto uno como el otro, son utilizados para el aislamiento a partir de muestras sospechosas. Basándose en sus componentes, los medios se pueden clasificar en tres grandes grupos: con suero de conejo; con 'Tween' y seroalbumina bovina Ellinghausen, McCulleugh, Johnson y Harris (EMJH); y sin proteínas. Las leptospiras crecen mejor en condiciones aerobias entre 28° y 30° C en medio líquido o semisólido abundante en proteínas (Fletcher o medio EMJH), donde producen colonias redondas de 1 a 3 mm de diámetro en 6 a 10 días. Las leptospiras son resistentes al ácido nalidíxico, propiedad que puede utilizarse en la elaboración de medios de crecimiento para controlar la proliferación de otros microorganismos. Además, no incorporan el 5-fluoracilo del medio, por lo que puede añadirse a los medios para el aislamiento a partir de muestras patológicas. Las leptospiras también crecen en las membranas corioalantoidales de los huevos embrionados (Brooks, *et al*, 1999).

## **2.2 EPIDEMIOLOGÍA.**

La incidencia de la infección parece estacional, con más casos en el verano y principios de otoño (Madigan, *et al*, 1999). Los brotes recientes de leptospirosis ya no se limitan a regiones muy húmedas, tropicales o subtropicales ni países en vías de desarrollo. El fenómeno de globalización, los cambios climáticos y migracionales de animales y personas, han hecho que la bacteria se disemine y que emerja en muchas regiones, convirtiéndola en un problema latente para cualquier tipo de población (Levett, 2001).

La supervivencia de *Leptospira* en ambientes húmedos, fuera del mamífero hospedador, facilita la transmisión de la enfermedad. Las leptospiras pueden sobrevivir en los estanques, ríos, aguas superficiales, fango, y suelos húmedos y alcalinos cuando las temperaturas ambientales son elevadas; en tierra ácida (pH 6.2) sobreviven por siete semanas y en lodo de tierra por tres semanas. Cuando la tierra se contamina por orina de ratas infectadas la leptospira sobrevive durante aproximadamente dos semanas. En agua destilada (pH 7.2), las leptospiras conservaron la movilidad durante 110 días. Sin embargo, cuando se incubaron en un medio semisólido, compuesto de agua destilada y 0,5% de agarosa purificada, sobrevivieron 347 días. En este medio viscoso se observó que las leptospiras formaban agregados. Ni la presencia de nutrientes ni la de antibióticos (ampicilina o tetraciclina) inhibieron la agregación (Ettinger, 1992; Brooks, *et al*, 1999; Trueba, 2004; Céspedes, 2005; Quinn, *et al*, 2005).

Desde 1994 hasta 2004 se han confirmado casos en humanos en 18 de las 24 regiones del Perú, pertenecientes a las tres áreas geográficas (costa, sierra y selva). La altitud a la que se han encontrado van de los 25 a los 3500 m.s.n.m. (Levett, 2001; Céspedes, 2006).

La mayor parte de los serovares se asocian a un hospedador de mantenimiento. La enfermedad es frecuentemente leve o subclínica en estos hospedadores muy susceptibles, seguida con frecuencia de una excreción prolongada de leptospiras en la orina, que puede llegar a ser de varios meses. Estos hospedadores generalmente adquieren la enfermedad a edades tempranas. Se conoce que una sola especie animal podría ser hospedador de mantenimiento de serovares diferentes en áreas geográficas diferentes (Madigan, *et al*, 1999; Levett, P. 2001; Céspedes, 2005; Quinn, *et al*, 2005; Schaer, 2006).

Los hospedadores de mantenimiento son la fuente principal de contaminación ambiental y de transmisión natural a otras especies animales,

que se denominan hospedadores incidentales. Las especies de hospedadores incidentales, por lo general, muestran una escasa susceptibilidad a la infección, desarrollan una enfermedad grave y no resultan unos transmisores eficaces de las leptospiras a otros animales. La *Leptospira* no se multiplica fuera del hospedador (en medio ambiente) (Mc Donough, 2001; Quinn, *et al*, 2005).

### **2.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD.**

El principal modo de contagio es indirecto mediante la exposición a suelos, agua o alimentos contaminados, pero puede ser directo por contacto con la orina infecciosa, heridas por mordedura, ingestión de tejidos/fluidos infectados y por transmisión venérea y placentaria (Madigan, *et al*, 1999; Brooks, *et al*, 1999; Schaer, 2006) (Apéndice 6).

Durante los 4 a 11 días siguientes al ingreso de la leptospira por piel lesionada o mucosas, los organismos rápidamente invaden el torrente sanguíneo, creando una leptospiremia. En perros susceptibles, las leptospiras usualmente establecen una septicemia y se esparcen sistemáticamente a los órganos internos, incluyendo el hígado y los riñones, o la placenta y el feto. Los factores de virulencia de *Leptospira* incluyen factores de adherencia asociados con proteínas de superficie (OSP) que le permiten adjuntarse a la fibronectina y colágeno del huésped, así como también factores desconocidos que le permiten la invasión a través de las membranas mucosas o piel húmeda y ablandada. Los factores adicionales incluyen la actividad endotóxica del lipooligosacárido (LOS) de *Leptospira* y su acción sobre monocitos; liberación de linfocinas, desencadenando la reacción de coagulación intravascular diseminada (CID), incluyendo hemorragia y sangrados anormales; trombocitopenia y agregación plaquetaria; el cúmulo de LOS presente; la actividad del lípido A de LOS y sus efectos tóxicos; LOS y sus efectos protectores contra los efectos bactericidas del suero normal, varias hemolisinas y su acción causando

hemoglobinuria, anemia hemolítica, y otros daños tisulares; esfingomielinasa C; fosfolipasa A y otras citotoxinas (Mc Donough, 2001).

Hacia el final del estado de bacteriemia, 7 a 10 días post-infección, la fiebre normalmente baja y las leptospiras desaparecen del torrente sanguíneo a medida que emergen los anticuerpos. La recuperación ocurre a medida que se incrementan los anticuerpos en sangre y la bacteriemia finaliza; la velocidad de recuperación depende del grado de daño visceral. Después de la fijación a las células hospedadoras, los microorganismos penetran por medio de una endocitosis mediada por receptores. Las leptospiras que se han localizado en los túbulos renales, ojo o tracto reproductivo están protegidos de los efectos bactericidas de los anticuerpos, por lo tanto una leptospiuria persistente puede desarrollarse, con episodios periódicos de fiebre (Madigan, *et al*, 1999; Mc Donough, 2001). También se ha reportado leptospiras alojadas en meninges y útero de manera persistente en animales portadores (Aiello y Mays, 1998; Mc Donough, 2001; Quinn, *et al*, 2005).

La emisión de orina infectada puede durar por periodos prolongados, pero los niveles de anticuerpos eventualmente declinan ya que las leptospiras, protegidas por los túbulos renales, no estimulan la producción de anticuerpos. Eventualmente, los perros recuperados pero excretando, pueden ser seronegativos al analizarse, sin embargo, los organismos continúan multiplicándose y persisten (Mc Donough, 2001).

## **2.4 SIGNOS CLÍNICOS.**

Las formas clínicas de la enfermedad se ven influenciadas si el huésped es primario o incidental. La enfermedad en huéspedes primarios tiende a ser más crónica o asintomática. En contraste, la enfermedad en un huésped incidental tiende a ser aguda y severa con una marcada respuesta de anticuerpos. El espectro de la enfermedad en el perro va desde



subclínico, a subagudo, agudo (severo), o crónico, puede además haber aborto con o sin placentitis (Ettiger, 1992; Mc Donough, 2001).

Los signos clínicos también dependen de la inmunidad del hospedero y de la virulencia y cantidad del serovar al que el animal fue expuesto. En la enfermedad peraguda a subaguda, los perros pueden morir sin la presencia de signos clínicos. Estos signos, cuando están presentes, se relacionan con desórdenes del hígado, riñón y vasculares, además del bazo, ojos y tracto genital (además placenta y feto). A menudo las primeras manifestaciones observadas son letargia, depresión, anorexia, vómito y fiebre, continuándose con ictericia, hemorragias mucosas, hemoglobinuria e inflamación urinaria. Los perros normalmente tienen conjuntivitis y la membrana mucosa oral congestionada. Además puede haber una tos seca y espontánea acompañada con dificultad respiratoria. Incluso, pueden orinar con frecuencia, a menudo con hematuria y, luego, puede ocurrir anuria. Otros signos son: pérdida de peso, dolor no localizado, dolor articular y paresia posterior asociado a dolor lumbar. La ictericia suele aparecer en perros con leptospirosis aguda y ocurre con mayor frecuencia en perros infectados con *L. icterohemorrhagiae*. (Ettiger, 1992; Madigan, *et al*, 1999; Mc Donough, 2001; Greene, C. 2003; Schaer, 2006).

El serovar *canicola*, adaptado a los perros, produce un cuadro renal grave en los cachorros. En los animales que superan la fase aguda, puede desarrollarse posteriormente un síndrome urémico crónico; esto probablemente se deba al crecimiento lento de las leptospiras y a su localización protegida (Madigan, *et al*, 1999; Levett, 2001). Los perros con enfermedad aguda además pueden presentar una deposición grisácea, piel y ojos amarillentos, y desarrollar pérdida de peso crónica. En casos crónicos, puede ocurrir que no exista enfermedad aparente, o sólo se presente fiebre de origen desconocido y leve a severa conjuntivitis ("ojos rojos") (Mc Donough, 2001).

Las infecciones caninas incidentales producidas habitualmente por *icterohaemorrhagiae*, se caracterizan por un cuadro hemorrágico agudo o hepático subagudo, con fallo renal, conocida como coagulación intravascular diseminada (CID). En estos casos el animal puede presentar hematemesis, hematoquesia, melenas, epistaxis y petequias. En las infecciones caninas incidentales producidas por otros serovares diferentes a *icterohaemorrhagiae* o *copenhagenii* suele predominar una sintomatología renal. Se considera que el serovar *bratislava*, asociado con abortos e infertilidad, se está adaptando a los perros, que podrían actuar como hospedadores de mantenimiento (Quinn, *et al*, 2005; Schaer, 2006).

## **2.5 DIAGNÓSTICO.**

El diagnóstico de leptospirosis en perros depende de la detección de leptospiras en especímenes clínicos y/o demostrando un aumento del título de anticuerpos hacia uno o más serovares de leptospira. Es poco probable que las infecciones subclínicas sean diagnosticadas.

Los análisis de laboratorio incluyen perfiles químicos hematológicos y del suero, urianálisis, serología y estudios bacteriológicos y virales de especímenes apropiados. En el panel bioquímico se puede apreciar elevación del nitrógeno úrico sérico (NUS), alaninoaminotrasferasa (ALT), lactato deshidrogenasa (LDH), transaminasa glutámico oxalacética (GOT), fosfatasa alcalina (FA) e hiperbilirrubinemia. El urianálisis puede mostrar piuria, proteinuria y/o bilirrubinuria (Ettinger, 1992).

### **2.5.1 Prueba microscópica de aglutinación para *Leptospira* (L-MAT).**

La actual prueba de diagnóstico "óptimo estándar" para leptospirosis es la prueba microscópica de aglutinación para *Leptospira* (L-MAT) realizado durante el estadio agudo de la enfermedad; un segundo suero (convaleciente) debería obtenerse dentro de las 3 ó 4 semanas.

Se puede definir a la L-MAT como la técnica que en diluciones seriadas de suero en contacto con una suspensión de leptospiras vivas, incubadas a una determinada temperatura y en un período de tiempo, se lee al microscopio de campo oscuro considerando 50% de aglutinación de las leptospiras vivas, como el título de corte para la positividad de la reacción.

La técnica de la L-MAT se realiza en tubos de hemólisis para realizar las diluciones y placas de 20 cm x 20 cm, con 80 pocillos en los cuales se colocan las diluciones y los controles, utilizando pipetas de 0,01 ml. El diluyente utilizado para el suero es PBS. Se realiza una primera lectura con diluciones con un título de corte 1/50 y luego se llega al título final. Se considera como título final la última dilución en la cual hubo aglutinación completa.

Los antígenos que se utilizan en esta técnica son cultivos de leptospiras vivas, de 10 días de crecimiento en medio líquido de EMJH, con enriquecimiento. Para la selección del panel de antígenos se utilizan los criterios determinados por los organismos de referencia internacionales coordinados por OMS. Estos laboratorios proveen de los serovares necesarios en forma anual a pedido del laboratorio especializado. Los subcultivos en el laboratorio de diagnóstico sufren variantes que pueden dificultar la lectura, por lo que es necesaria la preparación de sueros hiperinmunes para el control periódico de las cepas. Esta técnica es cualitativa y cuantitativa.

La serología para *Leptospira* es imprecisa, pero se pueden hacer generalizaciones con respecto a la interpretación del resultado de L-MAT. Los títulos mayores o iguales a 1:400 o un incremento del cuádruplo en el título de las muestras emparejadas resultan significativamente diagnósticos cuando se acompañan de síntomas clínicos compatibles con una leptospirosis. Los anticuerpos son detectados por primera vez entre el día 7 - 10 post-infección en el perro.

En perros no vacunados los títulos inicialmente pueden ser bajos, 1:100 a 1:200, pero pueden incrementarse en la muestra convaleciente a 1:800 a 1:1600 o estar más elevados si se utiliza como antígeno un serovar homólogo de *Leptospira*. En animales vacunados, títulos agudos de niveles menores (>1:400) son encontrados a menudo, pero dependen de cuando el perro fue vacunado por última vez (la duración de este incremento generalmente se mantiene solo por uno o dos meses). La respuesta a la infección en animales previamente vacunados generalmente resulta en respuestas anamnésicas sólo para el serovar homólogo. En general, un aumento cuádruple en el título de anticuerpos a un serovar de *Leptospira* es considerado significativo.

Cuando los títulos a un serovar específico alcanzan niveles mayores, por ejemplo, 1:3200 a 1:6400, no es raro ver títulos elevados contra otros serovares, lo cual probablemente sea debido a reacciones cruzadas. También puede ocurrir reacción cruzada entre serovares durante la fase aguda de la enfermedad, resultado de la detección en el L-MAT de anticuerpos IgM e IgG y de la presencia de varios antígenos comunes entre leptospiros. Para comparaciones exactas, todas las muestras de suero deben analizarse al mismo tiempo.

El tratamiento antimicrobiano afecta adversamente el desarrollo de los títulos de anticuerpos. Debido a esto, las primeras muestras de suero deben obtenerse antes de iniciar el tratamiento con antibiótico. La prueba L-MAT puede perder sensibilidad en estadios tempranos de la enfermedad aguda y en casos de animales muertos por leptospirosis fulminante (Levett, 2001; McDonough, 2001; Herrera, 2002; Greene, 2003; Céspedes, 2005; Quinn, *et al*, 2005; Schaer, 2006).

### **2.5.2 Análisis de orina por microscopio de campo oscuro versus anticuerpos fluorescentes (FA).**

A menudo el examen de orina con microscopio de campo oscuro es inconcluso. Es difícil de leer, y requiere orina fresca a fin de poder observar células de leptospira intactas. En contraste, el examen del sedimento de orina centrifugada mediante FA es una prueba más definitiva y las leptospiras no necesariamente deben estar viables. La orina debe ser entregada al laboratorio refrigerada adecuadamente de un día para otro para asegurar que la muestra es de buena calidad.

Es esencial correlacionar los resultados de FA con la historia clínica y de vacunación ya que las leptospiras son comúnmente vistas en la orina de perros portadores seronegativos y en perros con enfermedad clínica tan temprano como 1 semana pos-infección.

### **2.5.3 Cultivo.**

El cultivo antemortem de fluidos corporales (orina, sangre, humor acuoso) y el cultivo de tejidos posmortem (riñón, hígado, feto, placenta) no es práctico debido a lo engorroso de la enfermedad. Si el cultivo se va a intentar, los veterinarios deberían contactar su laboratorio diagnóstico para utilizar el medio de transporte correcto para *Leptospira*.

### **2.5.4 Prueba de anticuerpos fluorescentes (FA).**

Es una técnica útil para muestras de orina, suero y órganos pero poco utilizada. Todas estas técnicas comerciales tienen la ventaja que detectan los anticuerpos en forma precoz pero no discriminan el serovar actuante y son de baja especificidad y sensibilidad, con muchos falsos negativos y falsos positivos.

FA debería realizarse en todos los tejidos entregados para estudios post-mortem, especialmente importantes son las muestras de riñón e hígado.

#### **2.5.5 ELISA.**

Las técnicas de este grupo en general no necesitan gran experiencia del operador y lo más importante es la precocidad de detección de anticuerpos Ig M.

Hay trabajos que describen que se observa positividad a los 3 días de la infección. Pasado este período no hay diferencia con otras técnicas serológicas.

#### **2.5.6 IgM DipStick.**

Esta técnica es muy sencilla y rápida, detecta precozmente anticuerpos IgM y no es necesario manualidad bacteriológica.

#### **2.5.7 Reacción en cadena de polimerasa (PCR).**

Con la aparición de la prueba de PCR, la detección rápida de género y serovar específico de leptospirosis a partir de especímenes clínicos debería ser posible. Este método está siendo más utilizado en laboratorios de diagnóstico y permite una identificación precisa y rápida.

#### **2.5.8 Histopatología.**

Tinciones especiales, por ejemplo, tinción de plata de Warthin-Starry o por inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos monoclonales, deben ser realizados en secciones fijadas en formalina de tejido renal, hepático y feto/placentario (Levett, 2001; Mc Donough, 2001; Greene, 2003; Céspedes, 2005; Quinn, *et al*, 2005; Schaer, 2006).

Todas estas técnicas de diagnóstico deben confirmarse con el Test de Microaglutinación para Leptospirosis.

## **2.6 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.**

La instauración aguda de signos asociados a la leptospirosis puede manifestarse como una de varias enfermedades sistémicas graves, incluyendo la insuficiencia renal aguda o crónica, hepatitis viral aguda, neoplasia hepática o renal, cálculos renales, reacción farmacológica adversa, toxicosis por plantas, lupus, hemoparásitos y gusanos cardíacos, poliartritis, miositis (por ejemplo toxoplasmosis canina), neumonía y lesión medular (Ettinger, 1992; Schaer, 2006). Los diagnósticos diferenciales de enfermedad crónica, por ejemplo, aborto o síndrome del cachorro débil, incluyen brucelosis canina, infección canina por herpesvirus y distemper (Mc Donough, 2001).

## **2.7 TRATAMIENTO.**

El propósito o fin del tratamiento de casos agudos de leptospirosis canina es el control de la infección antes de que se produzcan los daños irreparables al hígado y riñones, y suprimir la leptospiuria. Casos severos y agudos requieren un alto grado de cuidados de soporte para la supervivencia; la pronta administración de fluidos poliiónicos intravenosos es esencial para corregir los déficits asociados a vómitos y diarreas. En los animales con sangrado espontáneo están indicadas las transfusiones de plasma o sangre fresca. En pacientes oligúricos (producción de orina menor a 2.0 ml/kg/h) o anúricos pueden ser necesarios los diuréticos osmóticos, como el manitol. El pronóstico es reservado para pacientes con falla renal aguda y/o enfermedad hepática. Los dueños deben ser advertidos de que la leptospirosis es una enfermedad zoonótica que se disemina principalmente por orina de perros infectados (Mc Donough, 2001; Schaer, 2006).

Los perros usualmente se recuperan después de 2 semanas, si son tratados prontamente con antibióticos y fluidos endovenosos. Sin embargo, si el daño renal ó hepático es severo la infección puede ser fatal. Un tratamiento exitoso depende de una evaluación de la severidad de la enfermedad del perro. La terapia antimicrobiana inicial, donde hay evidencia de disfunción renal y/o leptospiremia, debería incluir el uso de penicilina G procaina (40,000 a 80,000 unidades por kg, IM, una vez al día, ó en dosis divididas, dos veces al día) hasta el retorno de la función renal. También pueden utilizarse fármacos alternativos en lugar de penicilina, como ampicilina o amoxicilina (22 mg/kg, PO, cada 8 – 12 horas durante 2 semanas). La eliminación de leptospiras del tejido intersticial renal a fin de controlar el estado portador se logra mejor utilizando dihidroestreptomicina (10 a 15 mg/kg, IM, dos veces al día por 2 semanas) o estreptomicina, sin embargo estos fármacos no están disponibles en algunos países (Estados Unidos, por ejemplo) para una terapia de rutina. En este caso se podría utilizar macrólidos, tetraciclinas u otros aminoglicósidos. La doxiciclina no está formalmente aprobada, pero una administración oral de 5.0 mg/kg, PO, cada 12 horas durante 2 semanas ha sido propuesta. Los aminoglicósidos no pueden utilizarse en pacientes hasta que se restablezca la función renal (Ettinger, 1992; Mc Donough, 2001; Greene, 2003; Schaer, 2006).

## **2.8 CONTROL.**

La leptospirosis en los animales de compañía es muy importante desde el punto de vista de la Salud Pública por ser ésta una zoonosis, y en general por que los dueños de estos animales no siempre están bien informados de los riesgos que esto implica. Los caninos cumplen un papel muy importante como reservorio y para controlar esta situación deben ser sometidos a un plan regular de vacunación (Lyford Pike, *et al*, 2002).

Las medidas de higiene se basan en cuidar el ambiente donde se encuentran las mascotas conviviendo con los humanos. Los recipientes



donde se coloca el alimento del animal solamente deben estar disponibles únicamente en el momento de la alimentación. Además, los perros deben evitar aguas estancadas o lodosas. El control de roedores debe instituirse y se debe evitar el contacto de los animales con los sitios donde éstos se encuentran. La vacunación se recomienda en áreas endémicas y debe revacunarse todos los años (Mc Donough, 2001; Schaer, 2006).

Las mascotas son animales que conviven íntimamente con el núcleo familiar y por ello deben tener control higiénico sanitario permanente por Médico Veterinario. Un animal enfermo con diagnóstico veterinario, debe mantenerse aislado para evitar la propagación de la enfermedad. La zona de habitación y áreas externas de un perro infectado necesitan ser tratadas con desinfectantes apropiados (Mc Donough, 2001; Lyford Pike, *et al*, 2002).

Por lo tanto los métodos de control deberían incluir vacunación, especial atención a sanidad de perreras para eliminar el contacto con fuentes potenciales de orina infectada; conocimiento de que los perros en mayor riesgo son las razas de caza, perros de exhibición, y otros perros con acceso a aguas como lagunas; instituir un control sobre roedores en toda la vivienda y en las perreras (Mc Donough, 2001; Lyford Pike, *et al*, 2002; Schaer, 2006).

## **2.9 PREVENCIÓN.**

Las vacunas para perros contienen generalmente los serovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae*, que protegen contra la enfermedad renal bajo condiciones experimentales, pero se ha reportado transmisión del serovar *icterohaemorrhagiae* de perros vacunados a humanos. Se han identificado otras cepas que provocan infección clínica en los perros, como *grippotyphosa* y *pomona*. En EEUU se han introducido vacunas contra estos dos serovares, dado que en estas últimas dos décadas han aumentado los reportes de leptospirosis causadas por cepas no vacunables. Cabe indicar

aquí que las vacunas no dan protección contra serovares no vacunados (no hay protección cruzada) (Levett, 2001; Greene, 2003; Quinn, *et al*, 2005; Schaer, 2006).

El desarrollo de la inmunidad protectora hacia leptospirosis se cree que está asociada con la opsonización y anticuerpos bactericidas dirigidos hacia los lipoolisacáridos (LOS) y antígenos proteicos asociados. Vacunas más viejas pueden producir inmunidad la cual es adecuada para suprimir la invasión sistémica por serovares homólogos, pero no para prevenir la colonización renal de un perro, resultando en un estado portador renal. La localización de leptospiras en los túbulos proximales renales, y su supervivencia en el fluido cerebroespinal (CSF) y humor vítreo del ojo en algunos animales infectados, refleja la inhabilidad de los anticuerpos para penetrar en aquellos sitios sin causar inflamación. Debería reconocerse que la protección por vacunas es serovar específica y, en menor extensión, a un serogrupo específico. La protección contra leptospirosis esta relacionada al nivel de anticuerpos aglutinantes y/u opsonizantes (Mc Donough, 2001).

La prueba serológica para la leptospirosis más utilizada es la aglutinación microscópica de *Leptospira* (L-MAT). Detecta bien la respuesta de IgM, pero no es tan eficiente para detectar respuestas de IgG. La declinación de títulos L-MAT a menudo comienza aproximadamente 16 semanas pos-vacunación, pero títulos más bajos probablemente no indiquen falta de inmunidad, ya que una respuesta anamnésica puede ser suficiente para engendrar protección contra la enfermedad clínica (Mc Donough, 2001).

La protección aportada por bacterinas de célula completa es corta (anecdóticamente, alrededor de 9 meses) sugiriendo que perros con alto riesgo de infección requieran refuerzos al menos dos veces al año. Como se indicó anteriormente, la pregunta si vacunar o no a un animal debe considerar los serovares de leptospira en una región en particular y determinar que en la vacuna se encuentran los serovares apropiados. Como con otras bacterinas, las reacciones adversas a la vacuna (shock

anafiláctico) pueden ocurrir probablemente debido a los efectos de LOS de leptospira el cual es diferente en estructura de otros lipopolisacaridos (LPS) bacterianos Gram negativos (Mc Donough, 2001).

La investigación actual sobre vacunas está enfocada hacia los productos de la subunidad y su objetivo es determinar que fracción o fracciones de la pared celular de la leptospira son inmunogénicas y protectoras sin ser tóxicas al animal. Una vacuna ideal reduciría el índice de reacciones adversas, y así mismo produciría protección contra ambos serovares homólogos y heterólogos (Mc Donough, 2001).

## **2.10 LA LEPTOSPIROSIS EN MEDICINA HUMANA.**

Los primeros casos de leptospirosis en humanos sin conocer el agente los describieron Weiss en 1881 y Weil en 1886. Los científicos japoneses Inada e Ido fueron los primeros en describir el agente causante de la enfermedad al comienzo del 1915, siendo nombrado *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, y luego renombrado *Leptospira* en 1917 (Everard, 1996; Levett, 2001).

El rol de la rata (*Rattus* sp) como fuente de infección humana se descubrió en 1917 (Ido, *et al*, 1917). También en 1917, Noguchi la aisló en ratas pero en Nueva York, EE.UU. (Noguchi, 1917). Ese mismo año se reportó el primer caso de leptospirosis en el Perú por Arce y Ribeyro en un hospital de la ciudad de Lima (Céspedes, 2006).

La infección humana se produce habitualmente por ingestión de agua y alimentos contaminados con leptospira. Pocas veces, los microorganismos pueden penetrar a través de la mucosa o de las heridas de la piel. Estas se hospedan en órganos parenquimatosos (en particular hígado y riñones), produciendo hemorragia y necrosis de los tejidos (Brooks, *et al*, 1999).

La importancia de la ocupación como factor de riesgo fue reconocida en los estudios iniciales. La leptospirosis es una enfermedad ocupacional de los mineros, trabajadores de los arrozales, de mataderos, de las granjas lecheras y de cerdos, de los veterinarios, y de todo aquel personal relacionado con algún trabajo manual asociado con la manipulación de aguas fecales. Los ganaderos, principalmente de ganado de leche, junto a los mineros, integran los mayores factores de riesgo ocupacional alrededor del mundo (Brooks, *et al*, 1999; Levett, 2001; Céspedes, 2005; Quinn, *et al*, 2005; Schaer, 2006).

Los casos de presentación de la enfermedad en zonas tropicales ocurren por exposición a la leptospira durante las actividades de la vida diaria. Los perros son reservorios importantes para la infección humana en estos lugares, Céspedes encontró dos brotes asociados a cerdos y perros en la selva y costa del Perú (Levett, 2001; Céspedes, 2005). Los roedores se consideran el principal reservorio, pero los perros podrían tener una importancia epidemiológica similar debido a su estrecha asociación con el hombre (Rubel, 1997). Teniendo en cuenta esto, los perros pueden convertirse en centinelas de exposición en humanos de este organismo zoonótico (Moore, 2006).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.1 LUGAR DE ESTUDIO.**

El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología, en la Clínica de Animales Menores y en el Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### **3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO.**

Estudio retrospectivo de tipo caso-control.

#### **3.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA.**

El número de muestras a analizar se halló en base a los resultados de Batista *et al* (2005).

El tamaño muestral ( $n$ ) se halló con la siguiente fórmula (Pértegas, 2002):

$$n = \frac{[z_{1-\alpha/2}\sqrt{2p(1-p)} + z_{1-\beta}\sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Donde  $p = \frac{(p_1 + p_2)}{2}$

Donde:

$p_1$  = Probabilidad de exposición de los casos.

$p_2$  = Probabilidad de exposición entre los controles.

$z_{1-\alpha/2}$  = 1.96 (para una seguridad de un 95% y un poder estadístico del 80%).

$z_{1-\beta}$  = 0.84 (para una seguridad de un 95% y un poder estadístico del 80%).

Número de casos:control = 1:1

El trabajo se realizó sobre dos grupos, un caso (constituido por 54 muestras) y un control (de 394 muestras)

### **3.4 OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.**

Los datos se obtuvieron de las historias clínicas de la Clínica de Animales Menores, de información otorgada por los propietarios de las mascotas y de datos obtenidos del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Se revisaron las historias clínicas de la Clínica de animales menores y los resultados de los análisis realizados en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología (Prueba de Aglutinación Microscópica para Leptospira). Se

analizaron los datos obtenidos entre los años 2002 y 2007 con el objetivo de encontrar animales diagnosticados tanto clínica como serológicamente con leptospirosis para obtener los casos. De los mismos archivos se procesaron datos de animales sanos o con signos clínicos de enfermedad hepato/renal y seronegativos a leptospirosis, para obtener los controles.

### 3.4.1 Definición de caso.

Se consideró como caso a todo canino que llegó a consulta con signos clínicos de enfermedad renal/hepática aguda, y que al descarte de leptospirosis resultó con títulos mayores o iguales a 1:400 en la Prueba de Aglutinación Microscópica para *Leptospira* (L-MAT), prueba recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (World Health Organization, 2003) y que, además, no haya recibido vacuna contra la leptospirosis en los tres meses anteriores a la presentación de la enfermedad. La prueba L-MAT detecta los anticuerpos aglutinantes del suero de los animales a evaluar; además puede identificar el serovar o serogrupo de *Leptospira* comprometida en la infección (Adler, 1982; Céspedes, 2005; Ghneim, 2007).

3.4.1.1. Las serovariedades utilizadas en la prueba L-MAT desarrollada por el Laboratorio de Microbiología son los siguientes:

Serogrupo primario <sup>1</sup>	Serovar	Huésped
Canicola	<i>Canicola</i>	Perro
Grippotyphosa	<i>Grippotyphosa</i>	Ratón de campo
Icterohaemorrhagiae	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Rata
Mini	<i>Georgia</i>	Prociónidos

<sup>1</sup> (Céspedes, 2006)

En algunos casos las muestras dieron como resultado positivo a más de un serovar (siendo esto de baja probabilidad, pues la prueba de

aglutinación es bastante específica) (World Health Organization, 2003). En estos casos se tomó como agente causante al que presentó el mayor título; y al haber más de un serovar con el mismo título, se tomó a todos por agentes causantes por asociación de la enfermedad (Ghneim, 2007). Casos de asociación ocurrieron entre los serovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae* en 2 casos (3.7%).

Se tomó como signos de enfermedad renal/hepática aguda la letargia, depresión, anorexia, vómito y fiebre alta (sobre 39.5°C), así como el dolor paraespinal lumbar (Madigan, *et al*, 1999; Mc Donough, 2001; Greene, 2003; Schaer, 2006).

#### **3.4.2 Definición de control.**

Se consideró como controles a todos los animales que llegaron sanos a la consulta, para revisiones, chequeos o vacunaciones. También se tomaron a los que llegaron para cirugías estéticas, “grooming” y tratamientos pulguicidas. También se tomaron a todos los animales que presentaron signos de enfermedad renal y/o hepática aguda y obtuvieron resultado serológico negativo a la prueba L-MAT para descarte de leptospirosis.

Los animales con títulos bajos (entre 1:50 y 1:200) no se tomaron en cuenta para el presente trabajo, por encontrarse en el título límite entre positivos y negativos (Ghneim, *et al*, 2007). Aunque de manera clínica estos resultados son positivos e indican necesidad de tratamiento, al separarlos podemos garantizar los resultados epidemiológicos del presente trabajo.

### **3.5 ANÁLISIS DE DATOS.**

Los datos recolectados se trasladaron a una tabla en Excel separando los distintos factores relacionados con la presentación de leptospirosis:



- Sexo: Macho<sup>3</sup>.  
Hembra.
  
- Edad: Menor de un año<sup>3</sup>.  
De un año a tres años.  
De cuatro años a siete años.  
De ocho años a más.
  
- Tamaño<sup>1</sup>: Pequeños<sup>3</sup>.  
Medianos.  
Grandes.
  
- Temporada del año: Verano<sup>3</sup>.  
Otoño.  
Invierno.  
Primavera.
  
- Lugar de residencia<sup>2</sup>: Lima Centro<sup>3</sup>.  
Lima Norte.  
Lima Sur.  
Lima Este.  
Lima Oeste.

<sup>1</sup> En los perros de raza indefinida (criollos y cruzados) se tomó en cuenta el peso para su categorización: pequeños (menores de 10 kg), medianos (entre 10 y 20 kg) y grandes (mayores de 20 kg).

<sup>2</sup> Los casos en los cuales el paciente tuvo más de un lugar de residencia se tomó en cuenta aquel donde pasa el mayor tiempo.

<sup>3</sup> Categoría tomada como referencia en los análisis realizados.

Se utilizó la prueba de regresión logística para determinar los odds ratio (OR) ajustados para los factores de riesgo. Para el análisis el nivel de significancia fue de 0.05 (Spiegel, 1991; Daniel, 1996; Velásquez, 2007).

#### IV. RESULTADOS.

El presente estudio realizó dos análisis, en los que se compararon el grupo caso con 54 muestras versus un grupo control de 394 muestras, en busca de factores de riesgo para la presentación de leptospirosis en pacientes caninos de la Clínica de animales menores.

En el grupo de casos los caninos mostraron las siguientes tendencias: el mayor número de animales fueron machos (68.5% - 37/54); el 48.1% (26/54) del total fueron animales de tamaño grande. El 25.9% (14/54) de los animales presentó edades sobre los 8 años, formando el mayor grupo etario. La mayoría de animales del grupo se ubicaron en la zona de Lima centro (47.2% - 25/53); y el 37% (20/54) del total se presentó a evaluación clínica en la temporada de primavera. Observamos en la Tabla 1 que el serovar hallado en mayor proporción fue *canicola*, con 27 muestras (50.0% - 27/54), seguido por el serovar *icterohaemorrhagiae* con 16 muestras de 54 totales (29.6%).

**Tabla 1. TOTAL DE RESULTADOS POSITIVOS EN LAS PRUEBAS DE MICROAGLUTINACIÓN PARA LEPTOSPIRA\* (2002-2007)**

	SEROVARES					Total
	<i>canicola</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	<i>georgia</i>	<i>grippothypposa</i>	<i>can-ict</i> <sup>1</sup>	
<b>TOTAL</b>	27	16	8	1	2	54
<b>PORCENTAJE</b>	50.0	29.6	14.8	1.9	3.7	100.0

\* Serovares evaluados por el Laboratorio de Microbiología y Parasitología FMV - UNMSM.

<sup>1</sup> *canicola* e *icterohaemorrhagiae* presentan el mismo título.

En el grupo control se observó que el 57.4% (226/394) de los animales fueron machos. Este grupo presentó en su mayoría perros de tamaño pequeño (43.1% - 170/394); el 49.5% (195/394) del total con edad menor a un año. El mayor conjunto de animales fueron residentes de la zona Lima centro (57.4% - 226/394). El 38.6% (152/394) de los caninos analizados en este grupo llegaron a la clínica para su evaluación en la temporada de primavera.

**Tabla 2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE ODDS RATIO AJUSTADO ENTRE LOS GRUPOS CASO Y CONTROL**

<b>Variable</b>	<b>OR ajustado</b>	<b>IC 95%</b>
<b>1. SEXO</b>		
MACHO	1	
HEMBRA	0.6	(0.3 – 0.9) <sup>a</sup>
<b>2. TAMAÑO</b>		
PEQUEÑO	1	
MEDIANO	1.0	(0.5 – 2.1)
GRANDE	1.9	(1.1 – 3.3) <sup>b</sup>
<b>3. EDAD</b>		
MENOR 1 Año	1	
1 A 3 Años	5.6	(2.7 – 11.6) <sup>b</sup>
3 A 5 Años	7.4	(3.3 – 16.8) <sup>b</sup>
5 A 8 Años	19.2	(9.1 – 40.4) <sup>b</sup>
MAYOR 8 Años	9.3	(4.5 – 19.4) <sup>b</sup>
<b>4. TEMPORADA</b>		
VERANO	1	
OTOÑO	0.5	(0.2 – 1.1)
INVIERNO	0.8	(0.4 – 1.7)
PRIMAVERA	0.6	(0.3 – 1.1)
<b>5. RESIDENCIA</b>		
NORTE	1	
SUR	0.4	(0.5 – 3.5)
CENTRO	0.2	(0.2 – 1.4)
ESTE	0.2	(0.3 – 1.8)

1: Variable usada como valor de referencia

IC 95%: Intervalo de confianza

OR ajustado: Odds ratio ajustado (análisis multivariado - Regresión logística)

<sup>a</sup>. Factor de protección en análisis multivariado ( $p < 0.05$ )

<sup>b</sup>. Factor de riesgo en análisis multivariado ( $p < 0.05$ )

En la evaluación multivariada realizada a los grupos caso y control, se hallaron asociaciones significativas en la variable sexo, tamaño y edad. En la variable sexo observamos que la característica hembra mostró ser un factor de protección con relación a la característica macho. En cuanto al tamaño, se observó que los perros de tamaño grande mostraron casi dos veces mayor riesgo de presentar la enfermedad en comparación a los perros de raza pequeña (OR= 1.9,  $p < 0.05$ ). En la variable edad tenemos que todos los conjuntos etarios mayores a 1 año mostraron mayor riesgo que los menores a un 1 año. Se observa que el conjunto de animales de edades entre 1 y 3 años presenta cinco veces más riesgo de presentar la enfermedad que los menores a 1 año (OR= 5.6,  $p < 0.05$ ), los perros de 3 a 5 años mostraron siete veces mayor riesgo (OR= 7.4,  $p < 0.05$ ), los animales de 5 a 8 años presentan 19 veces mayor riesgo (OR= 19.2,  $p < 0.05$ ), y los caninos mayores de 8 años presentan nueve veces mas riesgo que los menores de 1 año (OR= 9.3,  $p < 0.05$ ) (Tabla 2).

## V. DISCUSIÓN.

El presente trabajo es un estudio caso-control realizado para evaluar factores de riesgo en la presentación de leptospirosis canina en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se hallaron diferencias significativas en las variables sexo, tamaño y edad. En la variable sexo se observó que la característica hembra es un factor de protección para los perros, mostrando casi la mitad del riesgo de presentar la enfermedad con relación al macho (OR= 0.6,  $p<0.05$ ). Este es un resultado similar al hallado por Ward en EEUU y Canadá entre los años 1970 a 1998, donde la característica macho mostró ser factor de riesgo para la enfermedad (OR= 1.6,  $p<0.05$ ), y entre 1997 y 2002 en EEUU, con igual resultado (OR= 3.2,  $p<0.05$ ) (Ward, *et al*, 2002; Ward, *et al*, 2004).

En la variable tamaño se observó que los perros de raza grande mostraron casi el doble de riesgo de presentar la enfermedad comparado con los perros de raza pequeña (OR= 1.9,  $p<0.05$ ). No encontramos datos comparativos, dado que los distintos investigadores categorizaron esta variable de distinta manera (por razas, por perros de raza vs cruzados, etc.).

También hallaron diferencias significativas en la variable edad. En el análisis de la variable se pudo observar que todos los grupos etarios de

perros mayores de 1 año presentan mayor riesgo de presentar la enfermedad comparado con los perros menores a un año (los animales de edades entre 1 y 3 años presenta cuatro veces más riesgo, los perros de 3 a 5 años mostraron 6 veces mayor riesgo, los animales de 5 a 8 años presentan 10 veces mayor riesgo, y los caninos mayores de 8 años presentan 8 veces mas riesgo que los menores de 1 año).

Resultados similares encontramos en el trabajo de Batista en Brasil (2005), donde halló el doble de riesgo en los perros mayores de 1 año comparado a los menores de 1 año (OR= 2.68,  $p<0.05$ ). Al separar por conjuntos (grupos etarios) nuestros resultados encontramos la mayor diferencia significativa en los perros ubicados en el grupo etario de 3 a 5 años (5 veces mayor riesgo), en el grupo 5 a 8 años (10 veces más riesgo) y en el grupo de animales mayores a 8 años (8 veces mayor riesgo). Ward encontró en EEUU resultados similares en el año 2004, donde halló cinco veces mayor riesgo en los perros de 4 a 6.9 años en comparación con los menores de 1 año (OR= 5.72,  $p<0.05$ ), y en el 2002 encontró, en EEUU y Canadá, un mayor riesgo en los conjuntos de perros de edades entre 4 y 6.9 años (OR= 1.73,  $p<0.05$ ) y entre 7 y 8.9 años (OR= 1.44,  $p<0.05$ ) con relación a los menores de 1 año (Ward, *et al*, 2002; Ward, *et al*, 2004; Batista, *et al*, 2005).

Los resultados hallados en esta variable se ajustan al hecho de que es más probable que un perro adulto se infecte con esta bacteria, al tener mas contacto con la calle que un perro menor a un año, que por lo general no sale de su casa. Si a esto le sumamos el factor de riesgo perros de raza grande, y el factor de riesgo sexo macho, encontraríamos la descripción perfecta de los animales que comúnmente vemos en las calles, sean perros sin dueño o con dueño, mascotas que se abandonan a la intemperie la mayor parte del día, sea por costumbre del animal o por descuido del propietario. En comparación, son los perros de raza pequeña y mediana los que se tienen mas en casa, son perros falderos o toys que se cuidan con

más esmero, al igual que las perritas, que se guardan con más cuidado por el riesgo que representa el tenerlas en la calle en la época de celo.

Los perros al salir a la calle regularmente están en contacto con basura, secreciones de otros animales, charcos de agua y otros factores que pudieran ser determinantes para la infección y el desarrollo de la enfermedad.

Ghneim encontró en EEUU 16 veces mayor riesgo de presentación de la enfermedad en perros menores a 1 año con relación a perros de entre 1 a 3 años de edad (OR= 16.50,  $p < 0.05$ ) (Ghneim, 2007). Esto es algo que se observa en lugares donde se confinan a las mascotas en criaderos, donde la transmisión se da de madre/padre a cría, y donde vemos más involucrado al serovar *canicola*. En Lima la crianza de los perros no se da en criaderos, y aunque si hay casos de propietarios con varios perros, generalmente no están aislados y salen bastante a la calle.

Una de las variables que más interesaba observar era la temporada del año de presentación de la enfermedad. El no hallar diferencia significativa entre las diferentes temporadas del año puede ser resultado de la alta humedad que hay en Lima durante todo el año, además de la permanente presencia de roedores y animales callejeros en casi toda la capital. Al mismo tiempo se suman la deficiente recolección y eliminación de basura en diferentes distritos, la falta de drenaje de aguas empozadas y el riesgo por inundación con aguas sin tratar de parques y bermas centrales, presencia de canales y su poco cuidado. Diferentes estudios demuestran la presencia de leptospira en diferentes lugares del mundo, de diversos climas y en diferentes épocas del año (Levett, 2001).

El hallar que los factores de riesgo completan las características de un perro que comúnmente hallamos en la calle indicaría la necesidad de ampliar el número de variables para encontrar aquellas que podrían ser riesgo en la presentación de esta enfermedad en el medio ambiente. Parte

del proyecto era analizar variables externas a las mascotas como presencia de lluvias, charcos de agua cerca de la vivienda, presencia de basura en la calle, convivencia con otras especies animales, presencia de roedores, salida a la calle con correa o con dueño, perros callejeros y la raza de las mascotas, variables desarrolladas por diferentes investigadores como Vieira o Ward en trabajos basados en factores de riesgo medioambientales (Ward, 2002; Vieira, *et al*, 2003; Ward, *et al*, 2004).

Fue la poca información hallada en las historias clínicas de los pacientes (que en algunos casos era mínima y en otras errada), además de la poca probabilidad de hallar veracidad en algunas respuestas (sobre todo en preguntas sobre presencia de roedores y basura), lo que no permitió ampliar el número de variables y realizar un análisis mas profundo. Los resultados hallados en el estudio no son diferentes a los hallados en otros trabajos salvo algunas diferencias, teniendo en cuenta que los resultados pueden variar inclusive dentro de un mismo país. Batista no encontró como factor de riesgo al sexo (halló a la edad y la raza como factores de riesgo), Ward a la raza (si a la edad y el sexo) y Ghneim al lugar, la raza y el sexo (mas si a la edad) (Ward, *et al*, 2004; Batista, *et al*, 2005; Ghneim, *et al*, 2007).

Otro de los aspectos a evaluar de estos resultados es la metodología de realización de los análisis de laboratorio. Al llegar a consulta pacientes con problemas hepatorenales agudos, se realiza la evaluación clínica e inmediatamente se envía las muestras para descarte de leptospirosis, sin tomar en cuenta que es muy probable que los resultados sean negativos, al no haber una adecuada respuesta humoral al inicio de la infección. Asociado a esto, se observó en las historias del laboratorio que no se realizan muestras pareadas (un segundo análisis a las 3 semanas del primero) a los pacientes sospechosos de leptospirosis con resultado negativo, menos aún si los resultados son positivos con título bajo (1:100). El no hallar muestras pareadas en los pacientes con resultado negativo hace dudar de la



veracidad de estos resultados, lo que nos impide un adecuado análisis (Levett, 2001; Mc Donough, 2001).

Otro aspecto que se hace notar en las historias clínicas es el hecho de que se inicia el tratamiento contra leptospirosis inclusive antes de tener un resultado positivo a esta enfermedad. Aunque clínicamente esto podría ser correcto, es indispensable un diagnóstico de enfermedad, por lo que se debería parear las muestras de manera obligatoria y de ser posible estandarizar otra prueba para el diagnóstico de esta enfermedad. Iniciar el tratamiento en una supuesta fase aguda también es una causante de falsos negativos en el test de microaglutinación para leptospira, puesto que al hacerlo baja la probabilidad de establecer un correcto diagnóstico, ya que el tratamiento antimicrobiano afecta adversamente el desarrollo de los títulos de anticuerpos (Levett, 2001; Mc Donough, 2001; Greene, 2003; Céspedes, 2005; Quinn, *et al*, 2005; Schaer, 2006).

## **VI. CONCLUSIONES.**

1. El sexo, el tamaño y la edad son factores de riesgo en la presentación de leptospirosis en los perros pacientes de la Clínica de animales menores de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## **VII. RECOMENDACIONES.**

1. Es de suma importancia evaluar los factores medioambientales que sean riesgo para presentar la enfermedad, ya que nos permitirá desarrollar un adecuado plan de prevención y control. Por ello se debe desarrollar un trabajo complementario a este dentro de la brevedad posible, en el que se observen variables como presencia de lluvias y nivel de estas, charcos de agua cerca de la vivienda, presencia de basura en la calle, convivencia con otras especies animales, presencia de roedores, salida a la calle con correa o con dueño, perros callejeros y la raza de las mascotas.

2. Desarrollar un método que permita un adecuado y correcto llenado de las historias clínicas en la Clínica de menores por parte de los clínicos y los residentes. Es común observar historias con datos incompletos, anamnesis demasiado simple y diagnóstico sin pruebas de laboratorio que lo confirmen. Un adecuado registro de los datos permitiría un correcto tratamiento, y, epidemiológicamente, una base de datos extraordinaria para futuros estudios de diferentes enfermedades en caninos.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Adler, B. ; Chappel, R. J. ; Faine, S. 1982. The sensitivities of different immunoassays for detecting leptospiral antigen. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]. 252 (3): 405-413. Disponible: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (01/10/2007)
2. Aiello, S.; Mays, A. 1998. The Merck Veterinary Manual. Eighth edition. Philadelphia: Merck & Co. Inc. p. 474-477.
3. Batista, C.; Alves, C.; Azevedo, S.; Vasconcellos, S.; Morais, Z.; Clementino, I.; Alves, F.; Lima, F.; Araújo Neto, J. 2005. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. Arq Bras Med Vet Zootec. 57 (2): 179 - 185. Disponible: <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v57s2/28320.pdf> (16/10/2007)
4. Boursaux-Eude, C. 2006. *Leptospira* Molecular Genetics Server. Unité de Bactériologie Moléculaire et Médicale, Institut Pasteur. Disponible: <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Leptospira.html> (18/10/2007)

5. Brooks, G.; Butel, J.; Morse, S. 1999. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 16<sup>va</sup> ed. Ed El Manual Moderno SA de CV. México. 365 – 367 pp.
6. Céspedes, M. 2005. Leptospirosis: Enfermedad zoonótica reemergente. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 22 (4): 290 - 301. Disponible: <http://www.scielo.org.pe> (03/09/2007)
7. Céspedes. M.; Balda, L.; Gonzáles, D.; Tapia, R. 2006. Situación de la leptospirosis en el Perú 1994 – 2004. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 23 (1): 56 – 65. Disponible: <http://www.scielo.org.pe> (17/09/2007)
8. Daniel, W. 1996. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Ed Limusa SA. de CV. Grupo Noriega Editores. México DF. México. pp. 638 – 681.
9. Ettinger, S. 1992. Tratado de medicina interna veterinaria. Enfermedades del perro y el gato. Tomo 1. 3<sup>era</sup> ed. Ed. Interamericana. Buenos Aires, Argentina. 288 - 289 pp.
10. Everard, J. 1996. Leptospirosis. *In*: Cox, F. The Wellcome Trust illustrated history of tropical diseases. The Wellcome Trust, London, UK. 111 - 119, 416 - 418.
11. Ghneim, G.; Viers, J.; Chomel, B.; Kass, P.; Descollonges, D.; Johnson, M. 2007. Use a case-control study and geographic information system to determine environmental and demographic risk factors for canine leptospirosis. Vet Res. 38: 37-50. Disponible: <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2006043> (18/07/2007)

12. Greene, C. 2003. Canine leptospirosis a re-emerging disease. World Congress Proceedings. World Small Animal Veterinary Association. Disponible:  
<http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2003&PID=6545&O=Generic> (29/08/2007)
13. Herrera, B. 2002. Diagnóstico de Laboratorio. En: Guía de Control y Manejo de la Leptospirosis. OPS/HCP/HCV/URU.ZOO. Uruguay. Disponible:  
<http://www.bvsops.org.uy/pdf/leptos.pdf> (07/09/2008)
14. Ido, Y.; Hoki, R.; Ito, H.; Wani, H. 1917. The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, the causative agent of Weil's disease (Spirocheatosis icterohaemorrhagica). First Medical Clinic. Imperial University in Kyushu, Fukuoka, Japan. Disponible: <http://www.jem.org> (30/09/2007)
15. Kaufmann, A.; Sulzer, K.; Steigerwalt, A.; Rogers, F.; Brenner, D. 2006. Emerging Bacterial and Mycotic Diseases. Branch Division of Bacterial and Mycotic Diseases. National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia. USA. Disponible:  
<http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Strains.html>  
(18/10/2007)
16. Levett, P. 2001. Leptospirosis. Clinical Microbiology Reviews. American Society for Microbiology. 14 (2): 296-326. Disponible : <http://cmr.asm.org> (30/09/2007)
17. Lyford Pike, V.; Herrera, B. 2002. Medidas de prevención, protección y control para los animales. En: Guía de Control y Manejo de la Leptospirosis. OPS/HCP/HCV/URU.ZOO. Uruguay. Disponible:  
<http://www.bvsops.org.uy/pdf/leptos.pdf> (07/09/2008)

18. Madigan, M. ; Martinko, J. ; Parker, J. 1999. Brock, Biología de los microorganismos. 8<sup>va</sup> ed revisada. Prentice Hall Iberia. Madrid, España. 686 – 689 pp.
19. Mc Donough, P. 2001. Leptospirosis en caninos – estado actual. En: Carmichael, L. Recent Advances in Canine Infectious Diseases. Publisher International Veterinary Information Service. Ithaca, New York, USA. Disponible: [www.ivis.org](http://www.ivis.org) (28/08/2007)
20. Moore, G.; Guptill, L.; Glickman, N.; Caldanaro, R.; Aucoin, D.; Glickman, L. 2006. Canine leptospirosis, United States, 2002 – 2004. Emerging Infectious Diseases. 12 (3). Disponible: [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid) (29/08/2007)
21. Noguchi, H. 1917. *Spirocheta icterhaemorrhagiae* in America wild rats and its relation to the Japanese and European strains. The Rockefeller Institute for Medical Research. J Exp Med. 25: 755 - 763. Disponible: <http://www.jem.org> (03/10/2007)
22. Pértegas, S.; Pita, S. 2002. Cálculo del tamaño muestral en estudios de casos y controles. En: Metodología de la Investigación. Cad Aten Primaria. 9: 148-150. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. La Coruña, España. Disponible: [http://www.fisterra.com/mbe/investiga/muestra\\_casos/muestra\\_casos2.pdf](http://www.fisterra.com/mbe/investiga/muestra_casos/muestra_casos2.pdf) (19/08/2007)
23. Prescott, L.; Harley, J.; Klein, D. 1999. Microbiología. Ed. Mc Graw – Hill – Interamericana de España, SAU. Madrid, España. 466 – 470 pp.

24. Quinn, P.; Markey, B.; Carter, M.; Donnelly, W.; Leonard, F. 2005. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. Ed Acribia. Zaragoza, España. 213 – 217 pp.
25. Rubel, D.; Seijo, A.; Cernigoi, B.; Viale, A.; Wisnivesky-Colli, C. 1997. *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. Rev Panam Salud Pública. 2 (2): 102 – 105. Disponible: [www.scielosp.org/pdf/rpsp/v2n2/v2n2a2.pdf](http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v2n2/v2n2a2.pdf) (18/07/2007)
26. Schaer, M. 2006. Medicina clínica del perro y el gato. Ed Masson. Barcelona, España. 73 – 74, 201 pp.
27. Spiegel, M. 1991. Estadística. 2<sup>da</sup> ed. Ed. Mc Graw Hill – Interamericana de México SA. de CV. México. 258 – 285 pp.
28. Trueba, G.; Zapata, S.; Madrid, K.; Culle, P.; Haake, D. 2004. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. International Microbiology. 7: 35 – 40.
29. Velásquez, A.; Rey, N. 2007. Metodología de la investigación científica. Editorial San Marcos EIRL. Lima, Perú. 215 – 218 pp.
30. Vieira, A.; Botazzo, Á.; Claret de Oliveira, R.; Gibson, F.; Eckehardt, E.; Lemos, R.; de Freitas, J. 2003. Fatores de risco associados à leptospirose em cães do município de Londrina – PR. Ciências Agrárias 24 (1): 27 – 34. Jan./Jun. 2003. Brazil. Disponible: [http://www.uel.br/proppg/semina/pdf/semina\\_24\\_1\\_19\\_15.pdf](http://www.uel.br/proppg/semina/pdf/semina_24_1_19_15.pdf) (29/08/2007)



31. Ward, M. 2002. Seasonality of canine leptospirosis in the United States and Canada and its association with rainfall. Preventive Veterinary Medicine. 56: 203 – 213. EEUU. Disponible: <http://www.ingentaconnect.com/content/els/01675877/2002/0000056/00000003/art00183> (15/10/2007)
32. Ward, M.; Glickman, L.; Guptill, L. 2002. Prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970 – 1998). JAVMA 220 (1) 53 - 58. January 1, 2002. EEUU. Disponible: <http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2002.220.53?journalCode=javma> (15/10/2007)
33. Ward, M.; Guptill, L.; Prahl, A.; Wu, C. 2004. Serovar-specific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 cases (1997-2002). JAVMA 224 (12): 1958 – 1963. June 15, 2004. EEUU. Disponible: <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.2004.224.1958> (15/10/2007)
34. Ward, M.; Guptill, L.; Wu, C. 2004. Evaluation of environmental risk factors for leptospirosis in dogs: 36 cases (1997 – 2002). JAVMA 225 (1): 72 – 77. July, 1. 2004. EEUU. Disponible: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=15239476&dopt=AbstractPlus](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=15239476&dopt=AbstractPlus) (15/10/2007)
35. World Health Organization. 2003. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Disponible: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002\\_23.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002_23.pdf) (01/04/2008)

## APÉNDICE

Apéndice 1.

**SEROGRUPOS DE *Leptospira interrogans***

Número	Serogrupo
1	Australis
2	Autumnalis
3	Ballum
4	Bataviae
5	Canicola
6	Celledoni
7	Cynopteri
8	Djasiman
9	Grippotyphosa
10	Hebdomadis
11	Icterohaemorrhagiae
12	Javanica
13	Louisiana
14	Lyme
15	Manhao
16	Mini
17	Panama
18	Pomona
19	Pyrogenes
20	Ranarum
21	Sarmin
22	Sejroe
23	Shermani
24	Tarassovi
25	New or undesignated

Tomado de Boursaux-Eude, 2006. *Leptospira* Molecular Genetics Server.

Apéndice 2.

**SEROGRUPOS DE *Leptospira biflexa***

Número	Serogrupo
26	Andamana
27	Codice
28	Semaranga
29	New or undesignated

Tomado de Boursaux-Eude, 2006. *Leptospira* Molecular Genetics Server.

Apéndice 3.

**GENOMOSPECIES DE *Leptospira* sp**

Número	Género	Genomospecies
1	<i>Leptospira</i>	<i>interrogans</i>
2	<i>Leptospira</i>	<i>borgpetersenii</i>
3	<i>Leptospira</i>	<i>inadai</i>
4	<i>Leptospira</i>	<i>noguchii</i>
5	<i>Leptospira</i>	<i>santarosai</i>
6	<i>Leptospira</i>	<i>weilii</i>
7	<i>Leptospira</i>	<i>kirshneri</i>
8	<i>Leptospira</i>	<i>biflexa</i>
9	<i>Leptospira</i>	<i>meyeri</i>
10	<i>Leptospira</i>	<i>wolbachii</i>
11	<i>Turneria</i>	<i>parva</i> (propuesto)
12	<i>Leptonema</i>	<i>illini</i>
13	<i>Leptospira</i>	genomospecies 1
14	<i>Leptospira</i>	genomospecies 2
15	<i>Leptospira</i>	genomospecies 3
16	<i>Leptospira</i>	genomospecies 4
17	<i>Leptospira</i>	genomospecies 5

Tomado de Boursaux-Eude, 2006. *Leptospira* Molecular Genetics Server.

Apéndice 4.

**GENOMOESPECIES DE *Leptospira sp* Y DISTRIBUCIÓN EN SEROGRUPOS<sup>a</sup>**

<b>Genomoespecies</b>	<b>Serogrupos<sup>b</sup></b>
<b><i>L. interrogans</i></b>	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Louisiana, Mini, Sarmin
<b><i>L. noguchii</i></b>	Panama, Autumnalis, Pyrogenes, Louisiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona
<b><i>L. santarosai</i></b>	Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Javanica, Sarmin, Cynopteri
<b><i>L. meyeri</i></b>	Ranarum, Semarang, Sejroe, Mini, Javanica
<b><i>L. wolbachii<sup>c</sup></i></b>	Codice
<b><i>L. biflexa<sup>c</sup></i></b>	Semarang, Andamana
<b><i>L. fainei</i></b>	Hurstbridge
<b><i>L. borgpetersenii</i></b>	Javanica, Ballum, Hebdomadis, Sejroe, Tarassovi, Mini, Celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis
<b><i>L. kirschneri</i></b>	Grippotyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bataviae
<b><i>L. weilii</i></b>	Celledoni, Icterohaemorrhagiae, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi, Hebdomadis, Pyrogenes, Manhao, Sejroe
<b><i>L. inadai</i></b>	Lyme, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica
<b><i>L. parva<sup>c</sup></i></b>	Turneria
<b><i>L. alexanderi</i></b>	Manhao, Hebdomadis, Javanica, Mini

<sup>a</sup> Tomado de Levett, 2001.

<sup>b</sup> Los serogrupos Semarang, Andamana, Codice, y Turneria contienen leptospiaras no patogénicas.

<sup>c</sup> Actualmente solo se conocen cepas no patógenas de esta genomoespecie.

Apéndice 5.

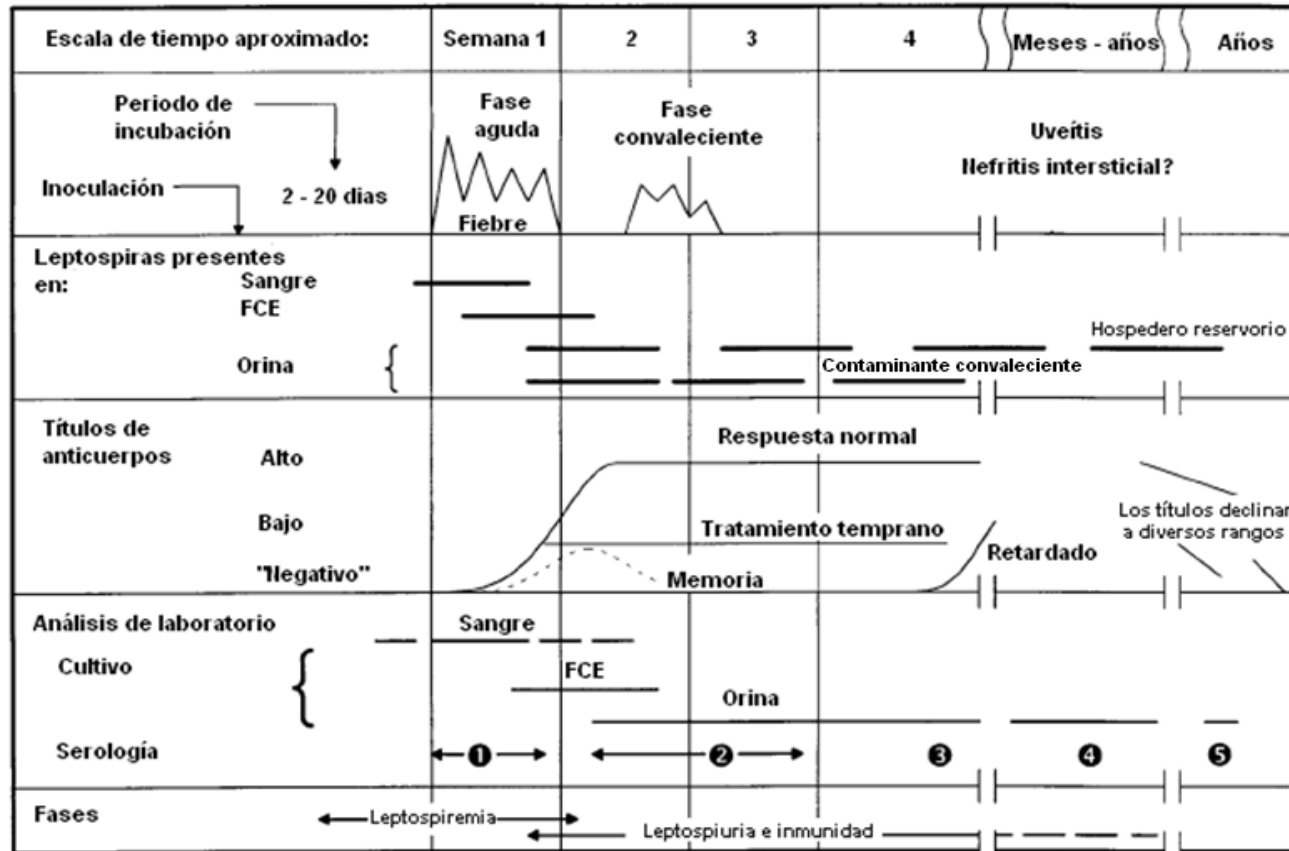
**SEROGRUPOS ASOCIADOS CON GENOMOESPECIES DE  
*Leptospira sp*<sup>a</sup>**

<b>Serogrupo</b>	<b>Genomoespecies</b>
<b>Andamana</b>	<i>L. biflexa</i>
<b>Australis</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. kirschneri</i> , <i>L. borgpetersenii</i>
<b>Autumnalis</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i>
<b>Ballum</b>	<i>L. borgpetersenii</i>
<b>Bataviae</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i>
<b>Canicola</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. kirschneri</i>
<b>Celledoni</b>	<i>L. weilii</i> , <i>L. borgpetersenii</i>
<b>Codice</b>	<i>L. wolbachii</i>
<b>Cynopteri</b>	<i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>
<b>Djasiman</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. kirschneri</i>
<b>Grippotyphosa</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>
<b>Hebdomadis</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i> , <i>L. alexanderi</i>
<b>Hurstbridge</b>	<i>L. fainei</i>
<b>Icterohaemorrhagiae</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. kirschneri</i> , <i>L. inadai</i>
<b>Javanica</b>	<i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyeri</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. alexanderi</i>
<b>Louisiana</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i>
<b>Lyme</b>	<i>L. inadai</i>
<b>Manhao</b>	<i>L. weilii</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. alexanderi</i>
<b>Mini</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyeri</i> , <i>L. alexanderi</i>
<b>Panama</b>	<i>L. noguchii</i> , <i>L. inadai</i>
<b>Pomona</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>
<b>Pyrogenes</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i>
<b>Ranarum</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. meyeri</i>
<b>Sarmin</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i>
<b>Sejroe</b>	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyeri</i>
<b>Semaranga</b>	<i>L. meyeri</i> , <i>L. biflexa</i>
<b>Shermani</b>	<i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. inadai</i>
<b>Tarassovi</b>	<i>L. noguchii</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. inadai</i>

<sup>a</sup> Tomado de Levett, 2001.

Apéndice 6.

**FISIOPATOLOGÍA DE LA LEPTOSPIROSIS EN CANINOS**



Naturaleza bifásica de la leptospirosis y exploración a diferentes estadios de la enfermedad. En las muestras para serología los especímenes 1 y 2 son de la fase aguda de la enfermedad, 3 es un ejemplo de la fase convaleciente el cual puede facilitar la detección de la respuesta inmune retardada, y 4 y 5 son los siguientes ejemplos que pueden ofrecer información epidemiológica, así como el serogrupo infeccioso presuntivo. Tomado de Levett, 2001.