



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

Detección de anticuerpos contra *Leptospira* en lobos marinos (*Arctocephalus galapagoensis* y *Zalophus californianus wollebaeki*) de las Islas Galápagos, Ecuador.

Tesis presentada ante la División de Estudios Profesionales de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia para la obtención del título de

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

por

TANIA SIMENTAL RIVERA

ASESORES: DR. ALEJANDRO DE LA PEÑA MOCTEZUMA
DRA. DULCE MARÍA BROUSSET HERNÁNDEZ JÁUREGUI



MÉXICO, D.F., 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICADA A MIS PADRES

Agradecimiento enorme hacia mis asesores, por su tiempo y paciencia; a todos los integrantes del GrILLeP por su apoyo y convivencia; a todo el Departamento de Microbiología e Inmunología de la UNAM por el conocimiento adquirido durante mi estancia; a las secretarías por su valiosa ayuda; a todas las instituciones involucradas en este trabajo; a mi familia y *amiguis* por sus voces de aliento y a las crías de lobo marino de las Islas Galápagos en Ecuador, las protagonistas de esta historia.

Estimado lector:

Estas líneas tienen el fin de compartir con la comunidad el contenido de la presente tesis. Partiendo de las definiciones de tesis : “Trabajo de investigación que se presenta para la obtención de un grado universitario”; la de Veterinaria: “Ciencia y arte de curar las enfermedades de los animales”, y la de Zootecnia: “Ciencia de la producción y del aprovechamiento de los animales domésticos”. Se hace una atenta invitación a introducirse en el presente trabajo de investigación.

A lo largo de esta tesis se tratarán aspectos relacionados con la medicina veterinaria, por lo que se encontrarán términos técnicos y científicos como leptospirosis, patogenia, serovariedad, seroprevalencia y otros que tal vez sean desconocidos para muchas personas.

Sin embargo, se tiene la certeza de que los argumentos aquí asentados, coadyuvarán al enriquecimiento del acervo que en la materia se ha generado. Se espera sea de utilidad para personas preocupadas y ocupadas en estudiar la vida de los lobos marinos y que contribuya a la investigación relacionada con las Islas Galápagos, Ecuador, iniciada por Charles Darwin, creador de la doctrina evolucionista denominada darwinismo y que dio a conocer en su obra principal: “El origen de las especies por medio de la selección natural”.

Se invocan los objetivos de muchas organizaciones a la buena conservación de la ecología, lo anterior, con el firme propósito de sensibilizar nuestra mentalidad hacia una cultura de convivencia entre humanos, animales, otros seres vivos y el ambiente.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ISLAS GALÁPAGOS, ECUADOR	3
2.2. EL LOBO MARINO DE LAS ISLAS GALÁPAGOS, ECUADOR	4
2.2.1. <i>Arctocephalus galapagoensis</i>	5
2.2.2. <i>Zalophus californianus wollebaeki</i>	6
2.3. LEPTOSPIROSIS	8
2.3.1. Epidemiología y signos clínicos.....	8
2.3.2. Transmisión	10
2.3.3. Patogenia	10
2.3.4. Diagnóstico	11
2.3.5. Leptospirosis en lobos marinos	13
2.4. JUSTIFICACIÓN	14
2.5. HIPÓTESIS	15
2.6. OBJETIVO	16
3. MATERIAL Y MÉTODOS	16
4. RESULTADOS	19
4.1. Seroprevalencia en <i>Arctocephalus galapagoensis</i>	20
4.2. Seroprevalencia en <i>Zalophus californianus wollebaeki</i>	20
5. DISCUSIÓN.....	23
5.1 CONCLUSIÓN	25
6. LITERATURA CITADA	27
7. CUADROS.....	34

1. RESUMEN

SIMENTAL RIVERA, TANIA. Detección de anticuerpos contra *Leptospira* en lobos marinos (*Arctocephalus galapagoensis* y *Zalophus californianus wollebaeki*) de las Islas Galápagos, Ecuador. (bajo la dirección de : Alejandro de la Peña Moctezuma y Dulce María Brousset Hernández Jáuregui)

En el presente trabajo, se examinaron 147 muestras de suero pertenecientes a crías de lobos marinos de dos a tres meses de edad, de las especies *Arctocephalus galapagoensis* (22) y *Zalophus californianus wollebaeki* (125) obtenidas durante los años 2002 y 2003 de las diferentes loberas de las Islas Galápagos, Ecuador, con la finalidad de detectar anticuerpos contra diversas serovariedades de la espiroqueta *Leptospira* spp., mediante la prueba inmunológica de Aglutinación Microscópica (AM). La prueba de AM se llevó a cabo en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. En forma global, la serovariedad Australis fue la más detectada con 22 muestras positivas (14.9 %). Se detectaron títulos que oscilaron desde 1:20 hasta 1:160, con un porcentaje de 45.45% de muestras positivas de la especie *A. galapagoensis*, en donde las serovariedades Australis, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi fueron las más detectadas. Un 57.6% de muestras de la especie *Z. c. wollebaeki* resultaron positivas con títulos desde 1:20 hasta 1:320, en donde las serovariedades Australis, Patoc y Hebdomadis fueron las más comunes.

2. INTRODUCCIÓN

Las Islas Galápagos, Ecuador forman parte importante de la gran biodiversidad de este planeta, la cual se va agotando día con día debido a la intervención y expansión desordenada del hombre. En este archipiélago habita una gran variedad de especies tanto vegetales como animales, la mayoría de las especies silvestres son endémicas y únicas de estas islas, es por esto que son objeto de muchos programas de conservación. Dentro de las especies animales se pueden encontrar: garrapatas, insectos, iguanas, tortugas gigantes, delfines, pinzones, orcas y ballenas.¹ Incluidas en la lista de mamíferos marinos endémicos que habitan este archipiélago están dos especies de lobos marinos, la *Arctocephalus galapagoensis* y la *Zalophus californianus wollebaeki*.

La existencia de estos mamíferos marinos contribuye a la estabilidad de este ecosistema, por tal motivo es muy importante conocer los problemas que afectan a estos animales, en particular, aquellos que se relacionan con las enfermedades infecciosas. En la actualidad, la información relacionada con este tema es escasa, aunque si se tienen reportes de brotes de distintas enfermedades como la leptospirosis en lobos marinos de otros sitios, como los de las costas de California (EUA).²

Los lobos marinos, al igual que las demás especies, están expuestos a múltiples agresiones del medio ambiente que afectan su bienestar, éstas, pueden ser causadas por varios factores como: cambios climáticos, contaminación de su hábitat, cacería inmoderada o enfermedades. En el caso de las enfermedades, éstas pueden ser causadas por distintos agentes como: virus, hongos, parásitos y bacterias.^{3,4,5,6,7,8.}

En el género *Arctocephalus* se han reportado varias enfermedades como: tuberculosis y neumonías causadas por *Streptococcus* spp.^{9,10}; en el género *Zalophus* también se tienen reportes de enfermedades bacterianas, las más importantes, en el lobo marino de California (*Z. californianus californianus*) son la clostridiasis, salmonelosis, erisipelosis y la leptospirosis.^{3, 4} En el Golfo de California (México) se han realizado varios estudios serológicos, de los cuales se han obtenido registros de anticuerpos contra distintas serovariedades de *Leptospira*. Las

serovariedades más comunes reportadas son: Ballum, Cynopteri, Grippytyphosa, Hardjo Hebdomadis y Patoc,^{11, 12,13} La leptospirosis es una enfermedad que puede causar abortos, ictericia, fiebres intermitentes o hasta la muerte. Afecta prácticamente a cualquier mamífero, incluyendo al hombre lo que la convierte en una zoonosis, de ahí otro factor que justifica su estudio.

2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ISLAS GALÁPAGOS, ECUADOR

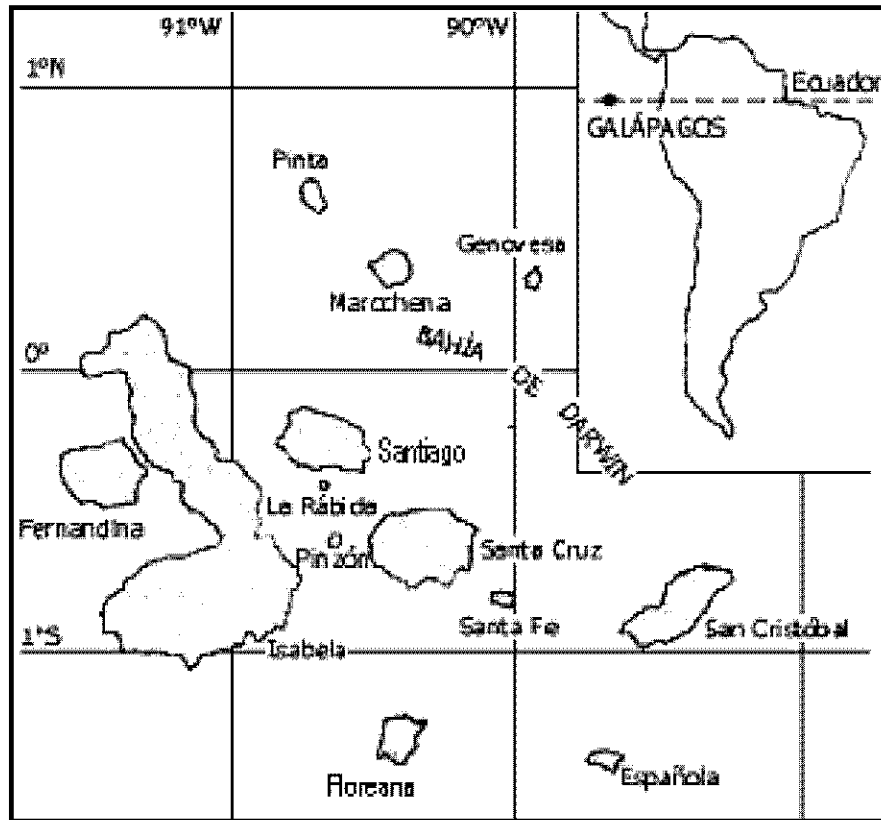
El archipiélago de Galápagos comprende 13 islas mayores de más de 10 kms², seis islas menores, más de 40 islotes con nombres oficiales y otros pequeños roqueríos e islotes que no llevan nombre. Este conjunto de islas, islotes y roqueríos cruza el ecuador a los 90° del meridiano oeste, teniendo una distancia de 960 km de separación hacia el este, con respecto a Ecuador continental, que es la tierra más cercana a las islas¹⁴ (Figura 1 y cuadro 1, pág. 34).

La singularidad de este archipiélago se debe precisamente a su posición aislada, ya que surgieron de profundos fuegos volcánicos producidos bajo el Océano Pacífico.¹³ Las primeras Islas de Galápagos se formaron hace diez millones de años aproximadamente.¹⁵

En 1959, el gobierno ecuatoriano declaró todas las Islas Galápagos Parque Nacional, con excepción de las áreas ya colonizadas que son las islas: Isabela, Floreana, Santa Cruz y San Cristóbal. Los habitantes de este archipiélago, que suman alrededor de 12,000 personas (censo 1990) viven gracias a una combinación de turismo, pesca, agricultura y cría de ganado (bovino, equino, porcino y caprino). La capital de la Provincia de Galápagos es Puerto Baquerizo Moreno en la Isla San Cristóbal.¹⁴

Además de las especies de ganado que se producen en este archipiélago, en las zonas con población humana conviven también una serie de especies que fueron introducidas a las islas como por ejemplo el perro doméstico (*Canis familiaris*), gato doméstico (*Felis catus*), ratón

Figura 1. MAPA DE ISLAS GALÁPAGOS, ECUADOR



Modificado de: Sarukhán J. ¹⁷

(*Mus musculus*) y rata negra (*Rattus rattus*) entre muchas otras. (Cuadro 2, pág. 35) ¹⁶

En 1979 fueron declaradas Patrimonio Natural de la Humanidad por los estados miembros de la United Nations Educational Scientific and Cultural Organization (UNESCO). Esta designación reconoce a las Islas Galápagos como una de las áreas naturales más significativas del mundo y destaca la necesidad de conservarlas como una parte única de la herencia natural de la humanidad. ¹⁴

2.2. EL LOBO MARINO DE LAS ISLAS GALÁPAGOS, ECUADOR.

El lobo marino es un mamífero que pertenece al orden Carnívora, suborden Pinnipedia, familia Otariidae ³. La familia Otariidae agrupa varios géneros de lobos marinos, los géneros *Arctocephalus* y *Zalophus* forman parte de ésta. ¹

El macho es muy dominante, forma un harem de hembras durante la época de reproducción, el cual defiende de los demás machos. Las hembras son muy agresivas cuando defienden a sus cachorros y forman guarderías para las crías, que a menudo son vigiladas por una sola hembra.¹⁴ Estos animales se alimentan de peces como el arenque, crustáceos y pulpos. Su comportamiento es gregario y salen fuera del mar en la época de reproducción y crianza.

El hábitat de los lobos marinos ha sido alterado debido a la introducción de especies ajenas a las islas, además de diversos contaminantes, como desechos industriales.

La alteración del hábitat de los lobos marinos afecta indirectamente a los lobos marinos, pero también son afectados directamente debido a heridas hechas por aspas de lanchas o barcos y redes de pescadores en las cuales se quedan atrapados.¹

2.2.1. *Arctocephalus galapagoensis*

Dentro del género *Arctocephalus* existen ocho especies reconocidas: *A. australis*, *A. forsteri*, *A. galapagoensis*, *A. gazella*, *A. philippii*, *A. pusillus*, *A. townsendii* y *A. tropicalis*.¹⁸

Al *A. galapagoensis* también se le conoce como “lobo peletero”, tiene su pelaje grueso y muy espeso, debido a que tiene dos capas: una exterior de pelo largo y una interior de pelo corto y denso (Figura 2). Gracias a las características de su pelaje, que lo convierten en un magnífico aislante, esta especie puede vivir en aguas casi congeladas. Su pelaje era muy cotizado por los comerciantes de pieles de vestir y durante el siglo XIX, decenas de miles fueron cazados hasta casi ocasionar su extinción.¹⁴

La investigación más reciente sobre la población de esta especie tuvo lugar en 1978 y se estimó en 40,000 individuos en diferentes islas de Galápagos. El fenómeno de “El Niño” redujo la población a la mitad entre 1982 a 1983, cuando todos los individuos menores de 4 años, el 30% de las hembras y prácticamente el 100% de los machos murieron, debido a la disminución del número de peces y calamares, que son su principal alimento. Esta especie se encuentra

clasificada como VU (vulnerable) en la lista de la "International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources – IUCN".^{18, 19, 20}

Los machos miden 1.54 m y pesan alrededor de 64 kg, las hembras miden 1.20 m y pesan alrededor de 27 kg. Es el más pequeño y el menos dimórfico sexualmente de los otarios. Su frente es de perfil plano y su hocico muy corto con un morro irrelevante. Sus dientes postcaninos son pequeños y de una sola cúspide.

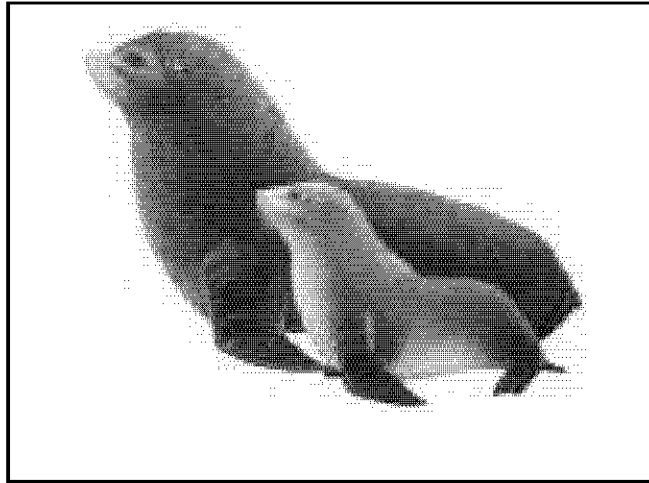
La población de este género se encuentra distribuida en las islas: Baltra, Isabela, oeste de Fernandina, norte de Genovesa, Pinta, Pinzon, Marchena, North Seymour, Santa Cruz, Santiago y Wolf.^{21,22} En la isla Fernandina, la estación de reproducción se extiende desde agosto a noviembre, con un incremento de nacimientos en la primera semana de octubre. El apareamiento es aproximadamente una semana después del parto.²¹

El régimen de procreación queda muy afectado por las altas temperaturas (30-31° C) a las que están expuestos los lobos marinos durante los meses de marzo y abril. Las hembras tienden a buscar lugares sombreados o cuevas en las rocas de lava, en tanto los machos se aseguran el acceso al mar, para poder refrescarse en el agua en caso de acaloramiento. La duración de la lactancia es notablemente prolongada y a menudo se ven hembras que amamantan a crías de mayor tamaño que ellas mismas.²³

2.2.2 *Zalophus californianus wollebaeki*.

Existen tres subespecies de la especie *Zalophus californianus*: la *Z. californianus californianus*, que se distribuye en la costa oriental del Pacífico Norte³; la *Z. c. wollebaeki*, que habita en las islas Galápagos y ocasionalmente en las costas de Ecuador y Colombia^{24,25} y la *Z. c. japonicus* que habitaba en el Mar de Japón, distribuyéndose en el lado oeste de la isla Honshu, Kyushu, Shikoku y en pequeñas islas cercanas a Corea.²⁶ La subespecie *Z. c. japonicus* está registrada como extinta en la lista roja de la IUCN, debido a que no se han tenido reportes de ella desde los años 50's. El último reporte fue de 50 a 60 individuos en Takeshima en 1951.²⁷

Figura 2. GÉNERO *Arctocephalus galapagoensis*. Tiene perfil plano y su hocico muy corto con un morro irrelevante, tiene doble pelo.



www.vlieberg.nl/dieren/zeehonden/foto.htm²⁸

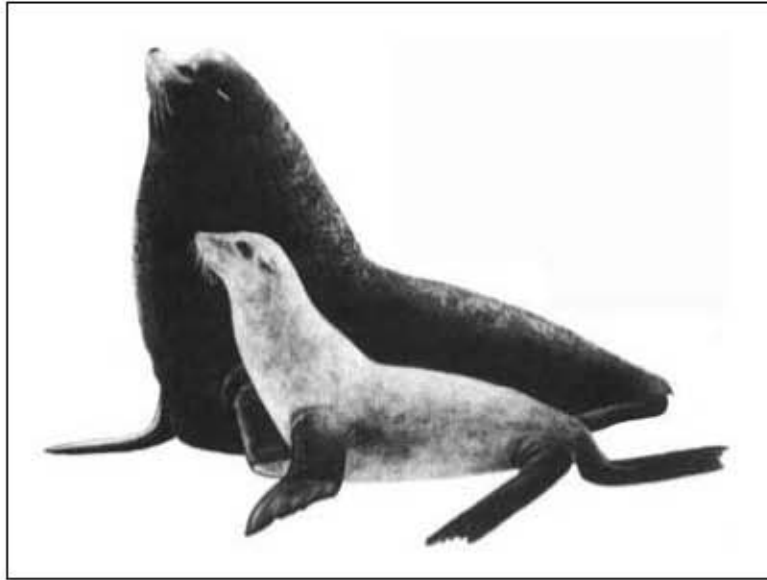
La población del *Z. c. californianus* actualmente es de 200,000 individuos aproximadamente, de los cuales 93,000 habitan en territorio mexicano, por lo que en estos momentos el *Z. c. californianus* no se considera en peligro de extinción.^{29, 30}

El *Z. c. wolfebaeki* cuenta con una población de 20,000 a 50,000 individuos por lo que está clasificado como VU (vulnerable) en la lista de IUCN.^{4, 24} En los años 70's, se reportó una baja drástica en el número de lobos marinos (*Z. c. wolfebaeki*) de las islas Galápagos debido a la reducción de alimento, que presuntamente fue provocada por el fenómeno natural de "El Niño".¹ En la etapa adulta, los individuos manifiestan un marcado dimorfismo sexual en el tamaño, peso y caracteres sexuales secundarios. Los machos pesan aproximadamente 300 kg y llegan a medir hasta 2.4 m; mientras que las hembras son más pequeñas, alcanzando un peso de 100 kg y una longitud aproximadamente de 1.8 m (Figura 3).³¹

El cuerpo del *Z. c. californianus* es alargado, cubierto por una capa de pelaje denso. Su cuello es grueso y tiene miembros torácicos y pelvianos largos, en forma de aleta que le permiten un desplazamiento terrestre y acuático.³² Estas extremidades carecen de pelo y presentan uñas.^{31, 32}

La población de esta especie se encuentra distribuida en las islas: Caamaño, Española, Floreana, San Cristóbal, Plaza Sur, Mosquera y Seymour Norte.^{22, 23}

Figura 3. GÉNERO *Zalophus californianus wollebaeki*. Marcado dimorfismo sexual en individuos adultos y es más grande que el *Arctocephalus galapagoensis*.



www.vlieberg.nl/dieren/zeehonden/foto.htm ²⁸

2.3. LEPTOSPIROSIS

2.3.1. Epidemiología y signos clínicos

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa y contagiosa de distribución mundial, que afecta tanto al hombre como a mamíferos domésticos y silvestres y se caracteriza por producir fiebre, septicemia, daños renal y hepático, cuadros hemorrágicos, infertilidad y abortos. La causante de esta enfermedad es una bacteria en forma espiral (espiroqueta) del género *Leptospira* que mide de 6 a 20 μm de largo por 0.1 μm de diámetro.^{33, 34} De acuerdo al análisis de la secuencia de los genes 16 S de ARN ribosomal e hibridación de ácidos nucleicos, existen nueve genoespecies patógenas (*L. alexanderi*, *L. borgpetersenii*, *L. fainei*, *L. interrogans*, *L. inadai*, *L. kirschneri*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. weilli*) y hasta el momento se han identificado tres genoespecies de leptospiras saprófitas (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*).³⁵

Las leptospiras son espiroquetas con dos flagelos localizados en el espacio periplásmico que se insertan sub-terminalmente en la envoltura con forma de cilindro protoplásmático. Estos endoflagelos están constituidos por dos tipos de proteínas, la primera, con alta homología

(secuencia de aminoácidos) a la flagelina bacteriana y que forma la médula del flagelo, mientras que el del endoflagelo contiene una proteína, lipopolisacáridos y fosfolípidos. Estos tipos de proteínas son conservados entre los distintos genoespecies de *Leptospira*.³⁵

Las fuentes de leptospiras patógenas son, además de los animales enfermos, los reservorios y portadores asintomáticos, en los cuales la infección persiste sin causar signos severos de enfermedad. Estos reservorios y portadores dispersan las leptospiras en el ambiente, que infecta a otros individuos de la misma especie y a su vez pueden infectar a otras especies animales promoviendo así la dispersión de la enfermedad.

La infección con *Leptospira* aumenta comúnmente durante los periodos de lluvia, en ambientes con pobre drenaje que tienden a inundarse y donde hay una gran cantidad de animales portadores y animales susceptibles. La alta prevalencia de animales seropositivos han sido relacionadas con temperaturas ambientales promedio altas. La enfermedad consta de dos fases: la leptospirémica cuando las leptospiras están replicándose en sangre y la leptospirúrica cuando las leptospiras se alojan en los túbulos contorneados renales y son eliminadas en la orina.³⁶

Hay dos formas de presentación de la enfermedad; la que se da en un hospedero natural y la que se da en un hospedero accidental. Cuando una serovariedad infecta a un hospedero natural, éste se convierte en un hospedero reservorio o de mantenimiento y el cuadro clínico es generalmente moderado. La exposición de animales susceptibles a serovariedades de las que no son hospederos naturales causa una enfermedad accidental o incidental cuyo cuadro clínico es usualmente severo. Debido a que la misma serovariedad puede ser mantenida en un hospedero y eliminada por otro, los factores del hospedero y no necesariamente los de la serovariedad, determinan si la infección se mantiene. El diagnóstico serológico de leptospirosis en una proporción pequeña de individuos refleja indirectamente la infección endémica de toda una población.³⁷

2.3.2. Transmisión

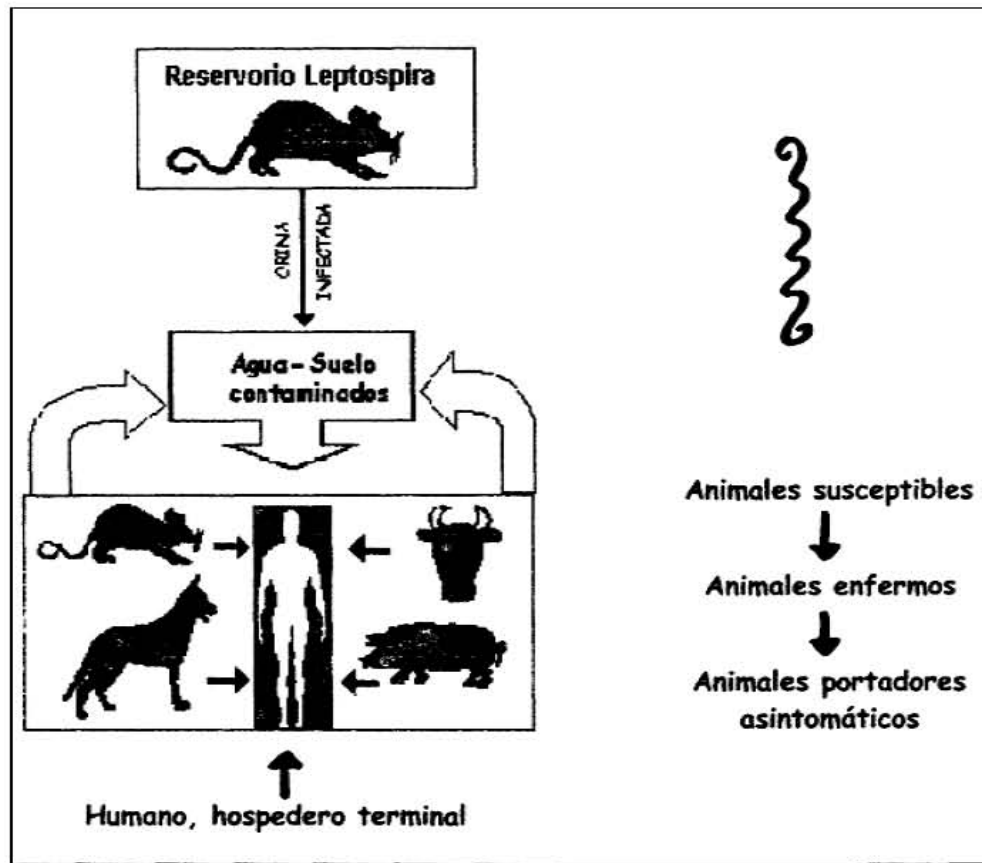
La transmisión de leptospiras patógenas de un individuo enfermo o portador asintomático a un individuo susceptible puede ser por contacto directo o indirecto con orina infectada, fluidos placentarios, transplacentaria o a través de la leche.³⁸ Bajo condiciones de humedad, protegidas de la luz del sol y a temperaturas templadas, las leptospiras pueden sobrevivir fuera del hospedero por varios meses.³⁹ Las epidemias de leptospirosis están asociadas con un aumento inusual de las lluvias e inundaciones, probablemente porque se aumenta la probabilidad de exposición con aguas contaminadas en donde el microorganismo puede sobrevivir por días o semanas.^{36, 40}

En la figura 4, se esquematiza la transmisión de la leptospirosis entre diferentes especies animales, destacan los roedores como reservorios naturales de serovariedades patógenas como *Icterohaemorrhagiae*. La presencia en el medio de animales reservorios y portadores asintomáticos, así como de animales enfermos que eliminan todos ellos, leptospiras patógenas de otras diversas serovariedades durante la micción, favorece en un ambiente húmedo, la transmisión hacia individuos susceptibles y hacia el humano.

2.3.3. Patogenia

Las leptospiras invaden el cuerpo después de haber penetrado a través de membranas mucosas o piel lesionada. Entran dentro del torrente sanguíneo y se replican en sangre durante 7 días (fase de leptospiremia), en este periodo, las leptospiras pueden depositarse en tejidos como: sistema nervioso central, pulmones, tracto genital, hígado o riñones para entonces ser eliminados con la orina (fase de leptospiruria). Los signos clínicos se observan durante el periodo de leptospiremia e invasión de tejidos. Aunque las leptospiras son eliminadas de diversos tejidos, cuando los anticuerpos específicos hacen su aparición permanecen en los túbulos renales por periodos prolongados.³⁶

Figura 4. FORMA DE TRANSMISIÓN DE LA LEPTOSPIROSIS



Modificado de: epi.minsal.cl/epi/html/enfer/LEPTOSPIROSIS.html ⁴¹

En los hospederos de mantenimiento, la infección renal persiste y la eliminación en orina es a largo plazo durante meses o años. Si los animales están gestantes en el momento de la infección, puede darse la infección fetal y como consecuencia aborto, fetos momificados, neonatos débiles o también el nacimiento de crías infectadas.⁴⁰

2.3.4. Diagnóstico

Existen varias formas de diagnosticar la leptospirosis. Debido a su morfología característica, se pueden observar las espiroquetas en muestras de sangre mediante microscopía de campo oscuro durante los primeros días de la enfermedad o de muestras de orina en etapas de leptospiremia. Sin embargo, es fácil confundir leptospiras con artefactos (pseudoleptospiras) por

lo que la observación microscópica directa, dista mucho de ser un apoyo diagnóstico confiable.⁴²(*De la Peña-Moctezuma A., comunicación personal)

Actualmente, se pueden aplicar pruebas moleculares como la de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que consiste en la “amplificación” de fragmentos de ADN con secuencias específicas y únicas de leptospiras patógenas mediante la actividad polimerizante de la enzima Taq ADN polimerasa, con la ayuda de oligonucleótidos o iniciadores específicos y una mezcla de dideoxinucleótidos. La amplificación se lleva a cabo en una serie de ciclos de “desnaturalización del ADN”, “alineación” con los iniciadores y “polimerización” del ADN a temperaturas de 94, 50 60 y 72° C respectivamente.^{43, 44} También es posible aislar, cultivar e identificar al agente a partir de orina, sangre, riñones, hígado, líquido cefalorraquídeo, agua o del suelo,³⁶ sin embargo el aislamiento de *Leptospira in vitro*, es difícil y requiere de semanas a varios meses por lo que este método, aunque deseable, es impráctico.

La aglutinación microscópica (AM) es la prueba serológica más utilizada, detecta anticuerpos circulantes principalmente del tipo IgM, contra la serovariedad infectante. Usualmente los títulos de anticuerpos $\geq 1:10$ indican una exposición previa a *Leptospira* spp. Sin embargo, en la mayoría de las especies animales el diagnóstico serológico de leptospirosis se establece con títulos de anticuerpos $\geq 1:100$ para evitar confundir las reacciones de aglutinación débiles con una infección activa, respuestas vacunales o exposiciones a *Leptospira* previas.³⁶

Otras pruebas serológicas que se utilizan para el diagnóstico de leptospirosis son: la fijación de complemento, inhibición de la hemaglutinación, la aglutinación macroscópica, la de contrainmunolectroforesis, inmunohistoquímica y el ensayo inmuno-enzimático (ELISA).^{45, 46} La histopatología es otra herramienta utilizada para el diagnóstico de leptospirosis, dentro de las lesiones microscópicas que ocasiona *Leptospira*, podemos encontrar: nefritis linfoplasmocítica intersticial con presencia de espiroquetas en el epitelio tubular renal⁴⁶ e

*Jefe de Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Enero 2006.

infiltración de linfocitos y monocitos en la zona corticomedular.^{47, 48} Los fetos abortados y animales neonatos generalmente presentan septicemia hemorrágica, hemorragias subcutáneas y de la cámara anterior del ojo ⁴⁷, hígado graso y friable con hematomas subcapsulares, hemorragia subdural extensa, hipocelularidad glomerular focal, congestión de glándulas adrenales y encéfalo, hemorragias moderadas en nódulos linfáticos, septo del timo, mucosa del colon, pulmones e iris así como atrofia celular de la médula ósea.⁴⁶

Aunque las lesiones tisulares que ocasiona no son consideradas patognomónicas, la histopatología puede ser un buen método diagnóstico retrospectivo si se corrobora con tinciones de plata o inmuno peroxidasa para observar la presencia del agente en muestras de riñón, hígado o pulmón.²

2.3.5. Leptospirosis en lobos marinos

Los primeros registros que se tienen de leptospirosis en lobos marinos de América datan del año 1970, en las costas de California y Oregon, EUA, durante un evento de mortalidad elevada.^{11, 49} De este suceso se logró aislar *L. interrogans* serovariedad Pomona de orina y tejido renal de lobos marinos (*Z. c. californianus*) varados y de fetos abortados, placentas y crías prematuras^{50, 51}.

En el año de 1984 se registró un brote de leptospirosis epizoótica en las costas de California, EUA, en el cual se presentaban cuadros clínicos que se caracterizaban por severa depresión, encorvamiento, sed excesiva, acompañados de leucocitosis y un incremento en los valores de creatinina, globulina y nitrógeno uréico en sangre. Los animales fueron ingresados al centro de rehabilitación en el California Marine Mammal Center y se les aplicó un tratamiento terapéutico que fue a razón de 22 mg/kg de peso de tetraciclina cada 8 horas vía oral o penicilina G potásica a razón de 44,000 UI/kg cada 12 horas vía intramuscular, durante 10 a 14 días. Este tratamiento lo recibieron sesenta y siete lobos marinos, los cuales respondieron positivamente al tratamiento. En los cortes histológicos de los 52 animales que murieron, se encontraron lesiones como nefritis tubular y glomerulonefritis.⁵²

Un estudio de seroprevalencia de leptospirosis realizado en lobos marinos de las costas de California arrojó como resultado que la población de individuos subadultos y adultos conforman el sector que tiene mayor susceptibilidad a ser seropositivos, en comparación con los juveniles y cachorros, probablemente debido a una mayor oportunidad de entrar en contacto con el microorganismo. Al mismo tiempo, se observó que, al igual que en otras especies animales, los machos son 4.7 veces más susceptibles que las hembras. La mayoría de animales seropositivos se dieron durante los meses de otoño.⁵³

En las costas de California (EUA) se ha reportado la asociación de *L. interrogans* serovariedad Pomona con muerte y abortos, los títulos de anticuerpos que se han registrado en esa zona llegan hasta 1:3200.⁴⁹

Por otro lado, en el Golfo de California (México), la serovariedad más reportada es Hardjo, la cual llegó hasta títulos de 1:320. Sin embargo, también se tienen registros de títulos de anticuerpos de otras serovariedades como: Serjoe (1:320) Ballum (1:160), Cynopteri, Grippotyphosa, y Tarassovi (1:80).¹³ En el Golfo de California (México) no ha habido reportes de brotes de leptospirosis.

En un estudio serológico realizado en la península de Otago, Nueva Zelanda, se encontró que el título más alto alcanzado fue de 1:12.800 correspondiente a la serovariedad Pomona.⁵⁴ En las Islas Galápagos se realizó un estudio preliminar se detectaron títulos altos (1:200) contra las serovariedades Canicola y Hardjo prajitno en una prueba de AM realizada en muestras de suero provenientes de poblaciones de lobos marinos.⁵⁵

Existen otros reportes de leptospirosis en pinípedos. En la península de Alaska se documentó una alta mortalidad en crías de lobo fino del norte, *Callorhinus ursinus*, asociada al complejo neonatal hemorrágico múltiple, provocada por *L. interrogans* serovariedad Pomona.⁵⁶

2.4. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio es parte del Proyecto General de Evaluación del Estado de Salud de los Pinípedos de las Islas Galápagos, el cual tuvo la colaboración de la Estación Científica Charles

Darwin situada en el puerto Ayora, isla Santa Cruz, la cual depende de la “Fundación Charles Darwin para las Islas Galápagos”. También colaboraron: el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del Instituto Politécnico Nacional (IPN), la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y el Zoológico Africam Safari ubicado en el estado de Puebla, México.

Arctocephalus galapagoensis y *Zalophus c. wollebaeki*, al ser animales carnívoros, están casi en la cúspide de la pirámide alimenticia, encontrándose sólo por debajo de otros depredadores como tiburones y orcas, por lo que son un marcador biológico que se pudiera utilizar como parámetro en cuanto al estado del ecosistema en las islas Galápagos. Tomando esto en cuenta, es de importancia conocer los problemas nutricionales, toxicológicos, infecciosos y ambientales a los que se enfrenta esta especie. En este trabajo se tiene como objetivo particular la detección de la leptospirosis.

En el presente trabajo se ha seleccionado el estudio serológico de leptospirosis como una herramienta para entender la relación ecológica de las diferentes colonias de lobos marinos de las islas Galápagos entre si y con su entorno físico; así como para determinar la frecuencia de anticuerpos antileptospira.

2.5. HIPÓTESIS

Las crías de lobos marinos (*Arctocephalus galapagoensis* y *Zalophus californianus wollebaeki*) de las islas Galápagos muestran anticuerpos séricos contra serovariedades de *Leptospira* spp.

2.6. OBJETIVO

Determinar la presencia de anticuerpos aglutinantes contra serovariedades de *Leptospira* spp. en los sueros de las crías de lobo marino (*A. galapagoensis* y *Z. c. wollebaeki*) y su distribución en las loberas de las islas Galápagos del Ecuador.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

En los años 2002 y 2003 durante la época de reproducción y crianza de los lobos marinos, de varias islas del archipiélago de Galápagos, se tomaron las muestras utilizadas en el presente trabajo. Debido a que los individuos que se pueden capturar con más facilidad son las crías de lobo marino, las muestras pertenecen a crías clínicamente sanas de ambos sexos con edades que oscilaban entre los dos y tres meses, nacidos en 2002 y 2003. Se colectaron 147 muestras de suero de crías de nueve loberas diferentes localizadas en las islas: Española, Fernandina, Floreana, Isabela, Mosquera, San Cristóbal, Santa Cruz, Santa Fé y Santiago de Islas Galápagos, República del Ecuador. 22 pertenecientes al género *Arctocephalus galapagoensis* y 125 al género *Z. c. wollebaeki*. (Cuadro 3, pág. 36)

MUESTRAS DE SANGRE.

La captura de las crías se realizó con base en lo descrito por Lazo de la Vega (1998), en donde una persona localiza el lugar con mayor concentración de cachorros y es la que generalmente dirige toda la captura. La forma de capturar una cría es tomarla de las aletas caudales y levantarla del suelo procurando mantenerla lo más alejado del cuerpo del manejador para evitar ser mordido.⁵⁷ Debido a que es complicado calcular la edad exacta de las crías, se registró el tipo de cicatriz umbilical, para después usarla para la clasificación por edad del más joven al más grande: cicatriz fresca (CF), cicatriz semiseca (CSS) y cicatriz seca (CS).¹¹

Cada animal fue controlado manualmente y se colocó una mascarilla para la inducción conectada a una máquina portátil de anestesia diseñada para humanos con un vaporizador Isote 3 y una bolsa de inhalación de 1 L.. Se administró Isoflorano (Forane[®] Abbot) al 5% en oxígeno (1-2 L/min), hasta que el animal se relajaba lo suficiente para permitir la intubación endotraqueal. El tubo endotraqueal se colocó en la mayoría de los animales y la concentración del Isoflorane fue ajustada según sus respuestas a los estímulos y a la presencia o ausencia del reflejo palpebral y del tono mandibular.²²

Durante la anestesia fueron monitoreados los siguientes signos físicos: reflejo palpebral, tiempo de relleno capilar, tono mandibular, frecuencia cardiaca y respiratoria, saturación del oxígeno y temperatura del cuerpo. Se utilizó un oxímetro de pulso con una sonda rectal. Una vez que el procedimiento terminaba, los animales eran mantenidos con oxígeno hasta su completa recuperación. Durante la anestesia fueron obtenidas medidas morfométricas, peso corporal, muestras del pelo, sangre (10-20 ml) de la vena yugular y muestras seleccionadas de lesiones patológicas.²²

Los tiempos de anestesia fueron entre 15 y 30 minutos como máximo. De cada cría se obtuvieron 10ml de sangre en la región yugular utilizando una aguja calibre 21 (S-Monovette® Sarstedt). Una vez obtenida la muestra de sangre, se conservó en refrigeración para después ser centrifugada ese mismo día a 3, 500 rpm durante 5 minutos. El suero se colocó en viales para mantenerlos congelados a -20° C hasta su análisis en el laboratorio.

PRUEBA DE AM.

Debido a su alto contenido graso, previo a su análisis en el laboratorio, los sueros fueron clarificados mediante centrifugación a 13, 000 xg durante 5 min., en una microcentrífuga refrigerada Savant SFR13K. La prueba de AM fue desarrollada en el laboratorio del Grupo de Investigación en *Leptospira* y Leptospirosis (GrILLeP) del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se analizaron las 147 muestras de suero para la búsqueda de anticuerpos antileptospira mediante la prueba aglutinación microscópica (AM) que consiste en enfrentar antígenos vivos de *Leptospira* a diferentes diluciones dobles de los sueros problema. Las diluciones son incubadas a temperatura ambiente durante una hora y entonces son observadas bajo microscopio de campo oscuro a 200 aumentos del microscopio. En este trabajo, se inició con una dilución de 1:20 por suero.

Sueros con anticuerpos antileptospira darán como resultado la aglutinación microscópica de leptospiras. Los sueros negativos no aglutinan a las leptospiras observándose éstas aisladas y uniformemente distribuidas en todo el campo.⁵⁸

Los cultivos de *Leptospira* se obtuvieron del cepario del OMS/FAO/OIE Collaborating Centre for Reference and Research of Leptospirosis; Brisbane, Queensland (Australia) y del cual se tienen cepas en el GRILL. Este cepario se encuentra conservado en el medio semisólido de Fletcher, enriquecido con 10% de suero de conejo. Para hacer la lectura de la prueba se hicieron pases de estos cultivos al medio líquido de Ellinghausen-McCulloug-Johnson-Harris (EMJH). El medio EMJH es específico para cultivar *Leptospira* spp. y está enriquecido con albúmina bovina lo que les proporciona los ácidos grasos de cadena larga requeridos para su desarrollo. Teniendo listo el cepario en medio EMJH, se realizaron pases cada 7-14 días de estos cultivos, a tubos con medio fresco, teniendo como fin obtener la cantidad óptima de leptospiras que debe contener aproximadamente 100-200 microorganismos por campo de seco fuerte (400 X).⁴⁵ Se utilizaron 20 serovariedades de *Leptospira* para hacer la AM, las cuales se muestran en el Cuadro 4 (pág. 41).

Prueba de selección preliminar

Los sueros sometidos a prueba se diluyeron con solución amortiguadora de fosfatos (SAF) para obtener una dilución final de 1:20. Posteriormente, se colocaron 20 μ l de suero diluido en un pozo de una placa de 96 pozos con fondo plano y 20 μ l de antígeno específico. La mezcla se dejó incubando de 1-2 horas dentro de una estufa bacteriológica a 30° C.

Determinación de títulos

A los sueros que resultaron como positivos o sospechosos se les realizó una serie de diluciones que fueron desde 1:20 hasta 1:2560 con la finalidad de obtener el título de aglutinación de cada suero.

Se corrió la prueba preliminar de a las 147 muestras de suero y a los sueros que resultaban sospechosos y positivos, se les corrían las diluciones señaladas la AM. Los análisis se

hicieron de acuerdo al año de recolección de las muestras y a las serovariedades utilizadas para la prueba.

4. RESULTADOS

Se obtuvieron 65 sueros negativos de las 147 muestras evaluadas, esto corresponde al 44.22% del total. El 55.78% de los sueros restantes, resultaron positivos por lo menos a una serovariedad. En la especie *Arctocephalus galapagoensis* (n=22) se detectaron títulos que oscilaron desde 1:20 hasta 1:160, con un porcentaje de 45.45% (10/22) de muestras positivas, en donde las serovariedades Bratislava y H. Hardjobovis 13.63% (3/22) fueron las más comunes. Un 57.6% (72/125) de muestras de la especie *Zalophus californianus wollebaeki* (n=125) resultaron positivas con títulos desde 1:20 hasta 1:320, en donde las serovariedades Patoc 20% (25/125), Australis 16% (20/125) y Hebdomadis 14.4% (18/125) fueron las más comunes. Los resultados de la AM obtenidos, se muestran por islas, fecha de toma de muestra y género (Cuadro 5, pág. 42).

El título más bajo considerado en este estudio fue de 1:20 y el título más alto 1:320. Sólo dos sueros llegaron a títulos de 1:320 y pertenecen a las serovariedades Patoc y Pyrogenes. Las serovariedades más comunes encontradas en este trabajo fueron Australis y Patoc (Cuadro 6, pág. 50).

Se observó una relación de seroprevalencia entre las serovariedades más comunes en las loberas: “La lobería”, “Isla Lobos”, “Zona Naval”, “Camaño”, “Plaza Sur”, “Punta Espinosa” y “Mosquera”; siendo Australis la serovariedad más común en todas estas loberas. No se detectaron anticuerpos contra Australis en “Punta Vicente Roca” e “Islote Gardner”, mientras que Patoc no fue detectada en “Puerto Egas”, Cabo Hammond”, “Punta Suárez” e “Islote Gardner” (Cuadro 7, pág. 50).

4.1 Seroprevalencia en *Arctocephalus galapagoensis*.

En este género las serovariedades positivas fueron: Bratislava y H. Hardjobovis con un porcentaje de 13.63% (3/22); Australis, Celledoni, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Tarassovi y Wolfi las cuales tuvieron un porcentaje de 9.09% (2/22) y Autumnalis, B. Castellonis, Bataviae, Cynopteri, H. Hardjoprajitno, H. Hebdomadis y Pyrogenes un porcentaje de 4.45% (1/22). Las serovariedades Ballum Mus, Canicola, Grippytyphosa, Lai y Pomona resultaron negativas.

En la isla "Santiago" las serovariedades encontradas fueron: Australis, Autumnalis, B. Castellonis, Bratislava, Celledoni, H. Hardjobovis, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi.

En la isla "Isabela" sólo se registro la serovariedad Patoc y en la isla "Fernandina" fueron positivas: Australis, Bataviae, Bratislava, Cynopteri, H. Hardjoprajitno, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffi.

Los sueros pertenecientes a las hembras, obtuvieron una seroprevalencia del 33.33% (4/12) y los sueros de los machos un 60% (6/10).

4.2 Seroprevalencia en *Zalophus californianus wollebaeki*.

En este género la única serovariedad negativa fue Celledoni. La serovariedad Patoc obtuvo un porcentaje de 20% (25/125); la Australis 16% (20/125); Hebdomadis 14.4% (18/125); Autumnalis y Canicola 8.8% (11/125); Grippytyphosa 8% (10/125); H. Hardjobovis y H. Hardjoprajitno 7.2% (9/125); Wolffi 6.4% (8/125); Lai 4.8% (6/125); Pyrogenes 4% (5/125); B. Castellonis, Cynopeteri Icterohaemorrhagiae y Tarassovi 3.2% (4/125); Bataviae y Bratislava 2.4% (3/125); B. Mus y Pomona 1.65 (2/125).

La isla "San Cristóbal" es la única isla de la cual se tienen registros de las mismas loberas en los distintos años. En el año 2002, las serovariedades encontradas fueron: Australis, Autumnalis, B. Mus, Celledoni, Grippytyphosa, H: Hardjobovis, H. Hardjoprajitno, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Lai, Patoc, Pyrogenes y Tarassovi. Del año 2003 solo se tienen muestras de las loberas: "Isla lobos" y "Zona Naval". Se encontraron las siguientes

serovariedades: Australis, Autumnalis, B. Castellonis, B. Mus, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Grippotyphosa, H. Hardjoprajitno, Hebdomadis, Lai, Patoc, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffi.

En el año 2003 aparecen serovariedades que en el año 2002 no se habían registrado, y son: B. Castellonis, Canicola, Cynopteri y Wolfi y las serovariedades H. Hardjobovis e Icterohaemorrhagiae desaparecen.

En la isla "Santa Fe" se encontraron las siguiente serovariedades: Australis, Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Lai, Patoc y Wolffi.

En la isla Camaño las serorvaeriedades: Australis, Autumnalis, Canicola, Cynopteri, Grippotyphosa, H. Hardjobovis, H. Hardjoprajitno, Hebdomadis, Lai y Patoc resultaron positivas.

La isla "Seymour" tuvo como positivas las siguientes serovariedades: Australis, B. Castellonis, Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Patoc y Wolffi.

La isla "Fernandina" tuvo como positivas las serovariedades: Australis, Autumnalis, B. Castellonis, Bataviae, Bratislava, Canicola, Cynopteri, Grippotyphosa, H. Hardjobovis, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Tarassovi y Wolffi.

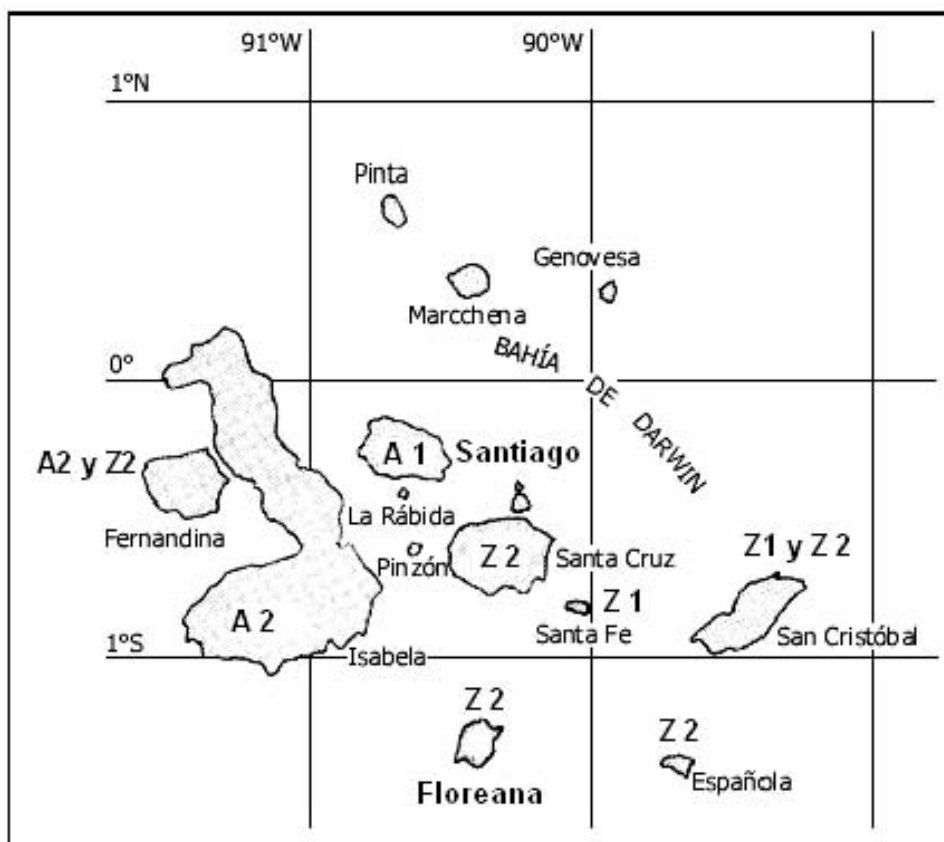
En la isla "Floreana" las serovariedades positivas fueron: Australis, H. Hardjoprajitno, Hebdomadis y Patoc. La isla "Española" tuvo como positivas: Australis, Autumnalis, B. Mus, Canicola, H. Hprajitno, H. Hardjobovis, Hebdomadis y Pyrogenes.

La isla Santa Cruz tuvo como positivas las serovariedades: Australis, Autumnalis B. Castellonis, Bataviae, Bratislava, Cynopteri, Grippotyphosa, H. Hardjobovis, H. Hardjoprajitno, Lai, Patoc, Pomona y Pyrogenes.

Sin tomar en cuenta a la isla "San Cristóbal", en el resto de las islas con población humana, resultaron negativas las serovariedades: B. Mus, Celledoni, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi. En las islas sin población humana las serovariedades negativas fueron: B. Mus, Celledoni y Pomona.

Los sueros pertenecientes a las hembras, obtuvieron una seroprevalencia del 53.33% (40/75) y los sueros de los machos un 62.66% (47/72).

Figura 5. ISLAS MUESTREADAS POR AÑOS Y ESPECIE



A1 = *Arctocephalus galapagoensis* 2002
 A2 = *Arctocephalus galapagoensis* 2003
 Z 1 = *Z. c. wollebaeki* 2002
 Z2 = *Z. c. wollebaeki* 2003

5. DISCUSIÓN

Se sabe que la leptospirosis es una enfermedad más frecuente de lo que se diagnostica o se reconoce.³⁶ Los rangos de infección basados en serología pueden subestimar la verdadera prevalencia porque algunos animales pueden estar infectados con múltiples serovariedades y algunos hospederos pueden seguir excretando espiroquetas en orina, aún

después de convertirse en seronegativos ⁵⁹. De ahí la importancia de considerar positivos los títulos desde 1:20 además de las respuestas menores al 50% de aglutinación como sospechosas ya que finalmente, este es un estudio exploratorio de la presencia de anticuerpos contra diferentes serovariedades en distintas colonias de lobos marinos de vida libre.¹¹

El mantenimiento de la leptospirosis en lobos marinos puede estar potenciado por el comportamiento gregario de la especie. Un hospedero infectado puede eliminar hasta 105 leptospiras / ml de orina durante las primeras semanas de infección³⁶ y en lobos marinos se ha reportado que los individuos pueden eliminar leptospiras hasta 154 días posteriores a la infección.¹³

Algunas enfermedades en mamíferos marinos son endémicas y pueden reflejar el efecto de las condiciones ambientales a largo plazo o bien, el efecto de los procesos evolutivos debidos a reducciones en la población o aislamiento geográfico. La prevalencia de una enfermedad dentro de una población que tiene una distribución amplia, puede revelar patrones geográficos como resultado de diferentes efectos ambientales, en comportamientos sociales, distribución, dispersión en el hábitat y diferencias en estructura genética.⁶⁰

Las serovariedades de *Leptospira* pueden infectar indistintamente a cualquier especie animal, aunque existen algunas serovariedades que son más comunes por especie, como por ejemplo Hardjo (Bovinos), Canicola (Perros) y Panamá (Cerdos).

La fuente de infección de *Leptospira* para los lobos marinos de las Islas Galápagos podrían ser los roedores, caninos, humanos y otros mamíferos, sin embargo, hay que recordar que algunas islas del archipiélago Galápagos no tienen población humana. Es por esto que se debe tener en cuenta que los lobos marinos mantienen contacto con diferentes especies en cada lobera.

En trabajos anteriores a éste, se ha registrado la presencia de distintas serovariedades en lobos marinos de otros lugares. En las costas de California (EUA) se aisló la serovariedad Pomona a partir de muestras de riñón,^{2, 12}; en estudios serológicos realizados en el Golfo de California (México), las seroveriedades más comunes que se han encontrado son: Ballum, Cynopteri, Hardjo¹³, Hebdomadis y Patoc¹¹. Por otro lado, en la península de Otago (Nueva Zelanda), mediante un estudio serológico se encontró la presencia de las serovariedades: Hardjo, Canicola y Pomona⁵⁵ De las serovariedades encontradas en el presente trabajo, sólo Patoc y Hebdomadis coinciden con los resultados obtenidos en estudios previos como los de las costas de California (EUA), golfo de California (México) y la península de Otago (Nueva Zelanda). En el Cuadro 8 (pág. 52) se muestra una comparación de los datos obtenidos en este estudio con los datos de trabajos anteriores.

En este estudio, en comparación con el realizado en Nueva Zelanda⁵⁵, se puede observar que en la especie *A. galapagoensis*, existe en común sólo la serovariedad Hardjo, Sin embargo los títulos que encontrados en este trabajo son muy bajos, por cual se convierte en un factor que disminuye su potencial riesgo para esta especie.

Por otro lado en la especie *Z. c. wollebaeki*, y en comparación con los estudios realizados en el Golfo de California (México)¹¹ aparecen como especies más comunes dos serovariedades: Hebdomadis y Patoc. Esta última serovariedad no es patógena, por lo tanto no es de riesgo, en cuanto a Hebdomadis, los títulos que se registraron en este trabajo son muy bajos, por lo que se disminuye su potencial de riesgo para esta especie.

Usualmente las reacciones de AM son consideradas como positivas cuando alcanzan un título mayor o igual a 1:100 contra alguna de las serovariedades patógenas de *Leptospira*.³⁶ En algunos casos esta dilución resulta muy alta para detectar niveles de anticuerpos producidos en etapas tempranas de la infección y probablemente en hospederos inusuales de serovariedades comunes a especies domésticas, esto es animales silvestres.⁶¹

Pruebas de aglutinación menos específicas de serovariedad usadas para diagnóstico y escrutinio epidemiológico incluyen aglutinación de *Leptospira biflexa* serovariedad Patoc cepa Patoc I. La cual, con algunas serovariedades, fue empíricamente aglutinada por sueros de pacientes y animales convalecientes a partir de infección.³⁶

Por otro lado, el uso de la serovariedad Patoc ha sido sugerido para la detección de anticuerpos anti *Leptospira* diferentes a los incluidos en colecciones de serovariedades patógenas de uso rutinario en los laboratorios de diagnóstico.

En el presente estudio se observaron 27 muestras de suero con títulos de anticuerpos desde 1:20 hasta 1:320 contra *Leptospira biflexa* serovariedad Patoc. 13 de ellos mostraron títulos de anticuerpos contra otras serovariedades además de Patoc entre las que destacan Ballum (5), Canicola (4) y Grippotyphosa (6). Los 14 restantes no mostraron anticuerpos detectables contra ninguna otra de las serovariedades de *Leptospira* patógenas probadas, lo que sugiere exposición a alguna otra serovariedad no considerada en este trabajo.

Anteriormente se mencionó que la leptospirosis es una enfermedad zoonótica, por lo cual representa un riesgo también para los humanos. Se han reportado brotes de leptospirosis en atletas que practican deportes como triatlón, natación o canotaje en ríos, lagos y lagunas. Desechos de granjas cercanas han sido la principal fuente de contaminación para las lagunas y esta la fuente de infección para los deportistas.^{62, 63} La fauna silvestre puede además jugar un papel importante en el mantenimiento de serovariedades patógenas de *Leptospira* como Mini (mapaches), Grippotyphosa (topos), Ranarum (ranas), Bataviae (armadillo).³⁶ De esta manera, la fauna silvestre potencialmente contribuye al mantenimiento y diseminación de *Leptospira* patógena que pudiera constituir un riesgo de infección al humano en el ambiente natural.

5.1 CONCLUSIÓN

Se obtuvieron reacciones positivas de aglutinación contra cada una de las diferentes serovariedades probadas con los 147 sueros de lobos marinos de las Islas Galápagos. Las reacciones de aglutinación fueron consideradas desde diluciones tan bajas como 1:20.

Las experiencias serológicas de leptospirosis observadas en diferentes estudios en México^{11, 12} y ahora en Ecuador así como, los reportes aislados de evidencias de leptospirosis en lobos marinos con problemas de aborto y mortalidad^{2, 50}, sugieren que la leptospirosis puede convertirse en un problema de salud para lobos marinos de vida libre bajo condiciones determinadas, como ejemplo, la presencia de serovariedades de alta virulencia.

Las evidencias serológicas acumuladas en los últimos años sumadas a los resultados presentados en este estudio, sugieren que el problema de leptospirosis en lobos marinos es una condición patológica de presentación eventual, más que una enfermedad endémica de esta especie.

Sin embargo, se necesitan más estudios sobre la seroprevalencia de la leptospirosis en lobos marinos y en otras especies de las islas Galápagos, Ecuador para evaluar si los anticuerpos encontrados en estos individuos son producto de la presencia de la enfermedad o simplemente son resultado de la respuesta inmune a la presencia del agente.

Todas las serovariedades que se utilizaron ya han sido reportadas en otros estudios con lobos marinos, sobre todo en los del Golfo de California (México).^{11,13}

Se sugiere para estudios posteriores que el muestreo abarque también a otras especies que habitan en las Islas Galápagos, sobre todo de roedores, bovinos y caninos debido a que son los animales que tienen contacto directo con los humanos.

6. LITERATURA CITADA

1. MacFarland C, Cifuentes M. Case Study: Galapagos, Ecuador. Report of a Workshop April 20-25. In: Dompka V, editor. Human Population, Biodiversity and Protected Areas: Science and Policy Issues. Washington, DC: American Association for the Advancement of Science (AAAS), 1996:135-188.
2. Gulland FM, Koski M, Lowenstine LJ, Colagross A, Morgan L, Spraker T. Leptospirosis in California sea lions (*Zalophus californianus*) stranded along the central California coast, 1981-1994. J Wildlife Dis. 1996; 32: 572-580.
3. Acevedo-Whitehouse K. El lobo marino de California (*Zalophus californianus californianus*) en el Golfo de California: Hallazgos patológicos (tesis de licenciatura). Ciudad de México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1999.
4. Romeu E. Pinnípedos de México. Biodiversitas. CONABIO.1998; 20:12-15.
5. Abundes GJ. Determinación e identificación de nemátodos gastroentéricos en lobo marino (*Zalophus californianus californianus*) en la isla Granito en el Golfo de California (tesis de licenciatura). Ciudad de México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1995.
6. Parás A, Brousset DM, Salazar S, Auriolos D. Monitoring pinniped health in the Galápagos Islands and Baja California. Proceedings of the AVMA (Asociación mundial de veterinarios). 2005.
7. Eguía AM. Causas de mortalidad en crías de lobo marino (*Zalophus californianus californianus*). Estudio realizado en la isla Granito. Golfo de California México (tesis de licenciatura). Ciudad de México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1995.

8. Dunn JL. Bacterial and Mycotic diseases of cetaceans and pinnipeds. In: Dierauf LA, editor. Handbook of marine mammal medicine: health, disease, and rehabilitation. CRC Press, 1990: 78 – 79.
9. Baker JR, McCann TS. Pathology and bacteriology of adult male Antarctic fur seals, *Arctocephalus gazelle*, dying at Bird Island, South Georgia. Br Vet J. 1989, 145 :263-275.
10. Bastida R, Loureiro J, Quse V, Bernardelli A, Rodríguez D, Costa E. Tuberculosis in a wild Subantartic fur seal from Argentina. J Wildlife Dis. 1999; 35: 796-798.
11. Godinez CR, Zelaya de Romillo B, Aurióles-Gamboa D, Verdugo-Rodríguez A, Rodríguez-Reyes EA, De la Peña-Moctezuma A. Antibodies against *Leptospira interrogans* in California sea lion pups from Gulf of California. J Wildlife Dis. 1999; 35 : 108-111.
12. Acevedo-Witthehouse K, De la Cueva H, Gulland F, Aureoles-Gamboa D, Arellano-Carbajal F, Suárez-Güemes F. Evidence of *Leptospira interrogans* infection in California sea lion pups from the Gulf of California. J Wildlife Dis. 2003; 39 :145-151.
13. Pedernera, C. Regionalización de la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp, niveles de cortisol y valores hemáticos en once colonias de lobos marinos *Zalophus californianus californianus* en el Golfo de California (tesis de maestría). Ciudad de México (D.F.) México: UNAM, 2004.
14. Jackson MH. Galápagos, una historia natural. University of Calgary Press 1997.
15. Christie, DM, Duncan, RA, *et al.* Drowned islands downstream from the Galápagos hotspot imply extended speciation times. *Nature*. 1992.355:246-248.
16. Hawaiian Ecosystems at Risk project (HEAR). Aviable form: <http://www.hear.org/galapagos/invasoras/temas/manejo/vertebrados/proyectos/vertebrados/sp.htm>. Abr 2006
17. Sarukhán J. Las Musas de Darwin. Fondo de Cultura Económica. 1998.

18. Seal conservation society. Galápagos fur seal (*Arctocephalus galapagoensis*).
Aviable from: <http://www.pinnipeds.org/species/galfursl.htm>. Feb 2006
19. Greenpeace. Osos marinos . *Arctocephalus galapagoensis*. Aviable from:
<http://www.greenpeace.org/espana/campaigns/oceanos/especies-de-pinnipedos-y-esta/osos-marinos>. Feb 2006
20. La web del otario. Género *Arctocephalus galapagoensis* Abiavle from:
<http://otarios.iespana.es/genero%20arctocephalus.html>. Feb 2006
21. Bonner WN. Seals of the Galápagos Islands. Biological J. Linnaean Society. 1984;
21:177-184.
22. Parás A, Brousset DM, Salazar S, Aurióles D. Field anesthesia of two species
pinnipeds found in the Colon Archipiélago or Galápagos, (*Arctocephalus
galapagoensis* and *Zalophus wollwbaeki*). Proceedings of the Internacional Annual
Congress of the American Association of Zoo Veterinarians. Wisconsin, EUA. 10–16
de Octubre del 2002.
23. Fariña JM, Salazar S, Wallem KP, Witman JD, Ellis JC. Nutrient exchanges between
marine and terrestrial ecosystems: The case of Galápagos sea lion *Zalophus
wollebaecki*. J Animal Ecology. 2003; 72: 873-887.
24. De Vlieberg. Zeehonden. Aviable from: www.vlieberg.nl/dieren/zeehonden/foto.htm.
Feb 2006
25. Bates A. California, Galápagos and Japanese Sea Lions (*Zalophus californianus*).
Seal Conservation Society: Aviable from:
<http://www.pinnipeds.org/species/zalophus.htm>. Feb 2006
26. Delight B. The biogeography of California sea lion (*Zalophus californianus*), Fall
2001. San Francisco State University, Department of Geography: Aviable from:
[http://bss.sfsu.edu:224/courses/Fall01%20 projects/Californiasealion.htm](http://bss.sfsu.edu:224/courses/Fall01%20projects/Californiasealion.htm). Feb 2006

27. Nowak R.M. Walker's mammals of the world online. Version 5.1. The Johns Hopkins University Press. 2004.
28. Seal Specialist Group 1996. *Zalophus japonicus*. In: IUCN 2003. 2003 IUCN Red List of Threatened Species. Available from: www.redlist.org. Feb 2006
29. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Dirección Regional Baja California del Área de Protección de Flora y Fauna – Islas del Golfo de California, CONANP. Archipiélago. 2001; 2: 6.
30. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. INE. Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de los Pinnípedos en México. SEMARNAT, 2000.
31. Reindjers P, Brasseur S, Van der Toorn J, Van der Wolf P, Boyd I, Harwood J, Langne D, Lowry L. Seals, sea lions and walrus. Status survey and conservation action plan. IUNC/SSC Seal specialist group. London, 1994.
32. Odell DK. The walrus, sea lions, fur seals and sea otter. In: Ridgway SH, Harrison RJ, editors. Handbook of marine mammals. New York: Academic Press, 1981: 67-97.
33. Leighton FA, Kuiden T. Bacterial Infections. In: Williams E, editor. Infectious diseases of wild mammals. Iowa: Press/Ames, 2001: 498-501.
34. Gulland F. Leptospirosis in marine mammals. In: Fowler ME, Miller RE, editors. Zoo and wild animal medicine. W. B. Saunders Company, 1999: 469-471.
35. Trueba G. Biología de *Leptospira*. Memorias del Simposio internacional sobre *Leptospira* y leptospirosis en las Américas, México 2004.
36. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis. 2° edición Melbourne: MediSci 1999.
37. Heath SE, Johnson R. Leptospirosis. JAVMA 1994; 205:1518-1523.
38. Ellis WA. Leptospirosis. J Small Animal Practice 1986; 27: 683-692.

39. Trevejo RT, Rigau-Pérez JG, Ashford DA. Epidemic leptospirosis associated with pulmonary haemorrhage-Nicaragua, 1995. *J Inf Dis.* 1998; 178: 1457-1463.
40. Bolin CA. Leptospirosis. In: Fowler ME, Miller RE, editors. *Zoo and wild animal medicine.* Missouri: Saunders, 2003.
41. Ministerio de Salud de Chile. Available from: <http://www.epi.minsal.cl/epi/html/enfer/LEPTOSPIROSIS.htm>. Feb 2006
42. Sehgal. SC. Reevaluation of conventional diagnostic techniques in leptospirosis. *Memorias del Segundo Taller Internacional y Segunda Reunión Científica de Leptospirosis.* La Habana, Cuba. 2004
43. Hernández ML, Rodríguez FA, Rodríguez C. *Manual de prácticas de bacteriología y micología veterinarias.* Departamento de Microbiología e Inmunología . Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 2003
44. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. *PCR Protocols. A guide to methods and applications.* California: Harcourt Brace Jovanovich, 1990.
45. Myers DM. *Manual de Métodos, para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis.* Centro Panamericano de Zoonosis. Bs. As., Argentina:1985.
46. Wild CJ, Greenlee JJ, Bolin CA, Barnett JK, Haake DA, Cheville N. An improved immunohistochemical diagnostic technique for canine leptospirosis using antileptospiral antibodies on renal tissue. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14 20-24.
47. Howard ED, Britt JO, Matsumoto GK, Hahara R, Nagano, CN. Bacterial diseases. In: Howard EB, editor. *Pathobiology of marine mammal medicine.* Florida: CRC Press, 1983: 69-89.
48. Dunn L. Bacterial and mycotic diseases of cetaceans and pinnipeds. In: Dierauf L, editor. *Handbook of marine mammal medicine.* Florida: CRC Press, 1990: 73-88.

49. MacIhattan TJ, Martin JW, Wagner RJ, Iversen JO. Isolation of *Leptospira pomona* from naturally infected California sea lion, Sonoma County, California. J Wildlife Dis. 1971; 7:195-197.
50. Gilmartin WG, DeLong R, Smith AW, Sweeney JC, DeLappe BW, Risebrough RW *et al*. Premature parturition in the California sea lion. J Wildlife Dis. 1976; 12: 104-115.
51. Smith AW, Brown RJ, Skilling RL, DeLong R. *Leptospira Pomona* and reproductive failure in California sea lions. JAVMA 1974; 165:996-998.
52. Dierauf LA, Vandebroek DJ, Roletto J, Koski M, Amaya L, Gage LJ. An epizootic of leptospirosis in California sea lions. JAVMA. 1985; 187: 1145-1148.
53. Colagaross-Schouten AM, Mazet JA, Gulland FM, Millar MA, Hietala S. Diagnosis an seroprevalence of leptospirosis in California sea lions from coastal California. J Wildlife Dis. 2002; 38: 7-17.
54. Mackereth GF, Webb KM, O'keefe JS, Duignan PJ , Kittelberger R. Serological survey of pre-weaned New Zealand fur seals (*Arctocephalus forsteri*) for brucellosis and leptospirosis. N Z Vet J. 2005; 53: 428-432.
55. Parás A, Brousset DM, Salazar S, Benites M, Dailey M, Cucchi K, Auriolles D. Health assessment of pinnipeds populations found in the Galápagos Islands. Proceedings of the International Annual Congress of the American Association of Zoo Veterinarians. Minnessota, EUA. 4-10 Oct. 2003.
56. Smith AW, Brown RJ, Skilling RL, Bray HL, Keyes MC. Naturally-occurring leptospirosis in northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). J Wildlife Dis. 1977; 13: 144-148.
57. Lazo de la Vega AT. Obtención de los valores medios de biometría hemática en crías de lobo marino común *Zalophus californianus*, durante el verano de 1994 en los Cantiles, Isla Ángel de la Guarda, Golfo de California, México.(Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de Mexico. 1998.

58. Palacios AJ. Aislamiento de *Leptospira* spp. Determinación de niveles de anticuerpos específicos y estudio histopatológico de riñones en perros del D.F. (tesis de licenciatura) Ciudad de México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1983.
59. Bunneli JE, Hice CL, Montrueil V, Tesh RB, Vinetz JM. Detection of pathogenic *Leptospira* spp infections among mammals captured in peruvian amazon basin region. Am J Trop Med Hyg 2000; 63: 255-258.
60. Auriolles GD, Díaz-Guzmán C, Le Boeuf BJ, Casper D. Incidence of tempomandibular arthritis in California sea lions (*Zalophus californianus*). Journal of Mammalogy (en prensa) 2004.
61. Paras A, Suárez F, De la Peña A. Serología de *Leptospira* y *Brucella* en una población cautiva de venado cola blanca (*Odocoileus virinaianus*) en el zoológico de Chapultepec en la ciudad de México. Veterinaria México. 1992, 24: 394-352.
62. Morgan J, Bornstein SL, Karpati AM, Bruce M, Bolin CA, Austin CC, Woods CW, Lingappa J, Langkop C, Davis B, Graham DR, Proctor M, Ashford DA, Bajani M, Bragg SL, Shutt K, Perkins BA, Tappero JW; Leptospirosis Working Group. Outbreak of leptospirosis among triathlon participants and community residents in Springfield, Illinois, 1998. Clin Infect Dis. 2002; 34: 1593-1599.
63. Boland M, Sayers G, Coleman T, Bergin C, Sheehan N, Creamer E, O'Connell M, Jones L, Zochowski W. A cluster of leptospirosis cases in canoeists following a competition on the River Liffey. Epidemiol infect. 2004, 132: 195-200.

7. CUADROS

Cuadro 1. LAS ISLAS GALÁPAGOS Y SU SUPERFICIE

Nombre común	ÁREA km ²
Isabela	4,588
Santa Cruz	986
Fernandina	642
Santiago	585
San Cristóbal	558
Floreana	173
Marchena	130
Española	60
Pinta	60
Baltra	27
Santa Fe	24
Pinzón	18
Genovesa	14
Rábida	4.9
Seymour	1.9
Wolf	1.3
Tortuga	1.2
Bartolomé	1.2
Darwin	1.1
Daphne Mayor	0.32
Plaza Sur	0.13

Jackson MH (1997) ¹⁴

Cuadro 2. LISTA DE ESPECIES ANIMALES (VERTEBRADOS) INTRODUCIDOS EN LAS ISLAS GALÁPAGOS. (Fuente: Fundación Charles Darwin y Parque Nacional Galápagos)

MAMÍFEROS	
Burro	<i>Equus asinus</i>
Caballo	<i>Equus caballus</i>
Cabra	<i>Capra hircus</i>
Chanco doméstico	<i>Sus scrofa</i>
Conejo	<i>Oryctolagus cuniculus</i>
Cui	<i>Cavia pocellus</i>
Gato doméstico	<i>Felis catus</i>
Rata negra	<i>Rattus rattus</i>
Rata noruega	<i>Rattus norvegicus</i>
Ratón	<i>Mus musculus</i>
Perro doméstico	<i>Canis familiaris</i>
Vaca	<i>Bos tauro</i>
AVES	
Gallina	<i>Gallus gallus</i>
Garrapatero	<i>Crotophaga ani</i>
Garza del ganado	<i>Bubulcus ibis</i>
Paloma doméstica	<i>Columba livia</i>
Pato	<i>Cairina moschata</i>
Pavo doméstico	<i>Meleagris gallopavo</i>
REPTÍLES	
Gueco	<i>Phyllodactylus tuberculosus</i>
Gueco	<i>Phyllodactylus reissi</i>
Gueco	<i>Lepidodactylus lugubris</i>
ANFIBIOS	
Rana arbórea	<i>Scinax quinquefasciata</i>

Cuadro 3. LISTADO DE SUEROS UTILIZADOS PARA LA AM, ESPECIFICANDO EL NÚMERO DE SUEROS, PROCEDENCIA, GÉNERO, IDENTIFICACIÓN (ID) Y SEXO.

NÚM.	ISLA / LOBERA	GÉNERO	SUERO(ID)	SEXO
1	San Cristóbal / "La lobería"	<i>Zalophus</i>	S	H
2			C	H
3			M	M
4			B	M
5			12	M
6			15B	M
7			I	M
8			24	M
9			N	M
10	San Cristóbal / "Isla lobos"	<i>Zalophus</i>	29	H
11			32	H
12			34	H
13			A	H
14			42	H
15			Ñ	M
16			E	H
17			50	H
18			53	H
19			56	M
20			59	M
21			62	H
22			64	H
23			67	H
24			G	H
25			73	M
26	San Cristóbal / "Zona Naval"	<i>Zalophus</i>	O	H
27			77	H
28			86	M
29			K	H
30			92	H
31			J	M
32			98	H

Cuadro 3. LISTADO DE SUEROS UTILIZADOS PARA LA AM, ESPECIFICANDO EL NÚMERO DE SUEROS, PROCEDENCIA, GÉNERO, IDENTIFICACIÓN (ID) Y SEXO. (CONTINUACIÓN)

NÚM.	ISLA / LOBERA	GÉNERO	# SUERO	SEXO
33	Santa Fe	<i>Zalophus</i>	100	H
34			102	H
35			R	M
36			D	M
37			H	H
38			113	H
39			L	M
40			118	M
41			121	M
42			123	H
43			Camaño	<i>Zalophus</i>
44	129	M		
45	131	H		
46	134	M		
47	137	M		
48	P	M		
49	142	H		
50	145	M		
51	148	M		
52	151	H		
53	F	H		
54	Santiago / "Puerto Egas"	<i>Arctocephalus</i>	158	H
55			162	M
56			165	M
57			167	H
58			Q	H
59	Mosquera	<i>Zalophus</i>	7	H
60			11	M
61			15	H
62			28	M
63			32B	H
64			36	H
65			41	M
66			46	M
67			51	H

Cuadro 3. LISTADO DE SUEROS UTILIZADOS PARA LA AM, ESPECIFICANDO EL NÚMERO DE SUEROS, PROCEDENCIA, GÉNERO, IDENTIFICACIÓN (ID) Y SEXO. (CONTINUACIÓN)

NÚM.	ISLA / LOBERA	GÉNERO	# SUERO	SEXO
68	Isabela/ "Punta Vicente / Roca"	<i>Arctocephalus</i>	84	H
69			83	H
70			82	H
71			81	H
72			80	M
73			79	H
74			78	H
75			77	M
76	Fernandina / "Punta Espinosa"	<i>Zalophus</i>	18	H
77			17	M
78			16	H
79			15	M
80			14	M
81			13	M
82			12	H
83			11	H
84	Isla Fernandina / "Cabo Hammond"	<i>Arctocephalus</i>	27	M
85			26	H
86			25	H
87			24	M
88			23	M
89			22	M
90			21	M
91			20	H
92			19	M
93	Floreana / "Bahía Post - Office"	<i>Zalophus</i>	76	M
94			75	H
95			74	M
96			73	H
97			72	M
98			71	M
99			70	M
100			69	H
101			68	M

Cuadro 3. LISTADO DE SUEROS UTILIZADOS PARA LA AM, ESPECIFICANDO EL NÚMERO DE SUEROS, PROCEDENCIA, GÉNERO, IDENTIFICACIÓN (ID) Y SEXO. (CONTINUACIÓN)

NÚM.	ISLA / LOBERA	GÉNERO	# SUERO	SEXO
102	Española / "Punta Suárez"	<i>Zalophus</i>	59	H
103			58	M
104			57	H
105			56	H
106			55	M
107			54	H
108			53	H
109			52	H
110			51	H
111			50	H
112			Española / "Islote Gardner"	<i>Zalophus</i>
113	66	M		
114	65	M		
115	64	M		
116	63	M		
117	62	M		
118	60	M		
119	San Cristóbal / "Isla Lobos"	<i>Zalophus</i>	36	H
120			35	H
121			34	M
122			33	H
123			32	M
124			31	M
125			30	M
126			29	H
127			28	M
128	San Cristóbal / "Zona Naval"	<i>Zalophus</i>	10	H
129			9	H
130			8	H
131			7	M
132			6	M
133			5	H
134			4	M
135			3	M
136			2	M
137			1	M

Cuadro 3. LISTADO DE SUEROS UTILIZADOS PARA LA AM, ESPECIFICANDO EL NÚMERO DE SUEROS, PROCEDENCIA, GÉNERO, IDENTIFICACIÓN (ID) Y SEXO. (CONTINUACIÓN)

NÚM.	ISLA / LOBERA	GÉNERO	# SUERO	SEXO
138	Isla Santa Cruz / "Plaza sur"	<i>Zalophus</i>	49	H
139			48	H
140			47	H
141			46	M
142			45	H
143			43	M
144			42	H
145			40	M
146			39	M
147			38	H

Cuadro 4. LISTA DE SEROVARIEDADES DE *Leptospira* UTILIZADAS EN LA PRUEBA DE AM

ESPECIE	SEROGRUPO	SEROVARIEDAD	CEPA
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	Jez-Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis	Castellon -3
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus-127
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Paidjan	Paidjan
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond-Utrecht IV
<i>L. weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522C
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Lai	Lai
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjo	Hardjobovis LT1085
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi	3207
<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc 1 ISG **
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin

Cuadro 5. RESULTADOS DE LA AM POR ISLAS Y AÑOS (ID=IDENTIFICACIÓN)

San Cristóbal / "La lobería", 17-02-2002 (*Z. c. californianus*)

ID	Aus.	Aut.	Bcas.	Bmus.	Bat.	Bra.	Can.	Cell.	Cyn.	Gri.	Hbov.	Hpra.	Heb.	Ict.	Lai	Pat.	Pom.	Pyr.	Tar.	Wol.
S	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-
M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-
I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:320	1:20	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:320	-	-	-	-
N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-

San Cristóbal / "Isla lobos", 19-02-2002 (*Z. c. californianus*)

ID	Aus.	Aut.	Bcas.	Bmus.	Bat.	Bra.	Can.	Cell.	Cyn.	Gri.	Hbov.	Hpra.	Heb.	Ict.	Lai	Pat.	Pom.	Pyr.	Tar.	Wol.
29	-	1:20	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:160	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ñ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:80	-	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-
73	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-

Cuadro 5. RESULTADOS DE LA AM POR ISLAS Y AÑOS (CONTINUACIÓN)

Fernandina / "Punta Espinosa", 28-02-2003 (*Z. c. californianus*)

ID	Aus.	Aut.	Bcas.	Bmus.	Bat.	Bra.	Can.	Cell.	Cyn.	Gri.	Hbov.	Hpra.	Heb.	Ict.	Lai	Pat.	Pom.	Pyr.	Tar.	Wol.
11	1:80	1:40	1:20	-	-	1:20	1:20	-	1:20	1:40	1:40	-	1:20	-	-	1:20	-	-	-	-
12	1:80	1:80	-	-	1:20	1:20	1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	1:20	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-	-	1:20	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:80
15	1:20	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	1:20	-	-	1:80	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-	-	-	-
18	-	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	1:80

Fernandina / "Cabo Hammond", 01-03-2003 (*A. galapagoensis*)

ID	Aus.	Aut.	Bcas.	Bmus.	Bat.	Bra.	Can.	Cell.	Cyn.	Gri.	Hbov.	Hpra.	Heb.	Ict.	Lai	Pat.	Pom.	Pyr.	Tar.	Wol.
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	1:160
27	1:80	-	-	-	1:40	-	-	-	1:40	-	-	1:20	-	1:20	-	-	-	-	1:40	1:80

Cuadro 5. RESULTADOS DE LA AM POR ISLAS Y AÑOS (CONTINUACIÓN)

Española / "Islote Gardner", 04-03-2003 (*Z. c. californianus*)

ID	Aus.	Aut.	Bcas.	Bmus.	Bat.	Bra.	Can.	Cell.	Cyn.	Gri.	Hbov.	Hpra.	Heb.	Ict.	Lai	Pat.	Pom.	Pyr.	Tar.	Wol.
60	-	-	-	-	-	-	1:80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	-	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-
66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	-	1:40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	-	-	-	1:20	-	-

San Cristóbal / "Isla Lobos", 05-03-2003 (*Z. c. californianus*)

ID	Aus.	Aut.	Bcas.	Bmus.	Bat.	Bra.	Can.	Cell.	Cyn.	Gri.	Hbov.	Hpra.	Heb.	Ict.	Lai	Pat.	Pom.	Pyr.	Tar.	Wol.
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:40	-	-	1:20	-	-
31	1:20	-	-	-	-	-	1:20	-	1:40	-	-	1:160	1:40	-	1:80	1:80	-	-	1:40	1:160
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	1:20	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:80	-	-	-	-

Cuadro 7

A. ISLAS CON SEROVARIEDADES EN COMÚN MUESTREADAS EN EL AÑO 2002

ISLA	LOBERAS	Aus.	Aut.	B.cas.	Can.	Cell.	Gri.	H.bov	H.pra	Heb	Ict	Lai	Pat	Tar	Wol
San Cristóbal	La lobería	X						X			X		X	X	
	Isla Lobos	X	X			X		X		X		X	X	X	
	Zona Naval	X					X		X	X	X	X	X		
Santa Fe		X			X	X			X	X		X		X	
Camaño		X	X		X		X	X	X	X		X	X		
Santiago	Puerto Egas	X	X	X		X		X			X			X	
Seymour	Mosquera	X		X	X		X			X			X		X

B. ISLAS CON SEROVARIEDADES EN COMÚN MUESTREADAS EN EL AÑO 2003

ISLA	LOBERAS	Aus.	Aut.	B.cas.	Bat.	Can.	Cyn.	Gri.	H.bov	H.pra	Heb	Ict	Lai	Pat	Pyr	Tar	Wol
Isabela	Punta Vicente Roca													X			
Fernandina	Punta Espinosa	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X		X		X	X
	Cabo Hammond	X			X		X			X	X	X				X	X
Floreana	Bahía Post Office	X								X	X			X			
Española	Punta Suárez	X	X						X		X						
	Islote Gardener		X			X				X					X		
San Cristóbal	Isla Lobos	X				X	X			X	X		X	X	X	X	X
	Zona Naval	X	X			X		X			X			X			X
Santa Cruz	Plaza Sur	X	X	X	X		X	X	X	X			X	X	X		

Cuadro 8. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON OTROS REGISTROS.

Referencia	Lugar	Año	Seroprevalencia.	Serovariedades más comunes	Serovariedades con título más alto	Observaciones
Gulland FM ²	Costa de California, Estados Unidos de América	1981-1994	33% (764/2338)	Pomona	Pomona (1:3,200)	Estudio serológico y asilamiento
Godinez CR ¹³	Golfo de California, México	1994-1996	32% (41/125)	Hardjo, Cynopteri y Ballum	Hardjo y Sejroe (1:320)	Estudio serológico
Collagos-Schouten AM ⁵³	Costa de California, Estados Unidos de América	1996	38.20% (62/225)	Pomona	Pomona (1:3,200)	Estudio serológico
Mackereth GF ⁵⁵	Península de Otago, Nueva Zelanda	2001	4.50% (5/110)	Canicola, Hardjo y Pomona	Pomona (1:12,800)	Estudio serológico
Parás A ⁵⁴	Islas Galapagos Ecuador	2002	71%	Canicola y Hardjo	Canicola y Hardjo (1:200)	Estudio serológico
Este trabajo	Islas Galápagos, Ecuador	2002-2003	44.21% (65/147)	Australis, Hebdomadis y Patoc	Patoc y Pyrogenes (1:320)	Estudio serológico
Pedernera C ¹¹	Golfo de California, México	2004	99% (105/106)	Patoc, Ballum Hebdomadis	Sin dato	Estudio serológico