



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

***SEROPOSITIVIDAD DE Leptospira interrogans PRESENTE EN
PERROS CALLEJEROS Y VACUNADOS EN EL SUR DE LA
CIUDAD DE MÉXICO.***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

Leonor Benítez Velázquez

ASESORES:

M.V.Z. Blanca Rosa Moreno Cardenti.

Dr. Benito López Baños.

Q.B.P. Rosario García Suarez.

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis :

"Seropositividad de *Leptospira interrogans* en
perros callejeros y vacunados en el sur de la
Ciudad de México".

que presenta la pasante: Leonor Benítez Velázquez
con número de cuenta: 093034573 para obtener el título de :
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Noviembre de 2008

PRESIDENTE Dr. Juan Antonio Montaraz Crespo

VOCAL MVZ Blanca Rosa Moreno Cardenti

SECRETARIO Dr. Juan Carlos del Río García

PRIMER SUPLENTE MVZ Rigoberto Hernández Hernández

SEGUNDO SUPLENTE MVZ Sergio Waldo Tello

DEDICATORIA

A mis padres, que sin ellos no podría estar y ser ahora lo que soy, que este trabajo lo sientan tan suyo, porque es resultado del esfuerzo y del amor incondicional que siempre me han brindado.

A mis hijos; con todo mi amor, por ser mi motivo y quienes me impulsan a seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Por darme la gracia de vivir, por el lugar y momento en el que me envió a este mundo bendiciéndome al cuidado de mis padres.

A MI SANTY: Por todo tu cariño y darme muchas veces la luz; para alumbrar mi camino, porque nunca flaqueas y no te dejas vencer, este triunfo también es tuyo.

A MARLENNE FERNANDA: Gracias por ser una nueva esperanza en mi mundo, que ilumino nuestras vidas, por darnos una gran lección de vida; demostrándonos a todos que cuando uno quiere vivir, no importan las adversidades, uno debe seguir.

A MIS PADRES: Ma. Eugenia y Santiago, que sin ellos no podría existir, por todo su amor, cuidados y desvelos, el sacrificio que han hecho por nosotros, no tengo palabras para agradecer y decir lo mucho que ustedes significan para mi, gracias por ser mi respaldo, por su vida entregada a protegernos, son un ejemplo a seguir, los amo. Mami ya eres toda una universitaria.

A MIS HERMANOS: Santiago y Maru; mi chachito y mi pequeñuela que les puedo decir que no sea gracias por estar siempre a mi lado, por su apoyo, por su cariño, por compartir tantas aventuras juntos, porque aunque es grande la distancia; en el corazón siempre estaremos juntos, los amo con toda mi alma, gracias y mil veces gracias, porque sin ustedes nada sería igual.

PEPHY, PAQUITO Y KENYA: Mis niños lindos, gracias por su cariño, por su alegría y por que sin querer me dieron más de lo que uno puede desear.

FRANCISCO Y ARGELIA: Gracias por su apoyo y su cariño, que durante esta guerra ustedes estuvieron presentes en tantas batallas, por no dejarme sola y ayudarme a realizar este sueño, mil gracias por ser parte de mi familia.

CRISTY: Mi Nanny, todo lo que me has enseñado, tu cariño y apoyo, con nada te lo puedo pagar, tan solo te puedo decir gracias, porque siempre me has brindado tu mano para seguir, quiero que sepas que eres como una hermana para mi, te quiero mucho.

TIOS, PRIMOS Y SOBRINOS: Muchas gracias tios, por estar al pendiente de mí, por su preocupación por mí y por mis hijos. Gracias tía Cris por tus consejos, tu cariño y tus bendiciones, a mis primos por tantas penas y alegrías compartidas y a mis sobrinos porque nos dan la sal y el azúcar en nuestras vidas. No quisiera decir más nombres, para no omitir a nadie, porque todos han formado una parte importante en mi vida. Desde los que se encuentran aquí en el D.F. hasta Guadalajara, San Luis Potosí, Monterrey, Irapuato. A todos gracias por tanto cariño, que en esta vida no podría pedir más.

JAVIER CAAMAÑO: Pollito, a ti te debo la mitad de mi tesis, que sin tu apoyo no se que hubiera hecho, gracias por todo tu cariño y sobretodo privilegiarme con tu amistad, por escucharme, por comprenderme y no juzgarme, gracias por estar siempre ahí.

A MIS AMIGOS MIRIAM, ISRAEL Y TOÑO: Gracias por todas las aventuras que vivimos durante nuestra estancia en la universidad, desde la nave de pavos, hasta un pisotón de vaca, todos esos momentos tristes y alegres compartidos nunca los olvidaremos y los llevaremos siempre en el corazón, porque al entrar a la universidad, buscando hacer una carrera, resulta que encontré algo mejor, que es su amistad. Gracias.

A MIS MAESTROS: Por todos sus conocimientos dados como un libro abierto, Blanquita; gracias, porque más allá de ser mi maestra y asesora de tesis eres una gran amiga. Marco Mendoza; gracias por tu cariño y por tu disposición para ayudarme siempre, sin importar que tan ocupado estabas. Rigo; gracias por creer y confiar en mí, creo que no te defraude, dime quien te quiere más que yo?. Rosario; gracias por apoyarme y enseñarme todo lo que sabes para poder realizar mi tesis; pero sobre todo porque a raíz de esto ha surgido una linda amistad. Dr. Benito; gracias por todo su apoyo y su interés puesto en mí, siendo una pieza clave para realizar éste trabajo. Dr. Tagle; gracias por brindarme sus conocimientos, pero sobre todo por otorgarme su amistad.

Gracias; a todos aquellos que estuvieron conmigo presentes a lo largo de ésta travesía, desde mis compañeros de la universidad, hasta Angela, Jorge, José Luis y Carinda en el laboratorio de leptospirosis del InDRE que me brindaron todo su apoyo y conocimiento para mi capacitación y sobre todo me brindaron su amistad. A mis amigas del Salesiano y del Anglo Español, que creyeron en mí y me motivaron para seguir adelante y no dejaron que me vencieran los obstáculos, a todos mis amigos que han estado aquí echándome siempre porras GRACIAS, al igual que a todos aquellos que no creyeron en mí, también les doy las gracias, pues al picar la cresta me hicieron sacar la casta, por eso también, gracias.

Quiero dar un especial agradecimiento al consultorio Mon Petit Suri (M.V.Z. Cristina Tercero), a la Clínica Campestre (M.V.Z. Ángel Sandoval), a los criaderos “Angelfire”, “Ricmart” y “Mc Roc” por su confianza para poder realizar este trabajo, al igual que al centro de control canino Dr. Angellini de la Garza por todo el apoyo para obtener las muestras necesarias para el estudio. Al Instituto de diagnóstico y referencia epidemiológica (InDRE) por darme todas las facilidades para realizar el procesamiento de las muestras. Y por supuesto a mi Alma Mater la Universidad Nacional Autónoma de México, que es un orgullo y un honor ser egresada de la máxima casa de estudios la UNAM.

Pensándolo bien...

Ser veterinario no es solamente cuidar a los animales. Es sobre todo, amarlos no fijándonos en los patrones éticos de una ciencia médica.

Ser veterinario es acreditar la inmortalidad de la naturaleza y querer preservarla siempre más bella.

Ser veterinario es oír los maullidos, mugidos, balidos, relinchos, cacaraqueos y ladridos y sobre todo interpretarlos y entenderlos. Es gustar de la tierra mojada, del campo, del monte, de los espacios abiertos, de lunas, estrellas y lluvias.

Ser veterinario es no importar si los animales piensan, pero si sufren. Es dedicar parte de tu ser al arte de salvar vidas.

Ser veterinario es aproximarse a los instintos. Es perder los miedos. Es ganar amigos de pelos y plumas, que jamás te van a decepcionar.

Ser veterinario es detestar encierros y jaulas. Es perder un tiempo enorme apreciando rebaños, tropillas y vuelos de pájaros. Es descubrirse permanentemente a si mismo, a través de los animales.

Ser veterinario es ser capaz de entender meneos de cola, arañazos cariñosos y mordiscos de afecto.

Ser veterinario es ser capaz de entender ojos tristes, orejas caídas, narices calientes, inquietudes ó reposos anormales.

Ser veterinario es entender el lenguaje corporal de los animales, pedidos mudos de ayuda, interpretar gestos y actitudes de dolor y conocer la forma de aliviarlos. Es sentir olor de pelo mojado, de almohada con esencia de gato, de ovejas de corral, de estiércol.

Ser veterinario es tener el coraje de penetrar en un mundo diferente y ser igual. Es tener capacidad de comprender gratitudes mudas, más sin duda alguna, las únicas verdaderas. Es oler el aliento de un cachorro lactante y recordar la propia niñez.

Ser veterinario es convivir lado a lado con esperanzas profundas sobre amor y vida.

Ser veterinario es participar diariamente del milagro de la vida. Es convivir con la muerte, saber que es definitiva, pero no siempre desagradable.

Porque todos podemos estudiar veterinaria.....pero no todos seremos veterinarios.

*Traducido y adaptado de una publicación
del Colegio Federal de Veterinarios de Brasil 1996, por Manuel Godoy.*

Portada
Índice
Resumen
Introducción
2.1 Etiología
2.2 Características Bacteriológicas
2.3 Características antigénicas e inmunogénicas
2.4 Epidemiología
2.5 Patogénia
2.6 Diagnóstico
Hipótesis
Objetivos
 Objetivo General
 Objetivos particulares
Material y método
Resultados, discusión
Bibliografía
Anexos

Palabras clave: Leptospirosis, serovariedades, serogrupos, *Leptospira interrogans*, *Leptospira biflexa*, seropositividad, zoonosis, anticuerpos, microaglutinación, leptospiuria, Enfermedad de Weil, vacunación, prevención.

I. RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, febril, aguda, de distribución mundial causada por distintas serovariedades de *Leptospira interrogans* que es una bacteria en forma de espiroqueta. La enfermedad es endémica de países con clima tropical. Los síntomas más comunes en el humano son cefaleas, mialgias, sufusión conjuntival, insuficiencia renal y puede llegar a ser mortal. En los animales se presenta con temperatura elevada, ictericia, postración, poliuria, hematuria, insuficiencia renal ó hepática. Su diagnóstico clínico tanto en animales como en el humano se ve afectado, ya que sus síntomas son confusos con otras enfermedades bacterianas o virales.

Ya que los perros pueden actuar como portadores sanos, se realizó un estudio al sur de la Cd. De México, para observar la seropositividad de *Leptospira interrogans* en perros, con diferentes condiciones de hábitat dividiéndolos en dos grupos; uno de perros callejeros y otro de perros vacunados.

Se muestrearon 160 perros del centro de control canino Dr. Angellini De La Garza y 151 perros de casa que estuvieran vacunados y vivieran en la misma zona.

Para detectar los anticuerpos, se procesaron las muestras, utilizando la técnica de microaglutinación (MAT) que determina anticuerpos aglutinantes contra *Leptospira* en suero, utilizando un panel de diagnóstico de referencia nacional que consta de 23 serovariedades de *Leptospira interrogans* y 1 de *Leptospira biflexa*.

En los resultados se observaron que de los perros callejeros, 59 muestras fueron positivas; de las cuales 31 fueron positivas a más de una serovariedad, 100 negativas y una muestra insuficiente, basándonos en una titulación de anticuerpos de $\geq 1:80$.

Debido a que en los perros vacunados los niveles de titulación varían dependiendo el tiempo que a pasado entre la aplicación de la vacuna a la toma de la muestra; se realizó una clasificación por última fecha de vacunación, teniendo 12 muestras positivas en los últimos 6 meses, 56 en la clasificación de 6 meses un día y 7 muestras positivas en los perros vacunados fuera del esquema anual de vacunación; 22 muestras fueron positivas a más de una serovariedad, 108 negativas y una muestra insuficiente.

Se correlacionando ambos grupos; así como sus frecuencias, bajo los programas estadísticos SPSS11.0 y Kendall's TAU. Observándose que es independiente la condición de positivos y negativos entre ambos grupos, la serovariedad con mayor frecuencia fue Canicola y Lai Lai.

II. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad febril infecto-contagiosa de amplia distribución mundial, que afecta especialmente a mamíferos salvajes y domésticos (perros, caballos, osos, ratones, cerdos, bovinos, zorros, etc.) y al hombre. Esta enfermedad es más común de lo que se cree, su epidemiología está determinada por factores ecológicos tales como el clima y la naturaleza de sus reservorios. En general la leptospirosis se transmite en todas las épocas del año, sin embargo en regiones tropicales ó subtropicales la incidencia aumenta habitualmente en los meses de mayor precipitación pluvial y mayor actividad agrícola y recreacional (Faine, 2000; Vado *et al.*, 2002; Martínez, 2006).

Su origen se remota al año 2500 a.C. en que aparecen signos patológicos de la enfermedad en la literatura cuneiforme mesopotámica, también en papiros médicos de Egipto mencionan casos de leptospirosis. Louis Landouzy en 1883 reconoció y describió la leptospirosis humana, en 1886 Adolf Weil observó en trabajadores agrícolas alemanes, fiebre, ictericia, hemorragia, insuficiencia hepática y renal; la cual caracterizó como una enfermedad grave de alta mortalidad, para 1888 se le dio el nombre de Enfermedad de Weil. En 1889 en Cuba el Dr. Emilio Martínez y Martínez habló de la entidad nosológica y presentó 58 casos con cuadro icterohemorrágico y la toma renal característica, destacó la frecuencia en países tropicales, la forma epidémica y planteó que tenía forma de enfermedad infecciosa. El agente causal fue descubierto por los japoneses Inada e Ido en 1914 quienes lo reportaron como una espiroqueta, en 1918 Hideyo Noguchi investigando fiebre amarilla en Ecuador descubrió en la sangre de enfermos una espiroqueta que llamó leptospira icterodes. En 1919 se trasladó a Mérida y describió el primer caso de leptospirosis en México, 1958 se presentó el primer brote de leptospirosis en Kinchil y Tetiz en Yucatán. En ésta misma región el año de 1984 Jorge Zavala y colaboradores encontraron seropositividad humana en un 14.4 %, porcina en 23.3 % y bovina 11.3 % (Laguna, 2000; Martínez, 2006).

2.1 ETIOLOGÍA

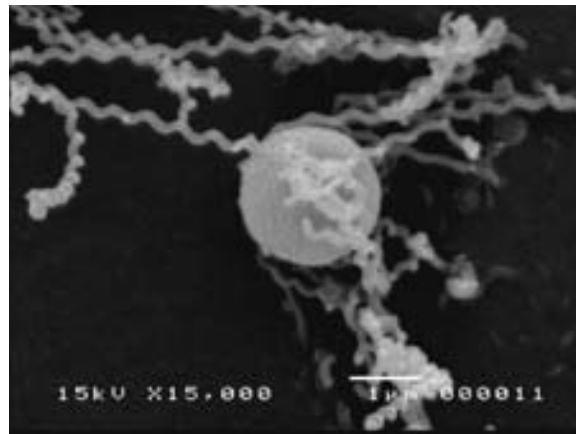
2.1.1. MORFOLOGÍA:

El agente infeccioso son las diversas serovariedades del género *Leptospira*, que son bacterias gram (-) muy finas, de 6 a 20 μm de largo y 0,1 a 0,2 μm de ancho, flexible, helicoidales, con las extremidades incurvadas en forma de gancho, extraordinariamente móviles, aerobias estrictas. Puede sobrevivir largo tiempo en el agua o en ambientes húmedos, templados y con un pH neutro ó ligeramente alcalino (Murray, 1996).

Las leptospiras se desplazan con movimientos de estiramiento y flexión en tanto giran alrededor de su eje largo (Collier; *et al.*, 1998; Greene, 2002).

Imagen 1. MORFOLOGÍA DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS*, VISTA EN MICROSCOPIO ELECTRÓNICO.

Dra. Araceli Patrón UNAM, QBP Rosario García Suarez InDRE



Como referencia, los filtros que se utilizan en los procedimientos de esterilización bacteriológicos habituales tienen un poro de 0.22 μm . Así, las leptospiras pueden pasar a los productos esterilizados por filtración y esta propiedad se utiliza para purificar las cepas aisladas. Otro ejemplo a título comparativo es que algunos *poxvirus* tienen un diámetro superior a 0.3 μm . Para visualizar leptospiras vivas debe utilizarse un microscopio con campo oscuro; la visualización con el microscopio normal sólo es posible después de una tinción metálica (argéntica) ó del engrosamiento artificial mediante una “tinción” con inmunoperoxidasa ó inmunofluorescencia (Fontaine, 2002).

2.1.2 TAXONOMÍA:

A lo largo de los años han surgido diferentes clasificaciones en relación a las bacterias del género Leptospira a continuación se describen varias de estas desde 1962 hasta la fecha, donde mencionamos 7 diferentes clasificaciones todas éstas muy relacionadas entre si, sin embargo se utilizará la referencia nacional e internacional, que se describe en el inciso “G”.

A) El grupo científico de la OMS sobre leptospirosis en 1962 y el subcomité de taxonomía de la leptospira en 1963, recomendaron que se reconocieran dos especies: L. Biflexa (representada por las cepas saprofitas) y la L. interrogans (representada por las cepas patógenas). Se observó que a esta clasificación no se adaptaban ciertas cepas de leptospirosis parasíticas entre otras inconveniencias, buscando en un futuro mejores sistemas de clasificación. La serovariedad es la unidad taxonómica básica y está representada por una cepa de referencia. Las bases para la clasificación de las leptospirosis en serotipos las constituyen las diferencias tecnológicas reveladas por las reacciones de aglutinación con sueros preparados en conejos. El serogrupo, no es una subdivisión taxonómica; tiene un valor práctico para seleccionar los antígenos y antisueros, respectivamente, necesarios para el examen sistemático de sueros y gérmenes aislados y, por consiguiente, para el diagnóstico e investigaciones (Figuroa, 1984). La unidad taxonómica básica (taxón Básico) anteriormente llamado serotipo actualmente se le llama serovariedad, es una denominación intrasub-específica, por ejemplo: es incorrecto referirse a Leptospira Pomona porque se le asigna una categoría de especie a una sub-específica, lo correcto es Leptospira interrogans serovariedad Pomona. Mientras la serovariedad es el taxón base, el serogrupo es un ordenamiento que solo tiene fin didáctico, es decir que en la clasificación real no aparece, solo existe el serovar, agrupándose en los serogrupos, leptospirosis con similitud antigénica entre ellas (Figuroa, 1984).

B) Clasificación taxonómica de Leptospira (T.S.C., 1986).

División: *Procarriotes*.

Familia: *Leptospiraceae*.

Clase: *Schizomicetes*.

Género: *Leptospira*.

Orden: *Spirochaetales*.

Especies: *L. interrogans*, *L. biflexa*

C) En 1996 se da otra clasificación diciendo que éste género consta de dos especies: *Leptospira interrogans* que a su vez se divide en 19 serogrupos y 172 serotípos y *Leptospira biflexa* con 38 serogrupos y 65 serotípos. *L. interrogans* es patógeno para muchos animales salvajes y domésticos, así como para el hombre. *L. biflexa* es un saprofito de vida libre que asienta en ambientes húmedos y no provoca enfermedad (Murray, 1996).

D) En el 2000 se dice que las leptospiras son treponemas pertenecientes al *Phylum Spirochaetes*, Familia *Leptospiraceae*, las cuales se agrupan en el género *Leptospira* que cuenta con 12 especies, de las cuales sobresalen dos: *L. interrogans* que a su vez se divide en 31 serogrupos y 202 variantes serológicas, denominadas serovariedades y *L. biflexa* con 38 serogrupos y 65 serovariedades. La agrupación en serogrupos, también llamado taxón artificial, se basa en los componentes aglutinogénicos que comparten; las serovariedades, son los que constituyen el taxón básico. La especie *L. interrogans* es patógena para el hombre y para los animales, mientras que *L. biflexa* es de vida libre, se encuentra en aguas superficiales y raramente es asociada con infecciones en mamíferos (De la Rosa, 2000).

E) Para el 2002 su clasificación taxonómica se basa por su capacidad patógena, y también por sus antígenos reconocidos en conejos. Debido a que ésta clasificación básica no es satisfactoria, en la actualidad se realiza otra clasificación geonómica distinguiéndose cinco especies geonómicas patógenas. El punto débil de ésta nueva clasificación es la dificultad para establecer una relación práctica con la patología y, sobre todo, con la serología de los animales infectados ó vacunados. Por ello, en la práctica se sigue empleando la clasificación antigua. En ésta última se definen dos especies del género *Leptospira*; la especie *interrogans*, que agrupa a todas las cepas patógenas, y la especie *biflexa*, que agrupa a las cepas saprofitas (Fontaine, 2002).

La especie *interrogans* se compone de más de 200 serovariedades, clasificadas en 23 serogrupos. La serovariedad es el taxón básico: se trata de cepas serológicamente diferentes, pero que, por su homología antigénica relativa, pueden agruparse en serogrupos. Los serogrupos se forman según las homologías antigénicas reconocidas en el conejo. Esta taxonomía es importante para la prevención médica y también para los estudios diagnósticos y el cribado serológico (Fontaine, 2002).

F) El agente etiológico de la leptospirosis pertenece al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*, que comprende 2 especies: *L. interrogans*, patógena para los animales y el hombre y *L. biflexa*, que es de vida libre. *L. interrogans* se divide en más de 210 serovariedades y 23 serogrupos. Esta clasificación tiene importancia epidemiológica ya que el cuadro clínico y en general la virulencia no se relaciona con la serovariedad. Recientes estudios genéticos han permitido demostrar que la taxonomía del género *Leptospira* es más compleja, habiéndose podido diferenciar 8 especies patógenas y 5 no patógenas (Braselli, 2002).

G) La clasificación más reciente es Género; *Leptospira*, Familia; *Leptospiraceae*, Orden; *Spirochaetales*. Y las especies se presentan en el siguiente cuadro:

**Tabla 1. CLASIFICACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO LEPTOSPIRA
INTERROGANS**
(MALTA, 2003)

ESPECIES	PRINCIPALES SEROGRUPOS
<i>L.alexanderi</i> (genomospecies 2)	Hebdomadis, Manhao
<i>L.borgpetersenii</i>	Ballum, Javanica, Sejroe, Tarassovi
<i>L.interrogans</i> sensu stricto	Australis, Autumnalis, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Sejroe
<i>L.kirschneri</i>	Autumnalis, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae
<i>L.noguchi</i>	Australis, Icterohaemorrhagiae
<i>L.santarosai</i>	Hebdomadis, Mini, Pyrogenes, Sejroe, Tarassovi
<i>L.weilii</i>	Celledoni, Javanica, Tarassovi
<i>L.fainei</i> ^a	Hurstbridge
<i>L.inadai</i> ^a	Lyme, Manhao
<i>L.meyeri</i> ^a	Javanica, Mini, Sejroe
<i>L.biflexa</i> sensu stricto ^b	Andamana
<i>L.wolbachi</i> ^b	Codice, Semarang

Turneria parva ^b (formerly L.parva)	Turneri
Leptonema illini ^b	“Leptonema”
Genomospecies 1 ^a	Saprophytic serogroup Ranarum
Genomospecies 3 ^b	Saprophytic tentative serogroup Holland
Genomospecies 4	Icterohaemorrhagiae
Genomospecies 5 ^b	Saprophytic serogroup Ranarum

(a) Estado patogénico no claro. (b) Saprofitos/otro género.

Tabla 2. CLASIFICACIÓN DE LOS SEROVARIEDADES DE *LEPTOSPIRA* UTILIZADOS COMO ANTIGENO EN EL PANEL DE DIAGNÓSTICO EN EL LABORATORIO DE LEPTOSPIROSIS DEL InDRE, 2006.

No. Lab	SEROGRUPO		SEROVAR	CEPA
1	Australis	1	Ballico	
2			Bratislava	Jez – bratislava
3			Muenchen	C90
4	Autumnalis	2	Automnalis	Akiyami A
5	Ballum	3	Ballum	Mus – 127
6	Bataviae	4	Bataviae	Van tiene
7	Canicola	5	Canicola	Hond Utrecht IV
8	Celledoni	6	Celledoni	Celledoni
9	Cynopteri	7	Cynopteri	3522C
10	Djasiman	8	Djasiman	Djasiman
11	Grippotyphosa	9	Grippotyphosa	Moskova V
12	Hebdomadis	10	Borinicana	HS-622
13	Icterohaemorrhagiae	11	Icterohaemorrhagiae	Wijnberg
14			Lai	Lai
15	Mini	16	Mini	Sari
16	Panama	17	Panama	CZ 214 K
17	Pomona	18	Pomona	Jonson
18			mosdok	5621
19	Pyrogenes	19	Pyrogenes	Salinem
20	Sejroe	22	Hardjo LT	1085
21			wolffi	3705
22	Shermani	23	Shermani	1342 K
23	Tarassovi	24	Tarassovi	Perepelitsin
24	Semaranga	28	Patoc	Patoc 1

2.2 CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS:

Las leptospiras son bacterias compuestas por un cilindro protoplásmico enredado en un filamento axial central (Greene, 2002). Es muy exigente el cultivo, por lo tanto, si se solicita un cultivo hay que indicar la enfermedad que se sospecha, porque en los medios bacteriológicos habituales no es posible cultivar leptospiras (Fontaine, 2002).

El tiempo de replicación para dar un cultivo como positivo es después de un período de hasta tres o cuatro meses, además, las leptospiras son muy frágiles y se lisan con gran rapidez, se ha observado en la orina que estas bacterias duran solo algunas horas y en los tejidos hasta 48 horas. La susceptibilidad al pH afecta su supervivencia, los medios ligeramente alcalinos son favorables y la acidez las destruye, se debe recordar que en el tejido con necrosis generalmente se produce un pH ácido (Fontaine, 2002).

2.3 CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS E INMUNOGÉNICAS:

Se entiende como antígeno (Ag) cualquier molécula que puede ser reconocida específicamente por cualquiera de los componentes del Sistema Inmunológico; en un sentido más restrictivo se entiende como Ag cualquier molécula capaz de inducir la producción de anticuerpos específicos (Antigenicidad), por lo general los antígenos son proteínas diferentes a las del huésped, por eso son extrañas y generan una actividad inmunológica que inicia con la presentación del antígeno para posteriormente generar a partir de los linfocitos B una serie de células (plasmáticas) encargadas de la formación de anticuerpos IgG e IgM para neutralizar bacterias (Tizard, 1998).

La antigenicidad de las leptospiras depende de la variación en sus lipopolisacáridos (LPS), lo cual determina la especificidad de la respuesta inmune; es la base de la clasificación serológica que diferencia las variantes serológicas en serovariedades (Malta, 2003).

Las leptospiras patógenas pueden ser distinguidas entre ellas en base a su unidad sistémica que es la serovariedad, la cual está definida sobre las bases de las antigenidades similares y diferentes como es revelado por la llamada prueba de aglutinación cruzada por absorción. Cada serovariedad tiene una cubierta antigénica característica (Malta, 2003).

Hay muchas serovariedades que tienen antigenicidad similar y están formadas dentro de serogrupos con más de 200 serovariedades patogénicas, divididas en 25 serogrupos. Diferentes cepas con diferencias antigénicas pequeñas pueden algunas veces ser encontradas dentro de ciertas serovariedades (Malta, 2003).

2.3.1. IMPORTANCIA DEL CONCEPTO DE SEROVARIEDAD:

La importancia es por su comportamiento epidemiológico, ya que una cierta serovariedad puede desarrollar una relación de comensal patológicamente leve, en un cierto tipo de huésped animal, por ejemplo el ganado está frecuentemente asociado con la serovariedad Hardjo; mientras que los porcinos están más relacionados con la serovariedad Pomona (Malta, 2003).

2.3.2. LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS:

Los anticuerpos de IgM usualmente aparecen en una etapa más temprana que los anticuerpos de IgG y generalmente se mantienen por meses o inclusive años, pero en títulos más bajos (Malta, 2003).

La detección de anticuerpos IgG es más variable, éstos algunas veces no son detectables en absoluto, o se detectan solo por períodos cortos de tiempo, pero algunas veces pueden persistir por muchos años (Malta, 2003).

Los anticuerpos se forman directamente contra antígenos comunes, llamados “antígenos específicos de género”, los cuales son compartidos por todas los tipos de leptospiros, tanto patogénicas como saprofitas y antígenos específicos de serovariedad y serogrupo (Malta, 2003).

Los pacientes con leptospirosis pueden producir anticuerpos que reaccionan con varias serovariedades, éste fenómeno es llamado “reacción cruzada” y frecuentemente se observa en la fase inicial de la enfermedad. Después de la enfermedad aguda los anticuerpos de reacción cruzada gradualmente desaparecen conforme la respuesta inmune madura, usualmente en el curso de semanas a meses, mientras que los anticuerpos de serovariedad ó serogrupo específicos persisten por años (Malta, 2003).

En perros con títulos positivos por lo general tienen sueros que reaccionan en forma cruzada a diversas serovariedades; se considera que el título más alto es el que ocasiona la infección y los más bajos representan reactividad cruzada de anticuerpos entre las serovariedades; por ejemplo: en perros con infección natural y/o experimental con la

serovariedad Grippotyphosa, el título más alto es contra ésta serovariedad y con títulos más bajos se encuentran otras serovariedades como Pomona y Bratislava (Greene, 2002).

2.4 EPIDEMIOLOGÍA

Existen casos de leptospirosis canina, al menos de formas agudas en perros de origen urbano, aunque no son raras las formas graves, incluso en los animales vacunados. En todo caso, los casos fatales son todavía frecuentes en los perros de origen rural. No se dispone de datos sobre la incidencia de las formas moderadas de pronóstico favorable. Estas infecciones, aunque sean inaparentes, son frecuentes también en las zonas urbanas, ya que del 19 al 38% de los perros urbanos están en contacto con las leptospiras, y su incidencia aumenta en verano y otoño (Fontaine, 2002).

2.4.1. FUENTES Y MATERIAS VIRULENTAS:

Al ser excretada por la orina de los animales enfermos, es capaz de contaminar pastizales, pantanos, tierra, aguas de manantiales y ríos. Tanto el hombre como los animales se pueden contaminar de forma directa con la orina ó de forma indirecta teniendo contacto con estos lugares (Faine, 2000).

Las leptospiras se transmiten entre animales por contacto directo o indirecto. La transmisión directa ocurre por contacto con orina infectada, transferencia venérea y placentaria, heridas por mordeduras o ingestión de tejidos infectados. Las ratas y los ratones son susceptibles a la infección y actúan como reservorios primarios de la infección para *L. icterohaemorrhagiae*. La gran tendencia a difundir de los contagios por *L. canicola* en los perros puede explicarse por la costumbre que tienen de morder objetos duros que, con frecuencia, están contaminados por orina de otros perros. Además, suelen beber orina o agua contaminada, lamerse los genitales, etcétera (Greene, 2002; Basurto, 2003).

La diseminación directa de la infección aumenta por el apiñamiento de animales como el que sucede en las perreras. Los perros que se recuperan excretan microorganismos por la orina en forma intermitente durante meses después de la infección. Las leptospiras no se replican una vez que se hallan fuera del huésped. La transmisión

indirecta ocurre por exposición de animales susceptibles a fuentes de agua, suelo alimento o la cama de los animales contaminada, ésta puede aumentar cuando los factores ambientales que favorecen la supervivencia de la bacteria son óptimos (Greene, 2002).

Los bovinos pueden ser portadores renales durante meses, incluso años. Los perros en la fase septicémica, pueden ser una fuente de contaminación para las personas que los manipulan. El animal es un riesgo para el hombre, sobre todo en el momento de la excreción urinaria en la evolución clínica y probablemente en las infecciones subclínicas. Por lo tanto la orina es el material virulento por excelencia, porque contamina el medio ambiente, en particular el agua, y ésta es una fuente secundaria muy importante epidemiológicamente hablando, un medio acuoso ligeramente alcalino, rico en materias orgánicas, con una temperatura de 19 a 30 °C y protegido del efecto inactivador de los rayos ultravioletas, favorece la supervivencia de leptospiras. En cambio la orina de los perros, con frecuencia es ácida, sólo es virulenta durante un tiempo limitado. Las concentraciones de agua estancada, ricas en materia orgánica, son el medio de conservación idóneo para las leptospiras (Fontaine, 2002).

Aunque no es esencial las aguas ligeramente calientes estancadas ó con un movimiento lento proporciona un hábitat adecuado para las espiroquetas. En consecuencia los brotes de la enfermedad suelen aumentar en los períodos de inundaciones. En áreas áridas o durante las sequías las infecciones se dan en huéspedes accidentales alrededor de fuentes de agua (Greene, 2002)

El perro es una de las víctimas de las leptospirosis, y aún así se infectan y excretan leptospiras otras muchas especies, tanto si la enfermedad se expresa clínicamente como si la infección pasa desapercibida. Los roedores portadores, sobre todo la rata (*Rattus norvegicus*) y el ratón (*Mus musculus*), son bien conocidos y estos como la nutria pueden ser diseminadores de leptospiras de diferentes serogrupos (Fontaine, 2002).

Limitar el reservorio de leptospiras al orden de los roedores es demasiado restrictivo. Las liebres son portadoras de *L. Grippotyphosa*, los erizos están infectados con frecuencia por el grupo *Australis*, los jabalíes, los rumiantes salvajes como los corzos o ciervos y los zorros son infectados por diversos grupos de leptospiras como *Icterohaemorrhagiae*, *Automnalis*, *Australis*, *Sejroe*, *Ballum*. Los animales infectados que sobreviven son excretores urinarios potenciales (Fontaine, 2002).

Imagen 2. EPIDEMIOLOGÍA



2.4.2. FACTORES DE RECEPTIVIDAD Y SENSIBILIDAD:

En los perros no parece que la raza sea un factor de receptividad o sensibilidad, salvo en lo que respecta a las diferencias de comportamiento: los perros atraídos por el agua y los perros de caza, están particularmente expuestos a la leptospirosis.

En cambio, la edad sí es un factor de sensibilidad, la leptospirosis es generalmente mortal en los perros menores de tres meses. El estado inmunitario del animal es un factor relevante para la sensibilidad: un perro correctamente vacunado contra la leptospirosis debe resistir una infección, aunque sea masiva (Fontaine, 2002).

2.4.3. ZOONOSIS:

El ser humano ha estado en contacto con una gran variedad de animales: algunos se han domesticado para facilitar el trabajo ó para asegurar el sustento, otros se han cazado para fuente de alimento o por deporte, algunos más se han traído al hogar como mascotas o involuntariamente como fauna no deseada; así pues, desde el ángulo que se

vea, los animales y sus productos están relacionados con nuestras vidas. Desafortunadamente, muchas enfermedades que afectan a la humanidad son producidas por agentes patógenos que se transmiten indistintamente entre los seres humanos y los animales vertebrados. Estas enfermedades se conocen como **zoonosis** (De la Rosa, 2000).

El impacto que tiene la zoonosis va más allá del efecto sobre la salud humana; porque además de la salud, la enfermedad repercute en los índices de morbilidad y mortalidad de los animales que son de consumo para el hombre, por lo que se afecta su economía ya que dependen de estos productos para sobrevivir.

Las medidas de prevención y control de esta enfermedad se ven limitadas por varios factores como: El crecimiento desmedido de las poblaciones humanas en áreas antes inhabitadas ó rurales y el contacto con los animales silvestres. El desplazamiento, transporte y comunicación permiten su distribución y permanencia (De la Rosa, 2000).

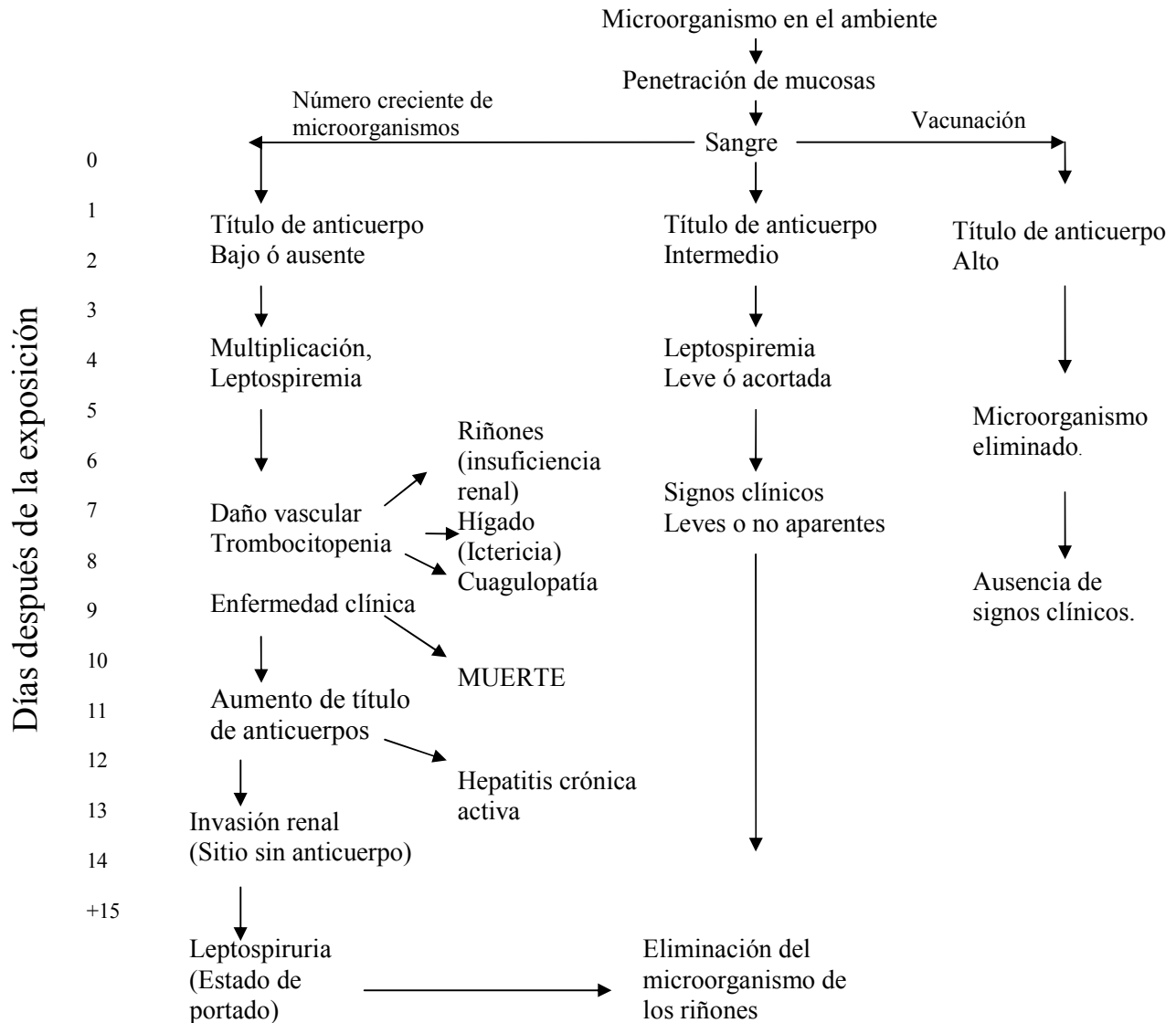
Tabla 3. SEROVARIEDADES MÁS COMUNES DE *Leptospira interrogans* QUE AFECTAN ANIMALES
(Greene, 2002)

SEROVARIEDADES	HUÉSPED RESERVORIO CONOCIDO	HUÉSPEDES INCIDENTALES				
		PERRO	GATO	HOMBRE	ANIMALES DOMESTICOS	ANIMALES SILVESTRES REPRESENTATIVOS
BRATISLAVA	Rata, cerdo, caballo?	+	-	+	Vaca y caballo	Ratón, mapache, zarigüeya, zorra, mofeta, comadreja, nutria.
AUTOMNALIS	Ratón	+	-	+	Vaca	Rata, mapache, zarigüeya.
ICTEROHAEMO- RRHAGIAE	Rata	+	+	+	Vaca, caballo, cerdo, cobayo.	Ratón, mapache, zarigüeya, erizo, zorra, marmota, nutria, mono
POMONA	Vaca, cerdo, mofeta, zarigüeya	+	+	+	Caballo, oveja, cabra, conejo, cobayo.	Ratón, mapache, erizo, lobo, zorra, león marino, venado, civeto.
CANICOLA	Perro	+	+	+	Vaca, caballo, cerdo.	Rata, mapache, erizo, armadillo, musaraña, leopardo.
BATAVIAE	Perro, ratón, rata	+	+	+	Vaca	Erizo, ratón campestre, armadillo, musaraña, leopardo.
HARDJO	Vaca	+	-	+	Cerdo, caballo, oveja	Bovidae silvestres.
GRIPPOTYPHOSA	Ratón campestre, mapache, mofeta, zarigüeya	+	+	+	Vaca cerdo, oveja, cabra, conejo, gerbo,	Ratón, rata, zorro, ardilla, lince, musaraña, erizo, comadreja, topo, leopardo.

2.5. PATOGENIA

Diagrama 1. PATOGENIA DE LA LEPTOSPIROSIS

(Greene, 2002)



Las leptospiras penetran las membranas, mucosas erosionadas, después de penetrar en el organismo, las leptospiras se multiplican activamente en la sangre invaden con rapidez la corriente sanguínea de 4 a 7 días y se diseminan a todas las regiones corporales de 2 a 4 días, sobre todo en el hígado y los riñones, lo que explica en parte la sintomatología de la leptospirosis, generando fiebre, leucocitosis, anemia transitoria (hemolítica), hemoglobinuria y albuminuria. La fiebre y bacteremia resuelven en poco tiempo y se produce el daño citotóxico celular endotelial y capilar (hemorragias petequiales). Las

leptospiras invaden y se multiplican con rapidez en el hígado provocando una necrosis hepática y así como en riñón leptospiruria, con temprana aparición de anticuerpos séricos. En este estadio, la muerte puede ser el resultado de la septicemia o anemia hemolítica aguda. La localización en el parénquima renal puede ocasionar nefritis intersticial focal y daño vascular. Debido a las lesiones tubulares, las leptospiras pueden localizarse en los túbulos renales, provocando leptospiruria prolongada. La muerte puede derivar de la nefritis intersticial y la falla renal (Larry *et al.*, 1998).

2.5.1. EN EL CANINO:

Una vez que las leptospiras penetran en las mucosas o piel erosionada se multiplican con rapidez al llegar al espacio vascular sanguíneo, diseminándose y replicándose adicionalmente en muchos tejidos, que incluyen riñones, hígado, bazo, SNC, ojos y órganos genitales. El incremento de los anticuerpos séricos eliminan después las espiroquetas de la mayor parte de los órganos, pero es posible que persistan en los riñones y se excreten por la orina durante semanas a meses. El daño a los órganos internos varía según la virulencia del microorganismo y la susceptibilidad del huésped. Algunas serovariedades tienen la propensión de causar afección aguda hemorrágica, hepática o con mayor frecuencia renal. Puede ocurrir más de una forma en un animal específico y las manifestaciones clínicas varían entre brotes y áreas geográficas con un serovariedad determinada. En infecciones rápidas y graves que originan lesión endotelial aguda y manifestaciones hemorrágicas puede observarse edema tisular y coagulación intravascular diseminada (CID). El liposacárido de *Leptospira* estimula la adherencia de neutrófilos y la activación de plaquetas, que tal vez participen en las anomalías inflamatorias y de la coagulación que se presentan (Davies, *et al.* 2000; Greene, 2002).

2.5.1.1. INVACIÓ:

La septicemia dura de cuatro a diez días y en este período se puede intentar aislar el germen mediante un hemocultivo, lo que será imposible posteriormente. Esta fase de invasión depende de la virulencia de la cepa, pero también del propio animal. Las serovariedades con actividad hemolítica varían según las especies y estas variaciones dependen aparentemente del contenido en fosfolípidos de la membrana de los glóbulos rojos, sensibles a una fosfolipasa producida por las leptospiras (Fontaine, 2002).

2.5.1.2. LOCALIZACIÓN:

Por lo general la infección en perros con las serovariedades Canicola y Grippotyphosa se acompaña de manera predominante de disfunción renal y afección hepática mínima, en tanto que las serovariedades Icterohaemorrhagiae y Pomona causan afección hepática. Al parecer los perros más jóvenes menores de 6 meses manifiestan más signos de disfunción hepática en cualquier brote de la enfermedad (Birchard, 1998; Greene, 2002).

La localización hepática y renal se produce probablemente como resultado de la capacidad de adherencia de las leptospiras virulentas a las diferentes células endoteliales por lo que produce alteración en la nutrición de los hepatocitos. La lesión que producen las leptospiras en las células endoteliales provoca cuagulopatía, hipoxia, agregación plaquetaria con activación del sistema de coagulación y fibrinólisis (Birchard, 1998; Fontaine, 2002).

Aunque afectan sobre todo al hígado y al riñón, las leptospiras pueden ejercer su actividad en cualquier otro tejido, como el tejido pulmonar. De forma simultánea a esta localización, se produce en el organismo una reacción inmunitaria específica que se traduce particularmente en la aparición de anticuerpos del tipo IgM y después del tipo IgG, los cuales se detectan, dependiendo de la sensibilidad de las técnicas empleadas, hacia el octavo o decimosegundo día. La aparición de ésta reacción serológica sería responsable de algunos fenómenos inmunopatológicos como la uveítis, que es la inflamación de la capa del ojo que se encuentra entre la [esclerótica](#) y la [retina](#). Esta capa incluye el [iris](#), el [cuerpo ciliar](#) y la [coroides](#) (rara en perros) y también de la nefritis intersticial por depósito de complejos inmunes provocando lesión glomerular. Cuando ocurre la invasión renal es porque el organismo se replica y persiste en células epiteliales de los túbulos renales, incluso en presencia de anticuerpos neutralizantes séricos. El deterioro agudo de la función renal puede resultar de una disminución de la filtración glomerular originada por la tumefacción del riñón que deteriora el riego sanguíneo (Fontaine, 2002; Greene, 2002).

2.5.1.3. ELIMINACIÓN Y RECUPERACIÓN:

Debido a la localización renal, el animal excreta leptospiras por la orina, lo que supone un riesgo epidemiológico importante. Si el animal sobrevive, puede persistir el estado de portador durante varios meses, aunque la excreción sea intermitente, en función de la inhibición o no de la adherencia de las leptospiras a las células de los túbulos renales por la concentración de anticuerpos. Así mismo una, concentración subaglutinante homóloga favorece la adhesión celular, y en consecuencia, la persistencia del estado de portador (Fontaine, 2002).

La recuperación final depende del incremento del anticuerpo específico en la circulación. Los pacientes con un tejido renal funcional adecuado logran la recuperación, a lo contrario de un tejido renal con afección grave, persistirán las alteraciones histopatológicas a pesar de la mejoría clínica. En los huéspedes reservorios que sobreviven la invasión renal es prolongada. Al ser el hígado el segundo órgano parenquimatoso mayor, que se daña durante la leptospiremia, es posible que ocurra una disfunción hepática intensa sin alteraciones histológicas mayores por el daño subcelular causado por toxinas. Se observa hepatitis crónica activa como una secuela de la infección por la serovariedad Grippotyphosa. La lesión hepatocelular inicial y la persistencia de los microorganismos en el hígado provocan una alteración de la circulación hepática, fibrosis y trastornos inmunitarios que perpetúan la respuesta inflamatoria crónica, éste proceso puede dar como resultado una fibrosis hepática extensa e insuficiencia (Greene, 2002).

2.5.1.4. CUADRO CLÍNICO

La leptospirosis se puede presentar en tres formas aguda, subaguda y crónica, en las formas agudas, son a menudo de pronóstico reservado y como el nombre lo indica el cuadro clínico es súbito y grave. En la forma subaguda el cuadro clínico se presenta en un lapso mayor y las lesiones pueden ser moderadas y tiene un mejor pronóstico y el cuadro crónico es de evolución lenta y por lo tanto muchas veces se confunde con otro tipo de patologías, por lo que es probable que sean mucho más frecuentes de lo que parecen (Merck, 1998).

En los casos graves (aguda), la enfermedad generalmente se desarrolla súbitamente y se caracteriza por debilidad, anorexia, vómitos, temperaturas elevadas de 39.5 a 40.5 °C y a menudo conjuntivitis leve. En ésta etapa es difícil hacer un diagnóstico clínico. A los

pocos días hay una disminución aguda en la temperatura, la depresión es más pronunciada, la respiración se dificulta y la sed es notoria. En algunos perros se puede observar ictericia de intensidad variable como primeras manifestaciones de la enfermedad, puede presentar dolor en la región lumbar o a la palpación del abdomen. Las membranas de la mucosa oral pueden inicialmente mostrar placas hemorrágicas irregulares, semejantes a abrasiones o quemaduras, que más tarde se secan y muestran necrosis, desprendiéndose en secciones (Merck, 1988).

Dentro de ésta forma nos encontramos con la gastroenteritis hemorrágica ó tifus, asociada a un estado de postración intensa, aparecen fenómenos hemorrágicos, en las mucosas se observan petequias, en el cuadro clínico predominan melenas y hematemesis. La disfunción renal se acompaña de oliguria, que provoca generalmente uremia y aumento de la creatinina de difícil compensación. Al final de un período evolutivo que no supera las 24 horas, el animal muere. La forma icterohemorrágica es menos fulminante que la gastroenteritis hemorrágica sin embargo refleja un efecto importante de las leptospiras sobre la función hepática. Se produce hipertermia y decaimiento al final del período de incubación, los vómitos son los primeros signos y provocan una deshidratación rápida y peligrosa lo que trae como consecuencia la oliguria y por lo tanto la falla renal por lo que no se pueden depurar las sustancias tóxicas del organismo. La afectación hepática provoca una ictericia franca, asociada a la congestión generalizada de las mucosas, da una coloración rojo intensa de la que viene el nombre de “ictericia flamígera”. La orina se observa muy coloreada (oscura), con elevada concentración de bilirrubina y albúmina, aunque ésta forma es menos aguda que el cuadro tífico, éste no es menos grave, y la muerte se produce con frecuencia de tres a seis días de que el animal presenta ictericia y hemorragias múltiples (Fontaine, 2002).

En la formas subaguda y crónica debido a que las leptospiras se multiplican en tejido renal y hepático, éstos se alteran de manera sistemática ocasionando una nefritis intersticial que se vuelve más lenta conforme la enfermedad evoluciona a crónica y puede provocar a largo plazo la muerte del animal, o pasar desapercibida la enfermedad y la hepatitis por leptospiras son asociadas a infecciones de evolución progresiva (Fontaine,2002).

2.5.2. PATOGENIA EN EL HUMANO

El humano como los animales adquiere la infección por contacto indirecto por agua contaminada, desde donde penetra en el cuerpo a través de erosiones o cortes en la piel y de las mucosas de ojos, nariz y boca. También puede contraerla por contacto directo con sangre, tejidos, órganos y orina de animales infectados. Aunque es infrecuente, es posible infectarse al ingerir agua o alimentos contaminados. La transmisión persona a persona es rara (Halbrohr, 1982; Finlay, 2000).

Leptospira interrogans produce una infección subclínica, produciendo un daño hepático y renal, vasculitis extensa, miocarditis y muerte. La importancia de la enfermedad depende del número de microorganismos infectantes, de las defensas inmunológicas del huésped y de la virulencia de la serovariedad presente (Murray, 1996).

La bacteria sigue un ciclo similar al que realiza en otros huéspedes, su tiempo de incubación va de 2 días hasta 4 semanas. Se diseminan desde el torrente sanguíneo a todos los tejidos, incluido el sistema nervioso central, la duplicación de la bacteria continua dañando el epitelio de los pequeños vasos sanguíneos, que es el principal responsable de las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Murray, 1996).

2.5.2.1. CUADRO CLÍNICO

La mayoría de las infecciones por *Leptospira interrogans* son clínicamente asintomáticas y se demuestran únicamente por la presencia de anticuerpos específicos. Las infecciones sintomáticas se desarrollan después de un período de incubación de una a dos semanas donde la enfermedad se presenta de una forma brusca, con síntomas similares a los de la gripe. Entre el 75 y el 100% de los pacientes cursan con fiebre alta, dolor de cabeza, mialgias principalmente de pantorrillas y región lumbar, náuseas, vómito, dolor abdominal, diarreas y artralgia. Durante ésta fase se observa bacteremia por las leptospiras y es frecuente aislar el germen en el líquido cefalorraquídeo, aunque no existan síntomas meníngeos. La fiebre y las mialgias desaparecen después de una semana sin ningún otro problema, pero a veces el paciente progresa hacia una enfermedad más avanzada como la meningitis aséptica o de tipo generalizado, con cefalea, erupción cutánea, colapso vascular, trombocitopenia, hemorragia y disfunción hepática y renal (Murray, 1996; Wohl, 1996).

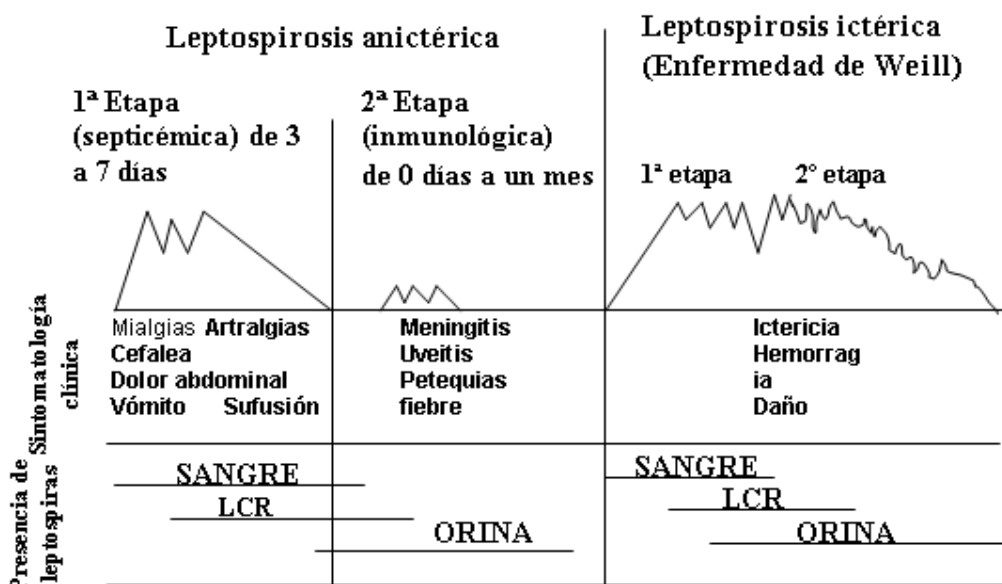
La enfermedad puede cursar en dos formas clínicas: 1) Anictérica ó benigna, que se presenta en un 85 a 90% de los casos y 2) Ictérica ó grave llamada también “enfermedad de Weil” que se presenta en un 10 a 15% de los casos (Murray, 1996; Finlay, 2000).

En la forma grave o enfermedad de Weil se produce una irritación conjuntival, junto con una irritación meníngea y rigidez en la nuca, al igual que ictericia, manifestaciones hemorrágicas intestinales o pulmonares, arritmias e insuficiencias cardiacas, existen alteraciones hepatonefróticas con síntomas diftéricos en el 50 % de los pacientes (T.S.C., 1986; Nicodemo, 1989; Wohl, 1996).

La Leptospirosis en cualquiera de sus dos formas ó presentaciones ya sea ictérico o anictérica se da en dos fases por lo que se le llama enfermedad bifásica.

Diagrama 2. PRESENTACIÓN DE LA LEPTOSPIROSIS

(Murray, 1996)



LCR: líquido cefalorraquídeo

La Leptospirosis en sistema nervioso central puede confundirse con una meningitis viral, ya que su evolución no suele ser complicada y la mortalidad es muy reducida. El cultivo en líquido cefalorraquídeo en ésta fase suele ser negativo. En cambio, la forma ictérica de la enfermedad es más grave y comporta una mortalidad aproximada del 10 %. La afectación hepática con ictericia es frecuente en la leptospirosis grave, pero no se observa necrosis hepática y los pacientes que sobreviven no sufren daño hepático permanente. De modo similar, casi todos los enfermos se recuperan de los trastornos de la función renal (Murray, 1996).

Debido a su presentación clínica en humanos, que es muy inespecífica y varía se da una confusión clínica con Dengue, Fiebre Amarilla y otras enfermedades febriles propias de la misma época, por lo que es necesario incluirla en el diagnóstico diferencial de

enfermedades que cursen con fiebre y basar la interpretación conjunta de antecedentes epidemiológicos, clínica del paciente y resultados de las pruebas de laboratorio (Finlay, 2000).

2.6. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de laboratorio se establece mediante la demostración de los microorganismos o por pruebas serológicas. La selección y el uso de las pruebas apropiadas dependen del conocimiento del curso de la infección. Durante la 1ª etapa de la enfermedad las leptospiras se encuentran además de sangre en líquido cefalorraquídeo y en la leche de animales lactantes. Los anticuerpos se detectan a partir del 7º día de la enfermedad y alcanzan niveles máximos a la 3ª ó 4ª semana. Estos anticuerpos pueden seguir siendo detectables durante años (De la Rosa, 2000).

En un animal no inmunizado, las leptospiras pueden detectarse en sangre hasta el octavo día aproximadamente y en la orina a partir del décimo día. Los anticuerpos pueden detectarse como muy pronto a partir del octavo día, siempre y cuando el animal haya estado sin contacto específico anterior (Fontaine, 2002).

La aglutinación microscópica (MAT) es la prueba serológica de referencia más utilizada, tanto para el diagnóstico en humanos como en animales; se utilizan serovariedades representativas de los diferentes serogrupos específicos para cada región. Es necesario tener en cuenta que las reacciones cruzadas, no solo se producen entre serovariedades del mismo serogrupo, sino que al principio de la infección también ocurre entre serovariedades de diferentes serogrupos y puede predominar el título de un serovariedad heteróloga. Con el transcurso del tiempo se intensifica la reacción a la serovariedad homóloga (Fontaine, 2002; Greene, 2002; De la Rosa, 2000).

Después de la 1ª semana de la enfermedad las leptospiras pueden encontrarse en la orina. Tanto en el hombre como en los animales, la leptospiruria puede persistir durante 2 o 3 meses, aunque puede presentarse por períodos más largos en forma intermitente (De la Rosa, 2000).

Para el diagnóstico serológico de la enfermedad se requieren muestras pareadas de suero, pues con una sola muestra el resultado sería indeterminado; a solo que ésta muestra única haya tenido una titulación $\geq 1:1280$, siguiendo su procedimiento como lo menciona el diagrama 3. El intervalo entre las muestras serológicas debe ser igual ó mayor a 15 días después de haber realizado la primera toma, sin exceder de 50 días. La

interpretación se da con base a la seroconversión de títulos de anticuerpos observada entre ambas muestras: si se observa un aumento de 4 veces el título inicial se considera positivo a la enfermedad; por lo contrario, si la 2ª muestra tiene una titulación igual ó menor a la primera el resultado se confirma como negativo.

El objetivo del presente trabajo es detectar la serovariedad y seropositividad de la leptospirosis en una población determinada, lo cual se puede lograr mediante el análisis de una sola muestra de suero de cada individuo en estudio.

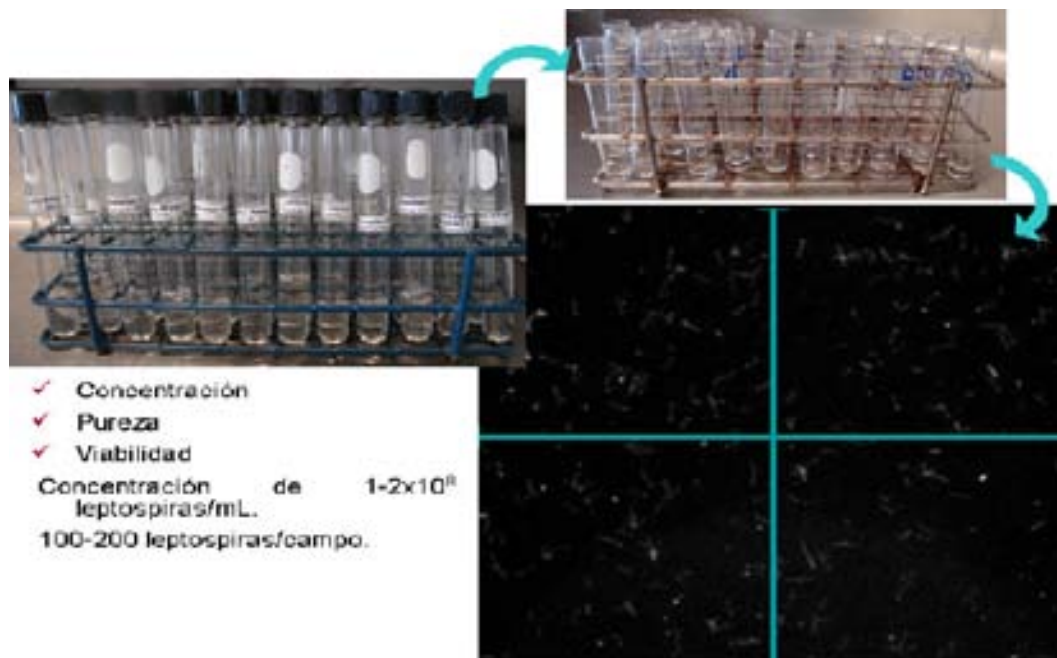
2.6.1. AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA (MAT) PARA *Leptospira*

La prueba se conforma de dos etapas: la de tamiz y la semicuantitativa.

En la etapa de tamizaje se detectan todas las serovariedades con una reactividad mayor o igual a 2+ (Tabla 4 de Interpretación); en la segunda etapa, se determina en títulos, la cantidad de anticuerpos presentes con cada serovariedad reactiva.

En el proceso se utilizan cultivos de leptospiras vivas con un crecimiento de 4 a 10 días en medio líquido, en dichos cultivos se verifica su viabilidad, pureza, homogeneidad y la densidad (2×10^8 microorganismos por ml) como se indica en la imagen 3. Esta última es comparada y ajustada con el tubo del nefelómetro de Mc Farland 0.5 ó contando 100 células por campo, en una cámara de Petrof-Hausser ó Neubauer (De la Rosa, 2000).

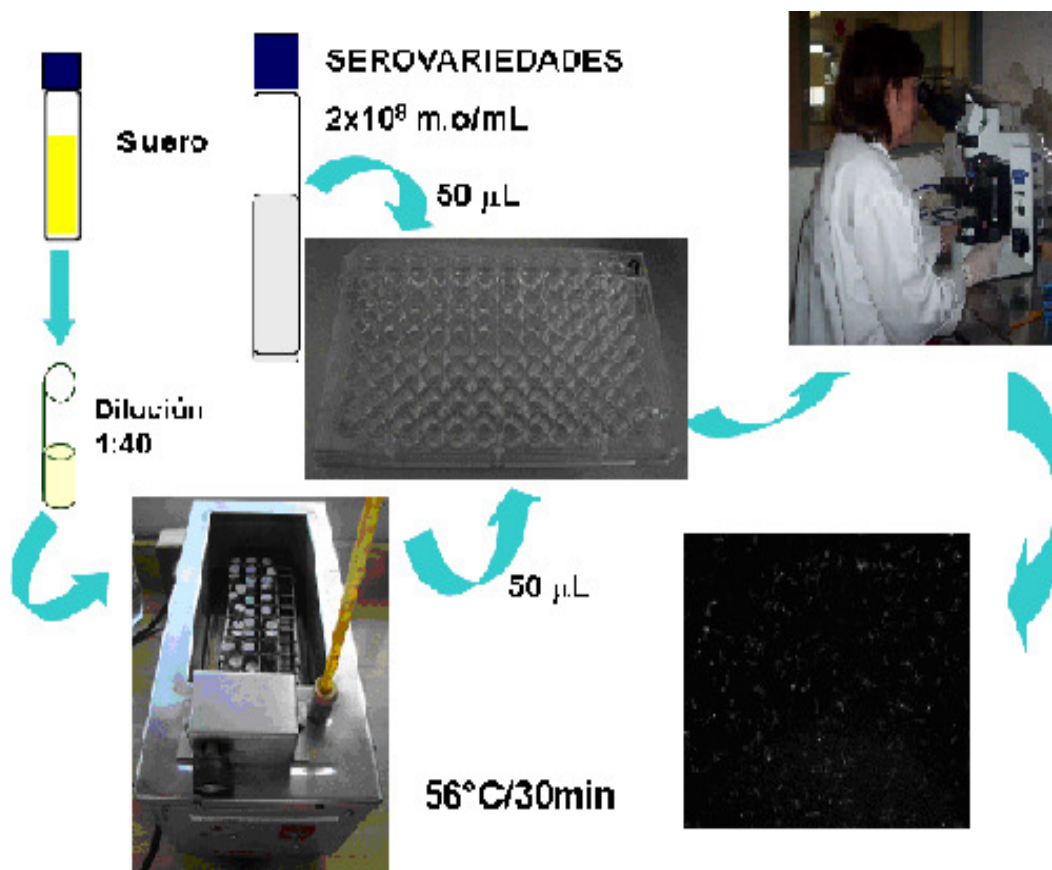
Imagen 3. VIABILIDAD DE LOS CULTIVOS DE *Leptospira interrogans*



Panel de control de las serovariedades de *Leptospira* del INBRE

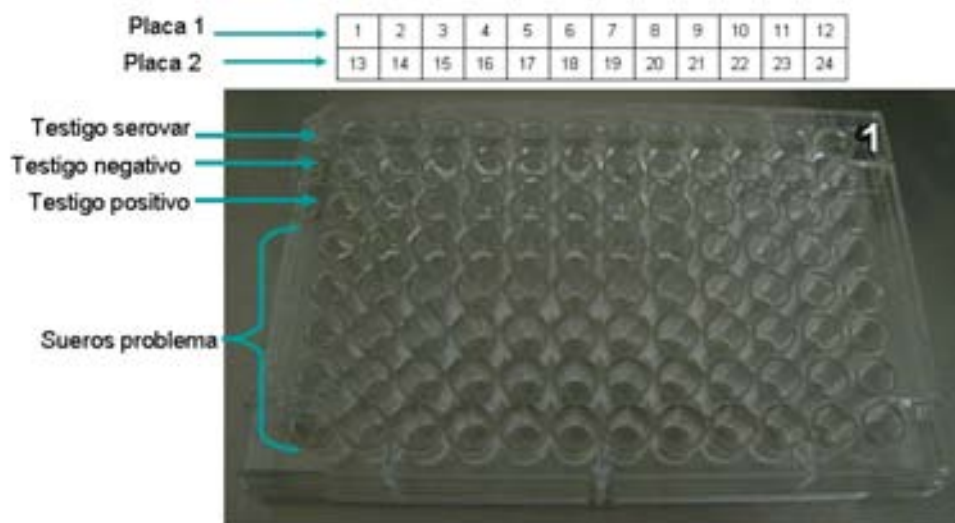
Inicialmente se realiza una dilución 1:40 añadiendo 0.1 ml de suero problema a 3.9 ml de regulador de fosfatos, la cual se inactiva a 56°C, dicha dilución se coloca en una microplaca de 96 pozos, con solución fisiológica. Colocando el mismo volumen de cada antígeno a cada dilución realizada. Los testigos negativos y positivos, son sueros contra cada serovariedad utilizada. Se incluyen un testigo de serovariedad, que es el antígeno con regulador de fosfatos para descartar auto aglutinación. La placa se agita suavemente y se incuba durante hora y media a 30°C, transcurrido el tiempo se vuelve agitar suavemente y se procede a tomar la lectura. Esta se realiza colocando una gota pequeña de cada una de las diluciones sobre un porta objetos y se observan al microscopio con condensador de campo oscuro (objetivo de 10X y ocular de 15X) recorriendo en zigzag toda la preparación; (Imagen 4 y 5). La lectura se da en cruces en base a la cantidad de Leptospira encontradas libres y aglutinadas y su relación entre estas como se indica en la tabla 4 de interpretación (Malta, 2003; De la Rosa, 2000).

Imagen 4. PROCESO DE LA MUESTRA



Aquí termina la primera parte de la prueba, en donde aquellas muestras que hallan sido positivas, se les continuará trabajando en la segunda parte, que consiste en las diluciones seriales dobles para detectar su título, entendiéndose por título como la mayor dilución del suero en donde se observan 50% ó más de células aglutinadas, es decir 2 + (Malta, 2003; De la Rosa, 2000).

Imagen 5. PREPARACIÓN DE PLACAS



2.6.1.1. INTERPRETACIÓN:

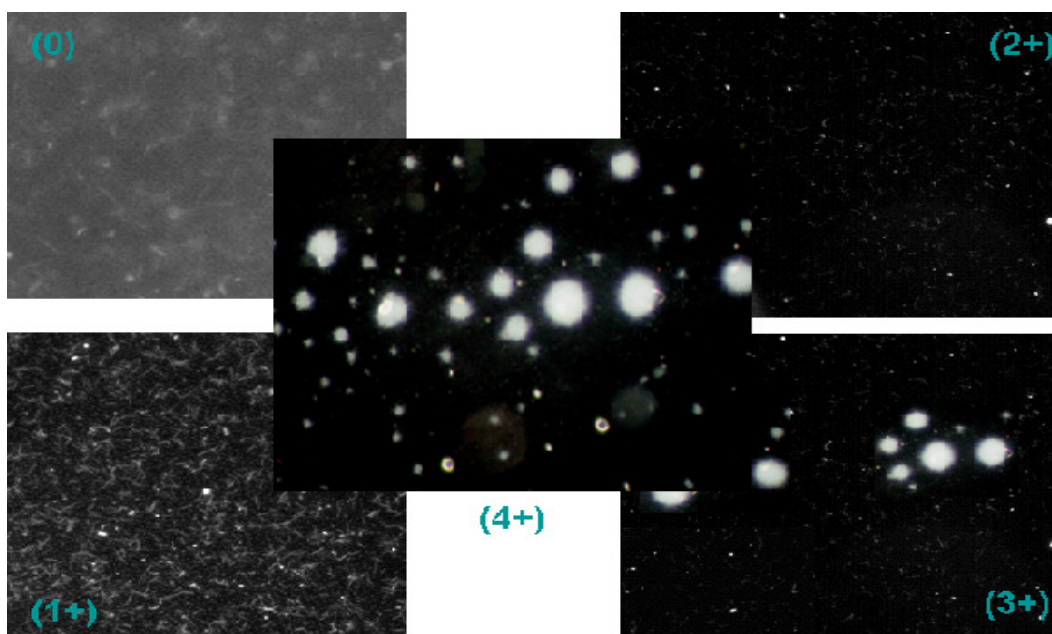
Los resultados se interpretan de acuerdo a la seropositividad. La aglutinación se manifiesta por la unión de las leptospiras formando arañas o cabezas de medusa, los extremos libres permanecen móviles. La lectura se hace por cruces de acuerdo al número de células libres y aglutinadas como se observa en la tabla 4 y la imagen 6: (Malta, 2003).

Tabla 4. INTERPRETACIÓN DE LA MICROAGLUTINACIÓN
(Malta, 2003)

REACCIÓN		EQUIVALENCIA EN CRUCES	INTERPRETACIÓN
Células libres	Células aglutinadas		
100 %	0	0	Negativo
75 %	25 %	+	Negativo
50 %	50 %	++	Positiva
25 %	75 %	+++	Positiva
0	100 %	++++	Positiva

El testigo negativo debe tener de 0+ a 1+, mientras que el testigo positivo debe ser igual ó mayor a 2 +, el testigo de cepa debe ser igual a 0+. La prueba se repite, si no se obtienen estos resultados con cualquiera de los testigos (De la Rosa, 2000).

Imagen 6. AGLUTINACIONES OBSERVADAS EN MICROSCOPIO DE CAMPO OSCURO



2.6.2. OTRAS PRUBAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS

Tabla 5. OTRAS PRUEBAS DIAGNOSTICAS PARA LEPTOSPIROSIS
(Malta, 2003)

PRUEBA DE LABORATORIO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Prueba de Aglutinación Microscópica con Antígeno Muerto. (MSAT)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lectura a simple vista. ▪ Antígenos estables a 4°C durante un año. ▪ Buena reacción temprana de la enfermedad. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Utiliza leptospiras formoladas. ▪ Se utiliza una mezcla de antígenos de varios serogrupos. ▪ Mayor reacción cruzada. ▪ No diferencia reacción entre anticuerpos de infección reciente o Ac. de memoria.
Fijación de complemento. (FC)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diagnostico rápido. ▪ Menos laboriosa. ▪ Emplea antígenos no patógenos (<i>L. biflexa</i>). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Utiliza sustancias anticomplementarias del suero. ▪ Vida corta e inestabilidad del antígeno. ▪ No detecta serovares. ▪ No detecta niveles bajos de anticuerpos.
Aglutinación en microcápsula.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ El antígeno leptospiral es adsorbido en microcápsulas de polímero sintético. ▪ Alta especificidad y sensibilidad en fase aguda. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No detecta infecciones causadas por diferentes serovares. ▪ Solo existe detección en infección reciente.
Hemaglutinación indirecta. (IHA)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alta sensibilidad. ▪ Detección de infecciones recientes. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Solo detecta IgM. ▪ No detecta infección después de la fase aguda primaria.
ELISA-IgM	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alta sensibilidad en fase aguda de la enfermedad. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Prueba realizada solo en pacientes con leptospirosis icterica.
Reacción en Cadena de la Polimerasa. (PCR)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rápido diagnóstico en leptospirosis aguda. ▪ Detecta DNA leptospiral en suero y orina de pacientes infectados. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Requiere amplificación tanto de especies patógenas como de las no patógenas. ▪ El "iniciador" utilizado actualmente está especificado solo para leptospiras patógenas. ▪ Debe ser complementario a otras pruebas de diagnóstico. ▪ Alto costo (instalaciones y reactivos). ▪ Utilización de gran número de muestras.

III. HIPÓTESIS

Los perros callejeros por su condición de hábitat están en constante exposición con animales de la misma ó diferente especie enfermos ó portadores, por lo tanto es de esperarse que contengan más serovariedades diferentes que los perros vacunados los cuales al menos presentaran seropositividad a los presentes en la vacuna.

IV. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Comparar la seropositividad y serovariedades detectadas de *Leptospira interrogans* presente en perros callejeros de los cuales se desconoce si tienen antecedentes de vacunación y vacunados del sur de la Cd. de México

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar las frecuencias de las serovariedades de *Leptospira interrogans* presentes en perros callejeros y vacunados.
- Correlacionar las serovariedades de *Leptospira interrogans* de perros vacunados contra callejeros.

V. MATERIAL Y MÉTODO

5.1 MATERIAL

5.1.1 EQUIPO DE LABORATORIO:

Baño maría a temperatura controlada de 56°C, Micropipeta, Incubadora bacteriológica, refrigerador, centrífuga, microscopio de campo oscuro.

5.1.2 EQUIPO PARA LA PRUEBA:

Portaobjetos de 25x75mm, cubreobjetos de 22 x 22mm, microplacas de 96 pozos de fondo plano tubos de ensayo de 13x100mm ó 12x75mm, puntas amarillas para micropipeta, pipetas serológicas terminales graduadas de 1 y 2 ml estériles, contenedores para descontaminación de material, vaso de precipitados de 50 ml, gradilla para 72 tubos, papel parafinado (parafilm), guantes.

5.1.3 MATERIAL PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS:

Jeringas con agujas de 5ml. Tubos de ensayo, cajas térmicas para el transporte de las muestras, guantes (López, 2004).

5.1.4 MATERIAL BIOLÓGICO:

Muestras de sueros para diagnóstico, panel de sueros testigo positivos y suero testigo negativo, que es el panel de 23 serovariedades de *Leptospira interrogans* y 1 serovar de *Leptospira biflexa* (patoc).

5.2 MÉTODO

5.2.1 MUESTREO:

Basándose en el registro del antirrábico, el promedio de sacrificios es de 1000 perros al mes, se muestrearon 10 perros por semana durante 4 meses, obteniendo así cuatro muestreos por mes y un total de 160 muestras, la aleatorización de los perros que se muestrearon se hizo con la tabla A de números aleatorios (Daniel, 2002). Así mismo se realizó un muestreo de perros vacunados contra *Leptospira* donde el tamaño de la muestra fue de 151 perros, pertenecientes a la misma zona, teniendo un registro de su última fecha de vacunación.

5.2.2 TOMA DE MUESTRA:

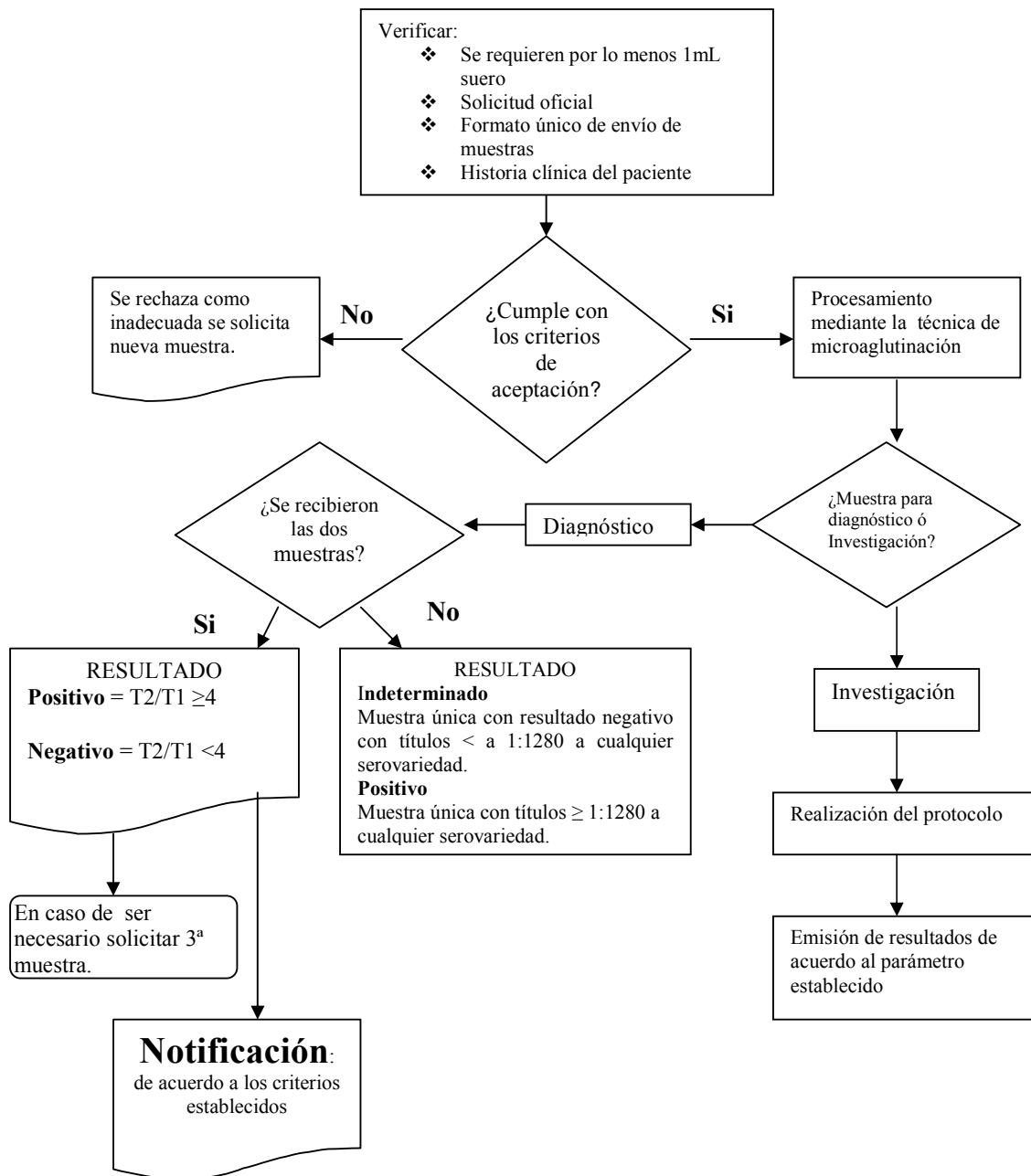
Las muestras de sangre (aproximadamente 5 ml.) de los perros se recolectaron en tubos de ensaye sin anticoagulante, previamente identificados. Se llevó un registro con el número dado por el antirrábico, número aleatorio, números que se le asignará en el laboratorio, sexo, edad aproximada, lugar de procedencia y raza; si es que la tenía, al igual que en los perros callejeros se hizo con los perros vacunados, incluyendo en su registro la última fecha de vacunación, estas muestras fueron llevadas al laboratorio de leptospirosis del InDRE, donde fueron evaluadas por los criterios de aceptación y rechazo de muestras como se ve en el diagrama 3.

5.2.3. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Una vez que las muestras fueron aceptadas por el laboratorio de Leptospiriosis del InDRE, Se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto (RPM) durante 10 minutos para obtener el suero de la muestra. A estos se les practicó la prueba de microaglutinación (MAT), ya descrita anteriormente; donde se observaran con cual de las 24 serovariedades manejados por el InDRE como panel de control, son positivos ó negativos, con base a ese resultado se realizaron diluciones a los sueros que fueron positivos a “X” serovariedad, para obtener el nivel de titulación de anticuerpos este procedimiento lo podemos observar de una manera más gráfica en el diagrama 4.

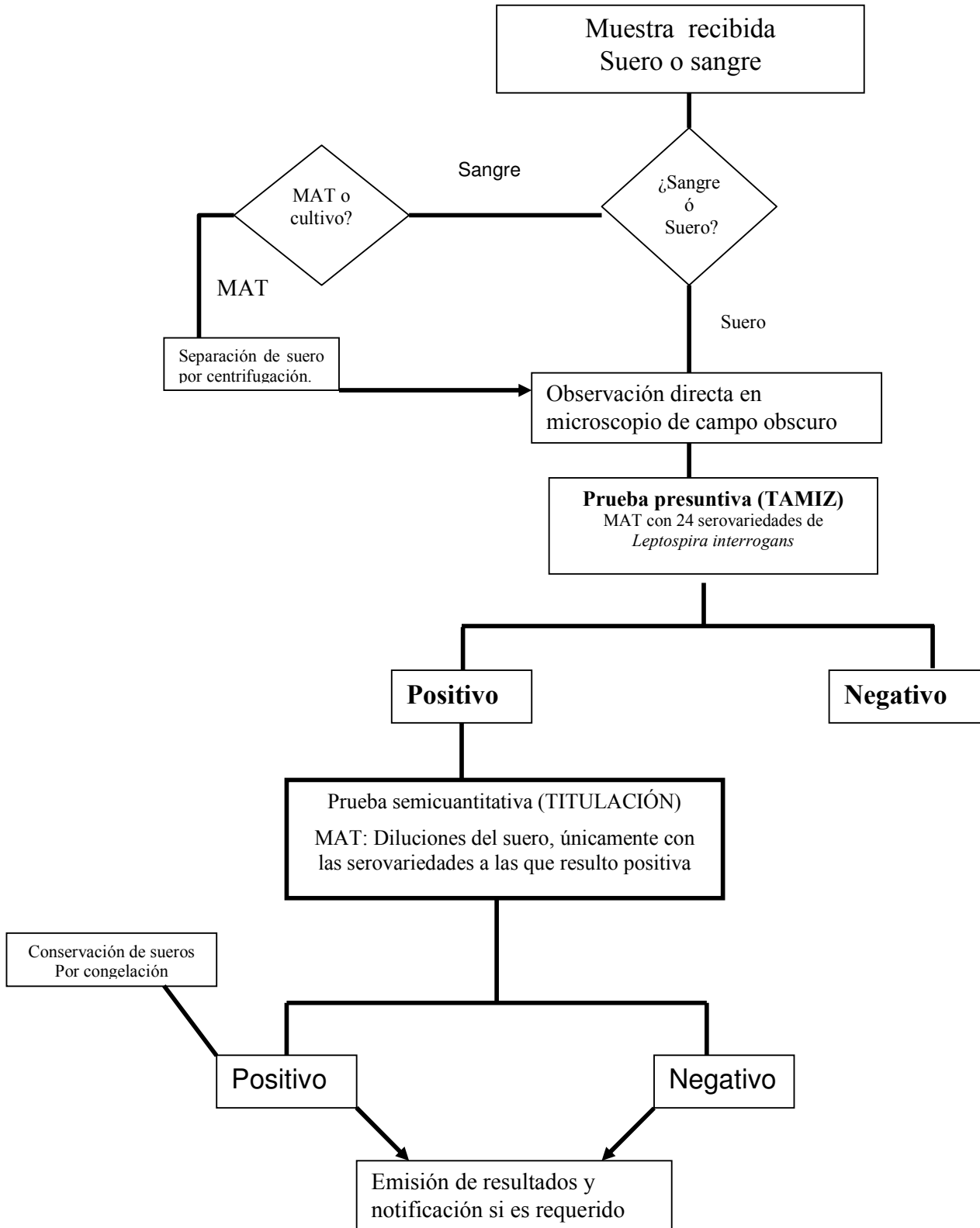
Diagrama 3. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DE MUESTRAS

(Malta, 2003)



T1 = Título obtenido en la primera muestra
T2 = Título obtenido en la segunda muestra

Diagrama 4. PROCESO PARA LAS MUESTRAS ACEPTADAS
(Malta, 2003)



5.2.4. RECOPIACIÓN DE DATOS

Los resultados obtenidos se registraron en la bitácora correspondiente del laboratorio.

Para hacer éste estudio se realizó el análisis de animales seropositivos y negativos de ambos grupos (vacunados y callejeros) en base al parámetro de corte establecido con la bibliografía consultada (Fontaine, 2002; Greene, 2002; Malta 2003).

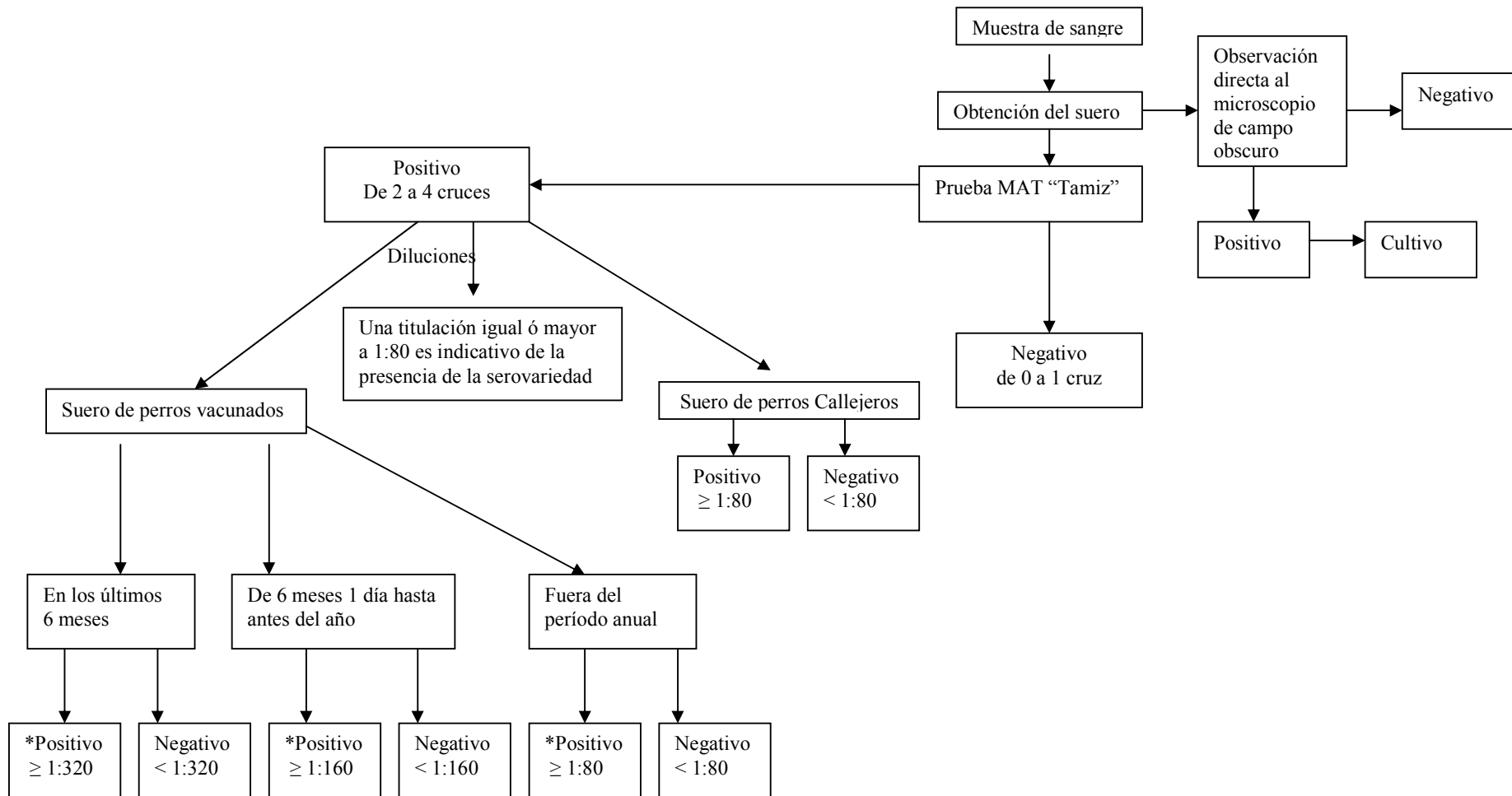
De acuerdo con su última fecha de vacunación se clasificaron en tres grupos, el primero con una vacunación aplicada en los últimos 6 meses de haber tomado la muestra, el segundo ente 6 meses 1 día hasta 12 meses de haber tomado la muestra y el tercero grupo fueron perros vacunados fuera del esquema anual de vacunación.

En perros vacunados dentro de los últimos seis meses se consideró como positivos aquellos que tuvieran una titulación $\geq 1:320$, considerando como negativos aquellos animales que tuvieron una titulación $< 1:320$. Para los animales de 6 meses 1 día hasta un año de haber recibido su última vacuna, se consideraron positivos cuando los títulos fueran $\geq 1:160$ y negativos cuando lo títulos fueron $< 1:160$. Los animales que estuvieron fuera del esquema anual de vacunación se consideraron positivos al encontrar títulos $\geq 1:80$. Los animales callejeros de los cuales se desconoce si alguna vez fueron vacunados, se consideraron positivos a partir de títulos $\geq 1:80$ esto se esquematiza en el diagrama 5.

En base a esta clasificación se obtuvo la titulación de las muestras y los datos con los que se trabajaron las muestras positivas y negativas de ambos grupos (Anexo 1, 2 y 3).

Diagrama 5. CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN PARA EL VALOR DE CORTE CONSIDERANDO PERROS VACUNADOS Y CALLEJEROS

(Fontaine,2002;Greene,2002;Malta,2003)



* Estos niveles de titulación pueden estar dados por la vacunación ó la exposición del agente, nos demuestran la presencia de la serovariedad analizada pero no la enfermedad, ya que para ello se requieren muestras pareadas.

5.2.5 PRUEBAS ESTADÍSTICAS

Por medio de una prueba de X^2 , se correlacionaron el total de muestras, para la cual se utilizó el programa estadístico SPSS versión 11.0.

En el grupo de perros vacunados se desglosaron los resultados y sus porcentajes por su clasificación de acuerdo con su última fecha de vacunación.

Se efectuó un análisis estadístico de frecuencias y porcentaje, de las diferentes serovariedades de *Leptospira* encontradas en el grupo de perros callejeros.

En el grupo de perros vacunados se contabilizaron las frecuencias de las serovariedades, obteniendo sus porcentajes con el mismo fin que el grupo de perros callejeros y éstas a su vez se dividieron para observar en cada período, antes mencionada, las serovariedades más frecuentes en cada clasificación.

En los perros callejeros por considerarse poco significativas las frecuencias menores a 5, de algunas serovariedades, estadísticamente hablando, se decidió hacer un análisis por serogrupos; para aumentar la frecuencia; aún así, hubo serogrupos con menos de 5 repeticiones, por lo que a estos no se les toma en cuenta para un análisis estadístico; sin embargo, esto no significa que no estén presentes, sino que son poco significativos, por lo que todos estos se agruparon como un indicador.

Para correlacionar las serovariedades la prueba de X^2 no se ajusta a los resultados por las diferentes serovariedades presentes en ambos grupos (callejeros y vacunados), por lo que las frecuencias de las serovariedades, fueron correlacionadas con la prueba no paramétrica de Kendall's TAU.

VI. RESULTADOS

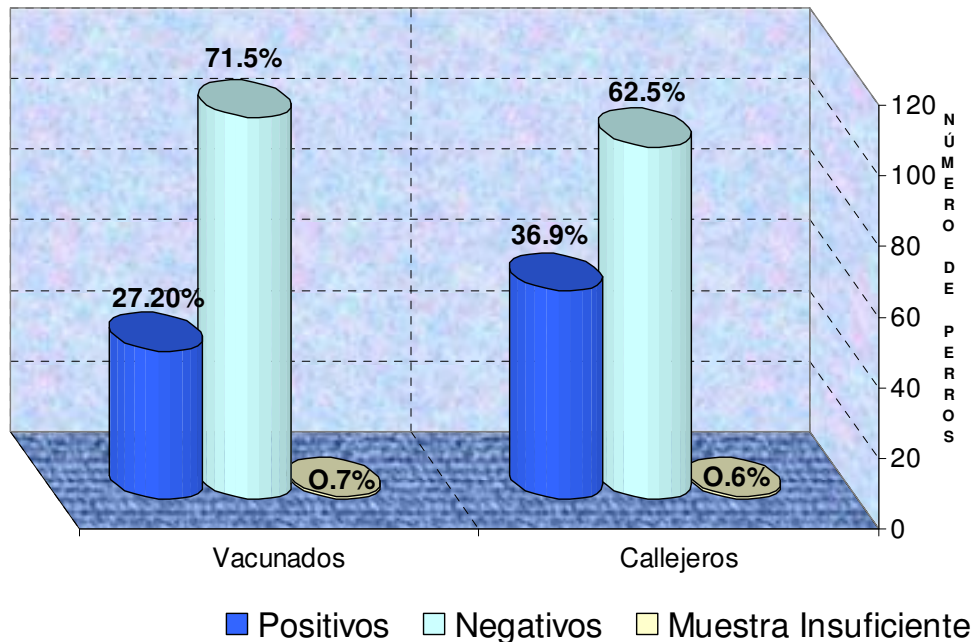
Los resultados de la investigación se han resumido en la siguiente tabla, tanto en número como en porcentaje que se expresan en el gráfico 1.

Y las frecuencias están resumidas en tablas con sus respectivas gráficas.

Tabla 6. RESULTADOS OBTENIDOS EN PERROS VACUNADOS Y CALLEJEROS BAJO EL PARÁMETRO DE CORTE

	Vacunados	%	Callejeros	%
Positivos	42	27.2%	59	36.9%
Negativos	108	71.5%	100	62.5%
Muestra Insuficiente	1	0.7%	1	0.6%
Total Muestras	151	100.0%	160	100.0%

Gráfica 1. PORCENTAJES OBTENIDOS EN PERROS VACUNADOS Y CALLEJEROS BAJO EL PARÁMETRO DE CORTE

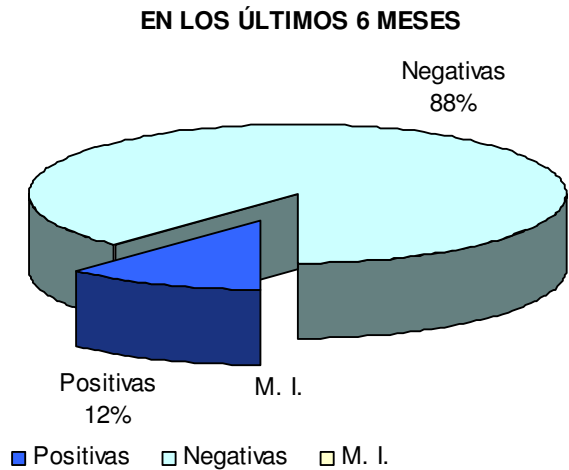


Total de Muestras.
 Vacunados:151 Callejeros:160

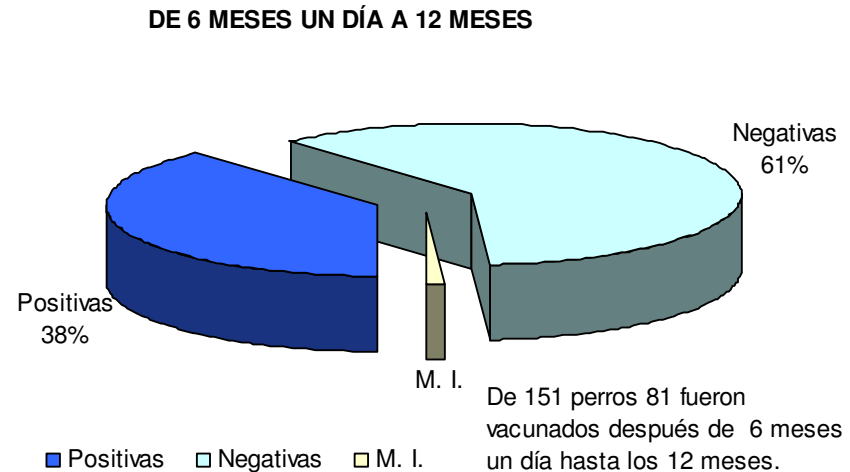
Tabla 7. PORCENTAJES DE PERROS VACUNADOS POSITIVOS CLASIFICADOS POR PERÍODOS COMO LO INDICA EL PARÁMETRO DE CORTE.

	En los últimos 6 meses	Porcentaje %	De 6 meses un día a 12 meses	Porcentaje %	Fuera del Periodo Anual	Porcentaje %	Total	%
Positivas	7	12.07%	31	38.27%	4	30.77%	42	27.20%
Negativas	50	87.93%	49	60.49%	9	69.23%	108	71.15%
M. I.	0	0.00%	1	1.23%	0	0.00%	1	0.7%
Total	57	100%	81	100%	13	100%	151	100%

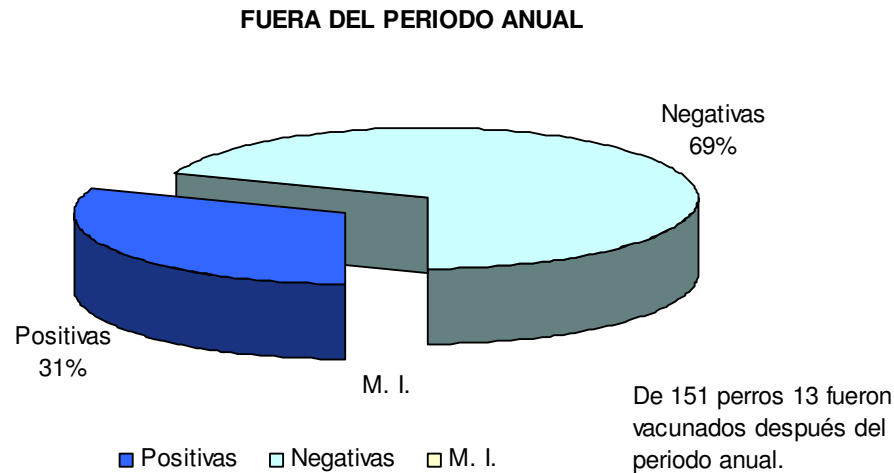
Gráfica 2, 3 y 4. PORCENTAJES DE PERROS VACUNADOS CLASIFICADOS POR PERÍODOS COMO LO INDICA EL PARÁMETRO DE CORTE.



De 151 perros 57 fueron vacunados en los últimos 6 meses.



De 151 perros 81 fueron vacunados después de 6 meses un día hasta los 12 meses.

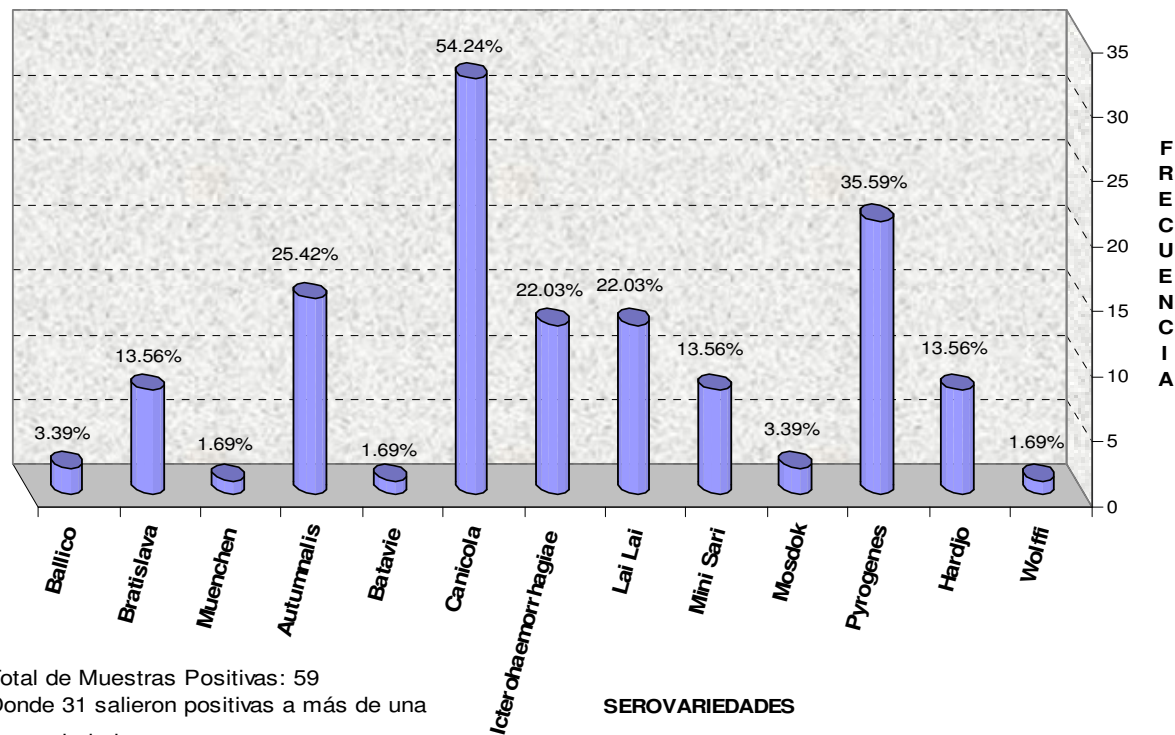


De 151 perros 13 fueron vacunados después del periodo anual.

Tabla 8. FRECUENCIAS Y PORCENTAJES DE LAS SEROVARIEDADES ENCONTRADAS EN PERROS CALLEJEROS

SEROVARIEDADES													
	Ballico	Bratislava	Muenchen	Autumnalis	Batavie	Canicola	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Mini Sari	Mosdok	Pyrogenes	Hardjo	Wolfii
Frecuencia	2	8	1	15	1	32	13	13	8	2	21	8	1
Porcentaje	3.39%	13.56%	1.69%	25.42%	1.69%	54.24%	22.03%	22.03%	13.56%	3.39%	35.59%	13.56%	1.69%

Gráfica 5.



Total de Muestras Positivas: 59
 Donde 31 salieron positivas a más de una serovariedad.

Tabla 9. FRECUENCIAS Y PORCENTAJES DE SEROVARIEDADES PRESENTES EN PERROS VACUNADOS

	SEROVARIEDADES																
	Ballico	Muenchen	Ballum	Canicola	Celledoni	Cynopteri	Djasiman	Grippotyphosa	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Mini Sari	Panama	Pomona	Mosdok	Pyrogenes	Shermani	Tarassovi
FRECUENCIA	2	2	2	27	1	3	2	3	1	11	7	1	3	3	1	3	3
PORCENTAJE	4.76%	4.76%	4.76%	64.29%	2.38%	7.14%	4.76%	7.14%	2.38%	26.19%	16.67%	2.38%	7.14%	7.14%	2.38%	7.14%	7.14%

Gráfica 6.
VACUNADOS

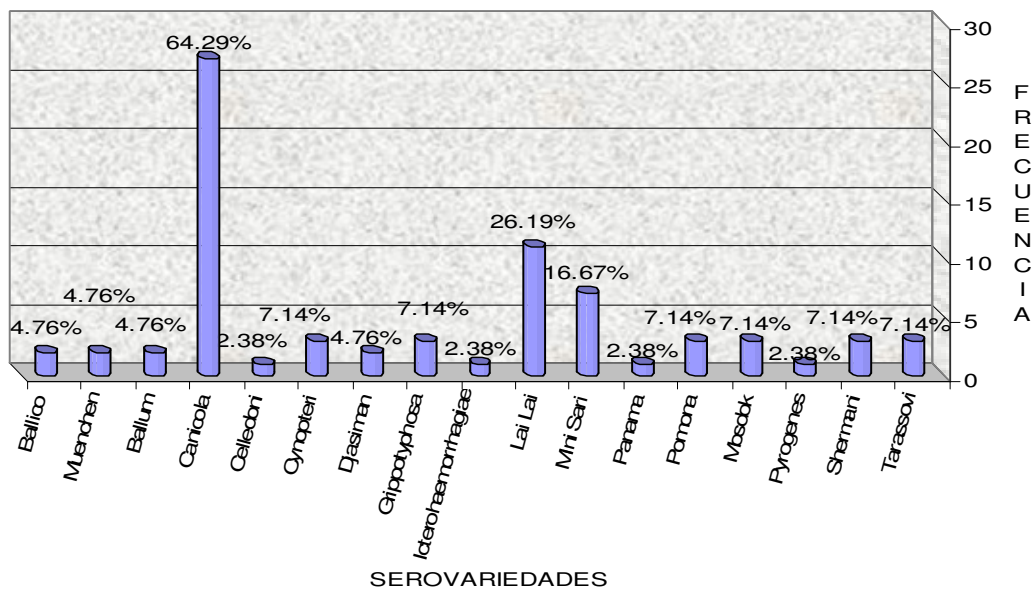
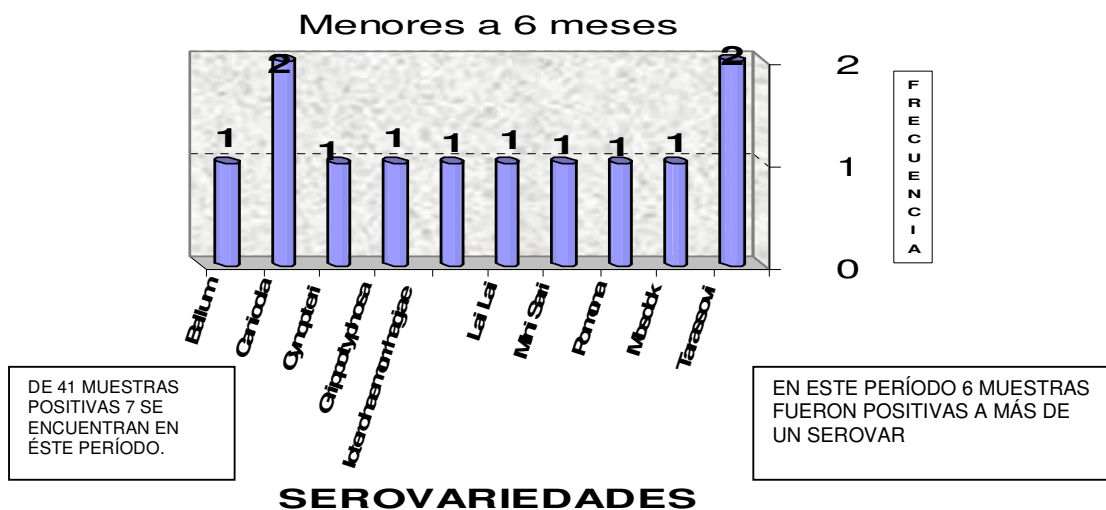


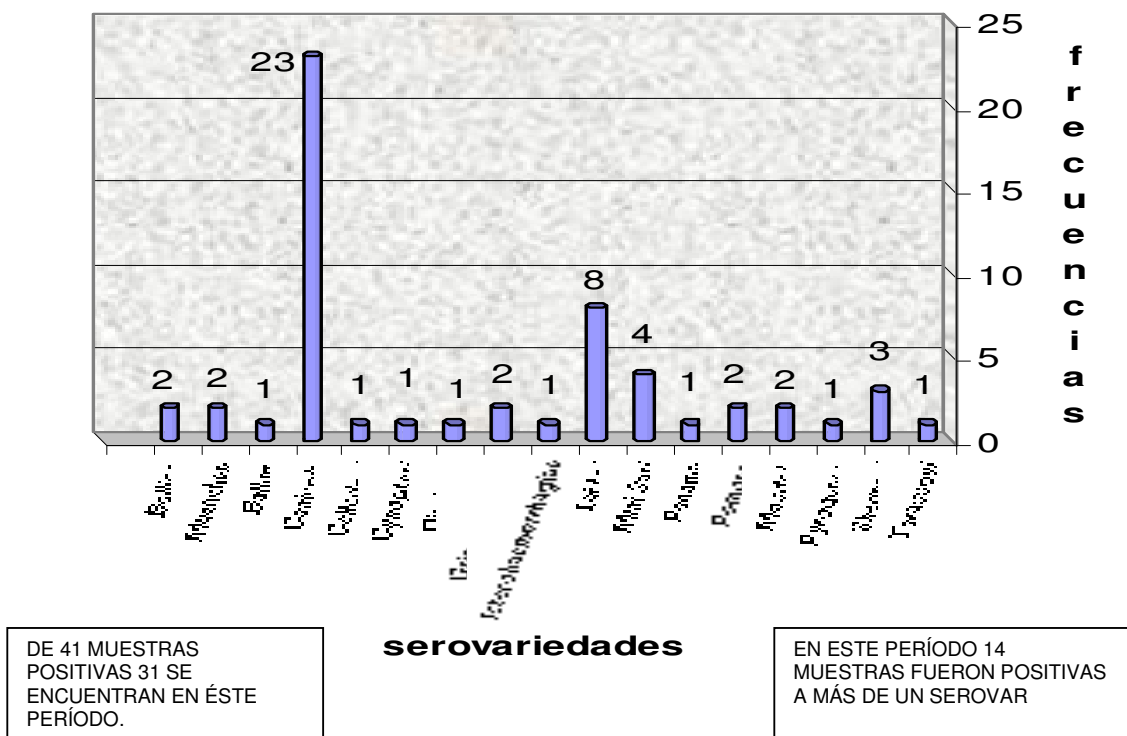
Tabla 10. FRECUENCIAS DE LAS SEROVARIEDADES OBSERVADAS EN PERROS VACUNADOS POR PERÍODOS.

		SEROVARIEDADES																	
		Ballico	Muenchen	Ballum	Canicola	Celledoni	Cynopteri	Djasiman	Grippotyphosa	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Mini Sari	Panama	Pomona	Mosdok	Pyrogenes	Shermani	Tarassovi	Positivas a más de un serovar
PERÍODOS	SEROVARIEDADES POSITIVAS																		
Menores a 6 meses	12	0	0	1	2	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	2	6
De 6 meses 1 día hasta 12 meses	56	2	2	1	23	1	1	2	2	0	8	4	1	2	2	1	3	1	14
Fuera del periodo anual	7	0	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2
Total	75	2	2	2	27	1	3	2	3	1	11	7	1	3	3	1	3	3	

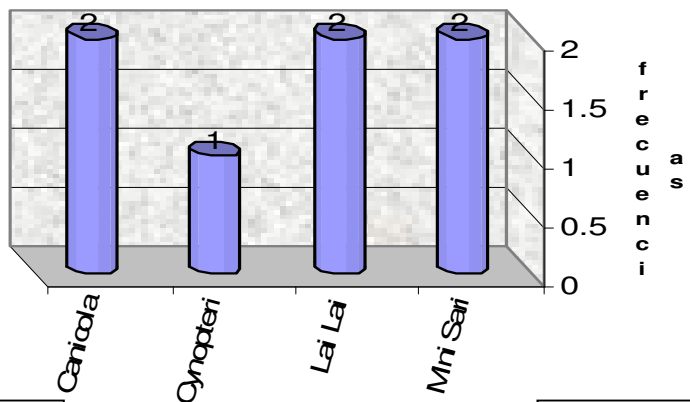
GRÁFICAS 7, 8 y 9. DE FRECUENCIAS DE LAS SEROVARIEDADES OBSERVADAS EN PERROS VACUNADOS POR PERÍODOS.



De 6 meses 1 día, antes del año



Fuera del período anual



DE 41 MUESTRAS POSITIVAS 4 SE ENCUENTRAN EN ÉSTE PERÍODO

serovariedades

EN ESTE PERÍODO 2 MUESTRAS FUERON POSITIVAS A MÁS DE UN SEROVAR

Tabla 11. FRECUENCIAS Y PORCENTAJES DE LOS SEROGRUPOS ENCONTRADAS EN PERROS CALLEJEROS

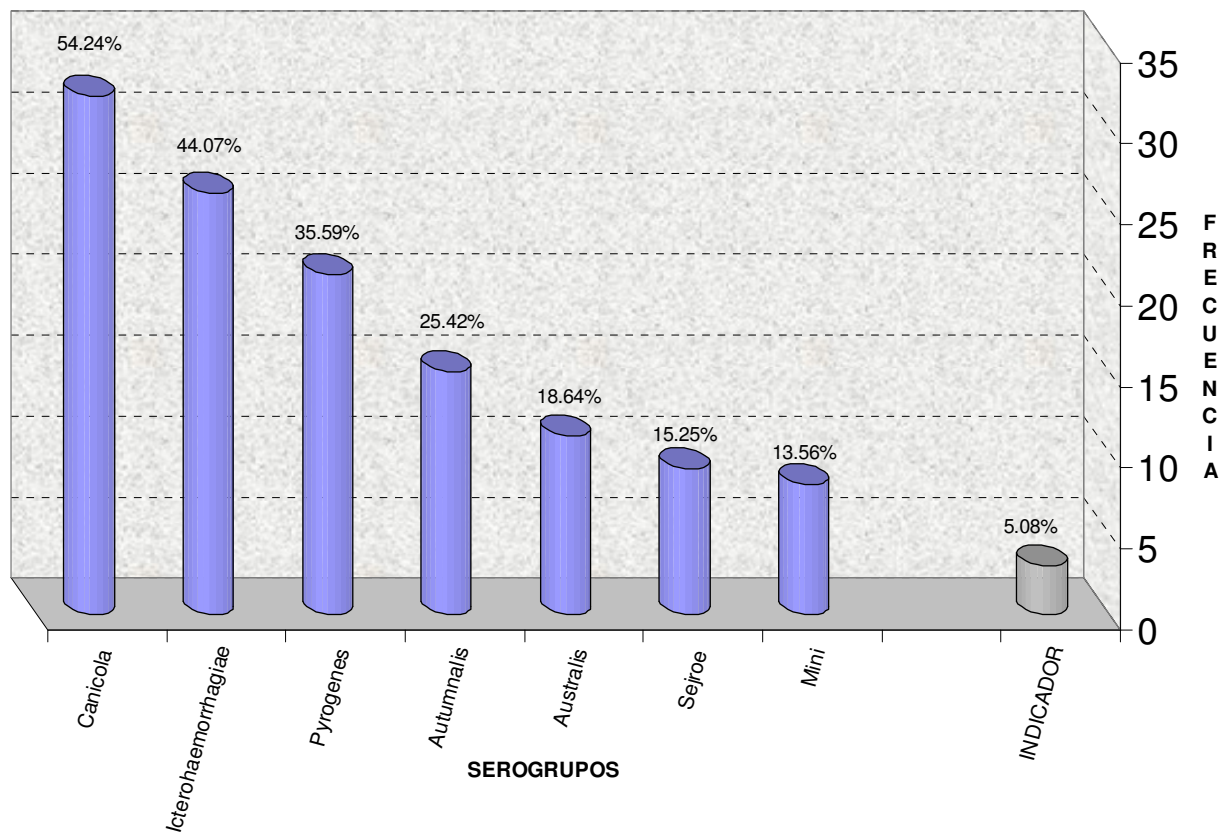
SEROGRUPOS Y SUS SEROVARIEDADES

SEROGRUPO	Canicola	Icterohaemorrhagiae		Pyrogenes	Autumnalis	Australis			Sejroe		Mini	INDICADOR DE FRECUENCIAS MENORES A "5"	
												Mosdok	Bataviae
Frecuencia Por serogrupo	32	26		21	15	11			9		8	3	
%	54.24%	44.07%		35.59%	25.42%	18.64%			15.25%		13.56%	5.08%	
SEROVARIEDADES	Canicola	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Pyrogenes	Autumnalis	Ballico	Bratislava	Muenchen	Hardjo	Wolffi	Mini Sari	Mosdok	Bataviae
Frecuencia por serovar	32	13	13	21	15	2	8	1	8	1	8	2	1
%	54.24%	22.03%	22.03%	35.59%	25.42%	3.39%	13.56%	1.69%	13.56%	1.69%	13.56%	3.39%	1.69%

Total de Muestras Positivas: 59

Donde 31 salieron positivas a más de una Serovariedad.

Gráfica 10. FRECUENCIAS Y PORCENTAJES DE LOS SEROGRUPOS ENCONTRADOS EN PERROS CALLEJEROS



El Indicador se compone de los serogrupos con menos de 5 frecuencias que son: Mosdok y Bataviae

Tabla 12. CORRELACIÓN DE LAS FRECUENCIAS OBSERVADAS DE LAS SEROVARIEDADES DE AMBOS GRUPOS

		SEROVARIEDADES																						
		Ballico	Bratislava	Muenchen	Autumnalis	Ballum	Batavie	Canicola	Celledoni	Cynopteri	Djasiman	Grippotyphosa	Bornicana	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Mini Sari	Panama	Pomona	Mosdok	Pyrogenes	Hardjo	Wolffi	Shermani	Tarassovi
Vacunados		2	0	2	0	2	0	27	1	3	2	3	0	1	11	7	1	3	3	1	0	0	3	3
Callejeros		2	8	1	15	0	1	32	0	0	0	0	0	13	13	8	0	0	2	21	8	1	0	0

6.1. ANALISIS DE RESULTADOS

6.1.1. PRUEBA DE X^2

Tabla 13. RESULTADOS DE LO OBSERVADO

	OBSERVADO	
	VACUNADOS	CALLEJEROS
POSITIVOS	42	59
NGATIVOS	108	100

Tabla 14. RESULTADOS DE LO ESPERADO

	ESPERADO		
	VACUNADOS	CALLEJEROS	TOTAL
POSITIVOS	48.54	51.46	100
NGATIVOS	101.46	107.54	209
TOTAL	150	159	309

$X^2 = 3.368$ con una probabilidad de 0.0665

De acuerdo con la prueba de X^2 la condición callejeros y vacunados es independiente de la condición positivo ó negativo, no hay forma de decidir si hay más positivos ó negativos en un grupo u otro.

6.1.2. PRUEBA DE KENDALL'S TAU

Tabla 15. CORRELACIÓN DE LAS FRECUENCIAS OBSERVADAS EN LAS SEROVARIEDADES DE AMBOS GRUPOS.

		SEROVARIEDADES																						
		Ballico	Bratislava	Muenchen	Autumnalis	Ballum	Batavie	Canicola	Celledoni	Cynopteri	Djasiman	Grippotyphosa	Bornicana	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Mini Sari	Panama	Pomona	Mosdok	Pyrogenes	Hardjo	Wolffi	Shermani	Tarassovi
Vacunados		2	0	2	0	2	0	27	1	3	2	3	0	1	11	7	1	3	3	1	0	0	3	3
Callejeros		2	8	1	15	0	1	32	0	0	0	0	0	13	13	8	0	0	2	21	8	1	0	0

Al realizar la prueba de Kendall's TAU, se encontró un valor de -0.1071, el cual al leerlo en la tabla Z sugiere una distribución independiente entre cada grupo ($p > 0.05$), es decir los callejeros se distribuyen independientes a los vacunados.

VII. DISCUSIONES

Se observa una mayor positividad en perros callejeros que en vacunados, en callejeros se encontraron 59 positivos de 160 muestras (36.9%), 100 negativas (62.5%) y una muestra insuficiente (0.6%), en vacunados, 42 positivas de 151 muestras (27.2%), 108 negativas (71.5%) y 1 muestra insuficiente (0.7%) sin embargo al realizar la prueba de X^2 para correlacionar los resultados de ambos grupos dio como resultado que: $X^2 = 3.368$ con una probabilidad de 0.0665, al interpretarse este valor nos dice que la condición callejeros y vacunados es independiente de la condición positivo ó negativo, esto quiere decir que no hay forma de decidir si hay más positivos ó negativos en un grupo u otro.

Los perros callejeros de los cuales se desconoce si alguna vez fueron expuestos a la vacuna, se observaron 13 serovariedades, donde la de mayor frecuencia fue Canicola y en segundo lugar Pyrogenes, observar la serovariedad Canicola es de esperarse por ser característica de especie y son más susceptibles a ésta serovariedad, sin embargo sus titulaciones tan altas nos hacen pensar que no son producidas por anticuerpos vacunales sino por exposición a la bacteria en el medio, en el caso de Pyrogenes; se llegó a pensar que estaba haciendo una reacción cruzada con la serovariedad Canicola, ya que la mayoría de las muestras positivas a Canicola estaban positivas a Pyrogenes, sin embargo, al analizar a los perros vacunados con una alta incidencia en la serovariedad Canicola, no se presentó la misma frecuencia de Pyrogenes lo que nos hace suponer que la relación de estas dos serovariedades en los callejeros no está dada por una reacción cruzada; sino por una exposición independiente de las serovariedades, recordando que éstas dos serovariedades no pertenecen al mismo serogrupo (Fontaine, 2002).

También se encuentra presente la serovariedad Automnalis ocupando el 3er lugar en frecuencia y no se observa en perros vacunados por lo que su presencia nos indica que está en el medio infectando a los perros callejeros, actuando estos como huéspedes incidentales.

Las serovariedades Pyrogenes y Automnalis a pesar de su presencia y alta frecuencia en callejeros no están presentes en ninguna vacuna, esto puede ser debido a que Pyrogenes tiene un bajo impacto de infección para producir enfermedad, tanto en los perros como en el humano, sin embargo, la serovariedad Automnalis si puede afectar a otras especies y el perro puede estar actuando como transmisor de ésta serovariedad.

En el grupo de perros vacunados, al desglosar los resultados y sus porcentajes por su fecha de vacunación de los perros positivos; los animales clasificados en el 1er. período del total de perros vacunados (151), 57 se encontraron aquí y tan solo 7 de éstos fueron seropositivos y 6

muestras fueron positivas a más de una serovariedad. Sin olvidar que hubo otros 7 que si presentaron titulación pero inferior a la establecida por el parámetro de corte para declararlos como positivos; a estas muestras se les denomino como falsas positivas. En este período se observó una frecuencia baja, donde Canicola tuvo 2 repeticiones al igual que Tarassovi y de las serovariedades Ballum, Cynopteri, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Lai Lai, Mini Sari, Pomona y Mosdok tan solo hubo una.

En el 2º período de perros vacunados, de 151 muestras 81 estuvieron en este rango y de estas mismas tan solo 31 fueron positivas, 12 muestras fueron positivas a más de una serovariedad, presentándose 9 con titulación menor al rango establecido, es decir falsas positivas. Se obtuvo una seropositividad mayor en comparación con el 1er período. La serovariedad con mayor frecuencia fue Canicola con 23, la 2ª es Lai Lai con 8, Mini Sari y Shermani tuvieron 4 y 3 repeticiones respectivamente, Ballico, Muenchen, Djasiman, Grippytyphosa, Pomona y Mosdok 2 repeticiones; Ballum, Celledoni, Cynopteri, Panama, Pyrogenes y Tarassovi tan solo 1.

De la última clasificación o período, donde los perros estaban fuera del esquema anual de vacunación 13 muestras se encontraron en esta categoría y tan solo 4 fueron positivas, Y dos muestras positivas a más de una serovariedad. Encontrando seropositividad en las serovariedades Canicola, Lai Lai y Mini Sari con dos repeticiones cada una.

Analizando las serovariedades encontradas y su frecuencia en el grupo de perros vacunados, hay más de los que se encuentran en las bacterinas utilizadas para canidos.

La mayoría de los laboratorios que las producen contienen las serovariedades Canicola e Icterohaemorrhagiae, y solo algunos manejan las serovariedades Pomona, Hardjo y Grippytyphosa aparte de las ya antes mencionadas. Esto puede explicar la presencia de estas serovariedades en los resultados, sin embargo las otras serovariedades presentes puede estar vinculado a una inmunidad cruzada entre serovariedades pertenecientes al mismo serogrupo, pero no inmunidad cruzada entre serogrupos (Fontaine; 2000) ó bien por haber estado en contacto con el agente infeccioso y no haber desarrollado la enfermedad por la inmunización previa que hace que el curso de la enfermedad sea leve confundiendo su sintomatología con alguna otra enfermedad febril ó hasta presentar un cuadro silencioso, ó simplemente porque son serovariedades que no causaron enfermedad en ésta especie, sin que esto evite que actúen como portadores sanos (Fontaine, 2002).

Esto hace pensar que los perros vacunados si están inmunizados contra las serovariedades más frecuentes de especie como son Canicola e Icterohaemorrhagiae sin embargo no en el lapso

esperado que es un año como lo indica la vacunación, según el siguiente protocolo: Dos inyecciones como primovacuna en un intervalo de 2 a 3 semanas y después una dosis anual de refuerzo. De éste modo la protección que confiere una primovacuna es alta pero de corta duración, y se observa que después de alcanzar un título aproximado de 1:320 tras la revacunación, los títulos descienden hasta alcanzar valores inferiores al límite de detección (1:80) en 4 ó 6 meses. (Fontaine, 20002).

Al considerarse poco significativas, estadísticamente hablando, las frecuencias de las serovariedades menores a 5; se hizo un análisis de frecuencia por serogrupo; basándonos en el cruce antigénico que podría haber entre serovariedades del mismo serogrupo, donde se sumaron las frecuencias de las serovariedades pertenecientes al mismo serogrupo y aumentar las frecuencias para una mayor significancia, sin embargo, aún así hubo serogrupos que su presencia no fue mayor a 5, como lo es el caso de Mosdok y Bataviae en perros callejeros y los serogrupos Sejroe, Ballum, Celledoni, Bataviae, Cynopteri y Pyrogenes en perros vacunados. Por lo que tan solo se agruparon como un indicador el cual significa que están presentes, pero su frecuencia no es significativa o valida para un análisis estadístico.

En el análisis por serogrupo, en los perros callejeros se observó una mayor frecuencia en el serogrupo Canicola, con 32 repeticiones (54.4%), en 2° lugar el serogrupo Icterohaemorrhagiae, que se compone por las serovariedades Icterohaemorrhagiae y Lai Lai, con 26 repeticiones (44.07%), en 3er lugar Pyrogenes con 21 repeticiones (35.59%), Automnalis tuvo 15 (25.42%), Australis 11 (18.64%), Sejroe 9 (15.25%), Mini 8 (13.56%), los serogrupos con menos de 5 frecuencias fueron Mosdok y Bataviae que son los que se marcaron tan solo como un indicador representando el 5.08%.

En los perros vacunados los serogrupos más frecuentes fueron Canicola e Icterohaemorrhagiae, que es de esperarse por ser los presentes en las vacunas.

En ambos grupos coinciden Canicola e Icterohaemorrhagiae en 1° y 2° lugar respectivamente en seropositividad con mayor frecuencia, por ser característicos de especie.

Debido a que la prueba de X^2 no se ajusta a nuestros resultados para correlacionar las frecuencias de ambos grupos por la diferencia de serovariedades presentes, las frecuencias, fueron correlacionadas con la prueba no paramétrica de Kendall's TAU y al realizarla, se encontraron un valor de -0.1071, el cual al leerlo en la tabla Z sugiere una distribución independiente entre cada grupo ($p > 0.05$), es decir los callejeros se distribuyen independientes a los vacunados

VIII. CONCLUSIONES

Con el trabajo realizado se puede concluir que:

1. De acuerdo con el objetivo general, se demostró la presencia ó seropositividad de diversas serovariedades de *Leptospira interrogans* tanto en perros callejeros como en perros vacunados al sur de la Cd. De México.
2. Los perros callejeros y vacunados, aparte de tener una seropositividad a los serogrupos Canicola e Icterohaemorrhagiae, característicos de especie; también presentaron seropositividad y serovariedades no comunes en la especie.
3. Se observó que el pico de inmunización se alcanza entre los 6 y 8 meses de haber aplicado la vacuna, después de ésta fecha los anticuerpos bajan sus títulos hasta casi desaparecer antes del año.

IX. RECOMENDACIONES

Se cree que los perros están protegidos por tener un esquema anual de vacunación completo, el cual consiste en dos inyecciones como primovacuna en un intervalo de 2 a 3 semanas y después una dosis de refuerzo anual. Sin embargo al tomar en cuenta los tres períodos de vacunación, se observa que la inmunización es deficiente, ya que les da un período de susceptibilidad de 6 a 8 meses donde están expuestos a contraer al agente infeccioso para desarrollar la enfermedad, ya que si bien se encontraron anticuerpos contra las serovariedades más frecuentes que producen la enfermedad, no están inmunizados por un tiempo razonable.

Por lo que se considera necesario:

1. Administrar una dosis de refuerzo cada 6 meses y no anualmente para no dejar que los anticuerpos bajen a un nivel no detectable ya que si se espera un año para revacunar, esos animales tardarán otros 6 meses para estar en el pico de inmunización.
2. Mantener a los animales que están en contacto con el hombre sanos, para que se pueda romper el ciclo de transmisión.
3. Aunque en el humano no está indicada la vacunación, se podría prevenir a las personas en alto riesgo de contagio como lo son veterinarios, granjeros, y personas relacionadas con el manejo de animales.

Notas: La vacuna para humanos no se encuentra en nuestro país, aunque si existe en otros países donde se aplica.

Hasta este momento solo un laboratorio maneja la bacterina de *Leptospira interrogans* para perros, para poderse aplicar sola cada 6 meses, los otros laboratorios la manejan combinada con vacunas que previenen otras enfermedades.

Las vacunas manejadas por diferentes laboratorios tienen una protección a diferentes serovariedades de *Leptospira interrogans*, sin embargo todas tienen las serovariedades Canicola e Icterohaemorrhagiae.

ACTIVIDAD	F E C H A S.						
Solicitud de apoyo al antirrabico	16 de mayo del 2006						
Autorización del antirrabico	26 de mayo del 2006						
Toma de muestras en el antirrabico	7 de julio del 2006 1 a la 10 14 de julio del 2006 11 a la 20 21 de julio del 2006 21 a la 30 28 de julio del 2006 31 a la 40	4 de agosto del 2006 41 a la 50 18 de agosto del 2006 51 a la 60 25 de agosto del 2006 61 a la 70	6 de septiembre del 2006 71 a la 80 13 de septiembre del 2006 81 a la 90 20 de septiembre del 2006 91 a la 100 27 de septiembre del 2006 101 a la 110	6 de octubre del 2006 111 a la 120 13 de octubre del 2006 121 a la 130 20 de octubre del 2006 131 a la 140 27 de octubre del 2006 141 a la 150	3 de noviembre del 2006 151 a la 160		
Cultivo de sueros positivos	14 de julio del 2006 21 de julio del 2006 28 de julio del 2006	4 de agosto del 2006	13 de septiembre del 2006 20 de septiembre del 2006	6 de octubre del 2006 27 de octubre del 2006			
Lectura de cultivos	21 de julio del 2006	11 de agosto del 2006 18 de agosto del 2006 25 de agosto del 2006	13 de septiembre del 2006 20 de septiembre del 2006 27 de septiembre del 2006	6 de octubre del 2006	1° de noviembre del 2006 15 de noviembre del 2006 29 de noviembre del 2006	5 de diciembre del 2006 19 de diciembre del 2006	6 de enero del 2007 15 de enero del 2007 31 de enero del 2007
Presentación de protocolo en la UNAM	5 de diciembre del 2006						
Aprobación de protocolo en la UNAM	9 de abril del 2007						
Muestreo de perros vacunados	De abril a julio del 2007						
Presentación de protocolo en el InDRE	Septiembre del 2007						
Procesamiento de muestras	13 Septiembre del 2007 1 a la 30 (callejeros) 20 Septiembre del 2007 31 a la 60 (callejeros) 27 Septiembre del 2007 61 a la 90 (callejeros)	4 de Octubre del 2007 91 a la 120 (callejeros) 11 de Octubre del 2007 121 a la 150 (callejeros) 18 de Octubre del 2007 151 a la 160 (callejeros) 1 a la 20 (vacunados) 25 de Octubre del 2007 21 a la 50 (vacunados)	1 de Noviembre del 2007 51 a la 80 (vacunados) 8 de Noviembre del 2007 81 a la 110 (vacunados) 15 de Noviembre del 2007 111 a la 140 (vacunados) 22 de Noviembre del 2007 141 a la 160 (vacunados)				
Análisis de resultados	Mayo y junio de 2008						
Presentación de seminario	Junio 2008						
Conclusiones	Junio del 2008						

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Basurto A. Francisco J., Marín H. J. 2003, Diplomado a distancia en medicina, cirugía y zootecnia en perros y gatos (módulo 2, enfermedades infecciosas) 6ª edición, UNAM, FMVZ, México, D.F.
2. Bichard S. J., Sherding B. G. 1998, Manual Clínico de Procedimientos en Pequeñas Especies, Vol. I y II, Ed. Mc Graw Hill-Interamericana, 2ª edición, España.
3. Braselli, Adelina. 2002, Leptospirosis. [http://www.infecto.edu.uy/revisiontemas / tema 25](http://www.infecto.edu.uy/revisiontemas/tema%2025). Uruguay.
4. Collier L, Balows A, Sussman M. 1998, Microbiology and Microbial infection. Vol. III. Bacterial infections. 9ª Edition. Chapter 42: 849-869.
5. Daniel Wayne, 2002 Bioestadística, bases para el análisis de las ciencias de la salud. Ed. Limusa Wiley. 4ª edición.
6. Davies, Ch. Shell, L. 2000, Diagnósticos frecuentes en pequeños animales un método algoritmico. Ed. Mc. Graw-Hill. España.
7. Faine S., Ader B., Bolin C. 2000, *Leptospira* and leptospirosis. CRC Press. Boca Raton. FL. USA.
8. De La Rosa A. J., 2000, Zoonosis: Manual de procedimientos para el diagnóstico de laboratorio, InDRE, México.
9. Figueroa, M. 1984, Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centro América. Editorial Universal Estatal a distancia. San José, [Costa Rica](#). 173-194.
10. Finlay Carlos J. 2000, Leptospirosis humana: ¿un problema de salud? Rev. Cubana Salud Pública 26(1): 27-34 Ministerio de Salud Pública Escuela Nacional de Salud Pública "
11. Fontaine, A. 2002, Leptospirosis canina. Enciclopedia Veterinaria – Medicina general. Ediciones Científicas de Medicina Elsevier. Paris. Francia.
12. Greene E. C. 2002, Enfermedades infecciosas en perros y gatos, Mc. Graw-Hill, 2ª edición;
13. Halbrohr, G. 1982, Ecología y epidemiología de la leptospirosis en Venezuela. Boletín de salud pública del ministerio de salubridad y asistencia social. Caracas, Venezuela.

14. Larry P, Francis; W.Y Smith Jr. 1998, La Consulta Veterinaria en 5 Minutos Canina y Felina Edit. Interamericana Pag. (806-807) Columbia.
15. Laguna Torres, Victor A. 2000, Leptospirosis. Oficina General de Epidemiología / Instituto Nacional de la Salud. Lima, Perú.
16. López A. J. 2004, Determinación de los niveles de seropositividad a *Leptospira* en perros callejeros de la ciudad de Puebla. Tesis de Licenciatura. Puebla, Puebla. México. Universidad Autónoma de Puebla.
17. Malta. 2003. WHO.-ILS Human Leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. World Health Organization- International Leptospirosis Society. NLM classification: WC 420,
18. Martínez M. Dolores. 2006 Epidemiología, sistema único de información, Número 6, Volumen 23, semana 6.
19. Merck Sharp. 1988. Manual Merck de veterinaria. Edit. Centrum. Barcelona, España.
20. Murray Patrick. R. 1996 Microbiología Médica, Editorial Mosby España, (244-247).
21. Nicodemo, A.; N. Medeiro 1989 Alteraciones hematológicas en leptospirosis. Rev. Inst. Met. Trop. Sao Paulo Brasil. 31: - 79.
22. Tizard Ian R. 1998. Inmunología Veterinaria. Edit. McGraw- Hill. México.
23. T.S.C. Subcommittee on the Taxonomy of *Leptospira* 1986. Clasificación taxonómica de *Leptospira* <http://www.e-canina.com.ar/Veterinario.Leptospirosis.html>
24. Vado Solís I. Cárdenas M. Laviada M. H. 2002 Estudio de casos clínicos e incidencia de leptospirosis humana en el estado de Yucatán; México durante el periodo 1998 AL 2000. Rev. Biomed, 13:157-164. 157 Vol. 13/No. 3/Julio-Septiembre, Departamento de Patología Tropical, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida. Yucatán, México.
25. Wohl James S. 1996, Canine leptospirosis continuin education article Vol. 18, N: 11 November.

Anexo 1. DATOS OBTENIDOS DEL GRUPO DE PERROS CALLEJEROS

TITULACIÓN	SEROVARIEDADES																				Número de Muestras			
	Ballico	Bratislava	Muenchen	Autumnalis	Ballum	Batavie	Canicola	Celledoni	Cynopteri	Djasiman	Grippotyphosa	Bornicana	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Mini Sari	Panama	Pomona	Mosdok	Pyrogenes	Hardjo		Wolffi	Shermani	Tarassovi
1/80	1	5	1	6	0	1	5	0	0	0	0	0	3	5	4	0	0	2	7	1	1	0	0	42
1/160	1	2	0	3	0	0	7	0	0	0	0	0	3	4	3	0	0	0	5	4	0	0	0	32
1/320	0	1	0	6	0	0	11	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	26
1/640	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2	1	0	0	0	4	1	0	0	0	12
1/1280	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
1/2560	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4
1/5120	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	4
1/10240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/20480	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1/40960	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1/81920	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
MUESTRAS	2	8	1	15	0	1	32	0	0	0	0	0	13	13	8	0	0	2	21	8	1	0	0	127

Positivas 59
 Negativas 100
 M. I. 1
 TOTAL 160

Positivas a
 mas de una
 serovariedad 31

M.I. Muestra Insuficiente

Anexo 2. DATOS OBTENIDOS DEL GRUPO DE PERROS VACUNADOS

SEROVARIEDADES

	Ballico	Bratislava	Muenchen	Autumnalis	Ballum	Batavie	Canicola	Celledoni	Cynopteri	Djasiman	Grippotyphosa	Bornicana	Icterohaemorrhagi ae	Lai Lai	Mini Sari	Panama	Pomona	Mosdok	Pyrogenes	Hardjo	Wolffi	Shermani	Tarassovi	Resultado de Muestra	
TITULACIÓN																									
1/80	2	2	3	0	0	1	14	1	0	2	1	0	1	4	7	3	4	0	0	1	2	2	1	51	
1/160	4	1	2	0	3	2	9	2	2	1	2	0	0	7	6	3	1	1	0	0	0	6	3	55	
1/320	0	0	1	0	1	0	7	0	0	2	3	0	0	3	0	0	3	2	0	0	0	1	2	25	
1/640	0	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	11	
1/1280	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	
1/2560	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
1/5120	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
	7	3	6	0	4	3	41	4	3	5	6	0	2	15	14	6	8	3	1	1	2	9	7	150	

MUESTRAS

Positvas	42
Falsa Positvas	17
Negativas	91
M. I.	1
TOTAL	151

Positvas a más de una serovariedad 23

M.I. Muestra Insuficiente

Anexo 3. DATOS OBTENIDOS DE PERROS VACUNADOS DIVIDIDOS POR PERÍODOS

SEROVARIEDADES																						Muestras Positivas	Positivas a más de una serovariedad		
Ballico	Bratislava	Muenchen	Autumnalis	Ballum	Batavie	Canicola	Celledoni	Cynopteri	Djasiman	Grippotyphosa	Bornicana	Icterohaemorrhagiae	Lai Lai	Mini Sari	Panama	Pomona	Mosdok	Pyrogenes	Hardjo	Wolffi	Shermani			Tarassovi	
En los últimos 6 meses	0	0	0	0	1	0	2	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	2	12	6	
Entre 6 y 12 meses	2	0	2	0	1	0	23	1	1	2	2	0	0	8	4	1	2	2	1	0	0	3	1	56	14
Más de 12 meses	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	7	2	
Total																						75	22		

	Positivas	Negativas	Falsa Positivas	M. I.	Total
Menores a 6 meses	7	43	7	0	57
En los últimos 12 meses	31	39	10	1	81
Más de 12 meses	4	9	0	0	13
	42	91	17	1	151
Total	42	108	17	1	151

M.I. Muestra Insuficiente