



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**ASOCIACIÓN DE LEPTOSPIRA CON LOS  
ROEDORES NATIVOS Y EXÓTICOS DE  
LA ISLA COZUMEL, MÉXICO**

**T E S I S**  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
P R E S E N T A:  
**JOSÉ DE JESÚS SOTOMAYOR BONILLA**

Director de tesis:  
Dr. Alfredo D. Cuarón Orozco

Asesores:  
Dra. María Alejandra Ayanegui-Alcérreca  
Dr. Gerardo Suzán Azpiri



MÉXICO D.F.

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.

Este trabajo se llevó a cabo gracias al apoyo económico del Fondo Sectorial de Investigación Ambiental SEMARNAT-CONACyT, con el proyecto “Ecología y manejo para la conservación de una biota endémica insular críticamente amenazada” (SEMARNAT-2002-C01-0571), bajo la dirección del Dr. Alfredo D. Cuarón Orozco y el Dr. Francisco Galindo Maldonado.

Agradezco la participación en el desarrollo de esta tesis a todos mis tutores:

Dr. Alfredo D. Cuarón Orozco

Dra. María Alejandra Ayanegui-Alcérreca

Dr. Gerardo Suzán Azpiri

Así como a los miembros del jurado:

Presidente: Dr. Alejandro de la Peña Moctezuma

Vocal: MVZ Daniel Atilano López.

Secretario: MVZ MSc Fernando Gual Sill

Jurado: Dr. Gerardo Suzán Azpiri

Jurado: MVZ Sandra Hernández Méndez

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco el apoyo del personal de la Comisión de Agua Potable y Alcantarillado de Cozumel y a los propietarios de todos los sitios en donde me permitieron realizar muestreos durante el trabajo de campo. También a todo el personal de la Sociedad Humanitaria de Cozumel A.C., en especial a su directora, Mónica Velasco, y a la MVZ Matilde Balcorta, por su colaboración en el proyecto y en el procesamiento de las muestras. Gracias Alfredo por invitarme a participar en este proyecto que literalmente cambió el rumbo de mi vida profesional; gracias por instruirme, orientarme, abrir mi mente e inducirme a estos temas y proyectos que tanto me interesan. Gracias Ale por ser mi mayor motivadora durante este largo proceso, por introducirme al mundo de *Leptospira*, su diagnóstico e interpretación, y sobre todo, por estar tan pendiente de mi trabajo participando muy activamente. Gracias Gerardo por guiarme durante este proceso, por compartir tus conocimientos para esta tesis y para mi desarrollo profesional y por motivarme a seguir en el camino de la investigación. Gracias a mis mentores ratoneros (Elisa y Rodrigo) por enseñarme a trampear ratones, manejarlos y por hacer el trabajo de campo muy divertido. Gracias a todos los cozumeleños que me ayudaron en el trabajo de campo (Sandra, Héctor, Christopher, Olivia, Itzel, Daniel, Manuel), por dedicar tanto tiempo y sudor para mi trabajo. Gracias en especial al Dr. Alejandro de la Peña Moctezuma por permitir realizar las pruebas diagnósticas en el Laboratorio de Vacunología y Leptospirosis del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, el cual dirige. Gracias a todo el personal de dicho laboratorio, en especial a Lupita, Raquel, Liliana y Elena, por ayudarme y enseñarme tantas cosas durante el trabajo de laboratorio. Gracias al Dr. Daniel Atilano por orientarme

en la lectura de las pruebas diagnósticas, y los demás miembros del jurado por dedicar parte de su tiempo a la lectura de mi tesis. Gracias a Heliot Zarza por ayudarme tan amable y oportunamente con la geo-referenciación de mis sitios de muestreo. Gracias a Carolina y a Liv porque de una u otra forma hicieron posible la presentación de este trabajo en distintos foros. Gracias a todos mis amigos que participaron o no en este proyecto, por ser parte tan importante en todos los aspectos de mi vida y por preocuparse y apoyarme para mi superación día tras día. Gracias a toda mi familia por apoyarme incondicionalmente. Y sobre todo, muchísimas gracias a mi madre porque gracias a ella tengo una vida feliz y he llegado hasta donde estoy.

## RESUMEN

Existe una preocupación mundial por los efectos en la salud pública y en la conservación por las enfermedades infecciosas emergentes. Su dispersión puede facilitarse por la introducción de especies, existiendo mayores riesgos en los sistemas insulares. Evalué la asociación entre la seroprevalencia a diferentes serovariedades de *Leptospira* con una especie de roedor endémico (*Oryzomys couesi cozumelae*) y dos de exóticos (*Mus musculus* y *Rattus rattus*), considerando las características ambientales de la Isla Cozumel. Obtuve sueros de *Oryzomys* (n=66), *Mus* (n=156) y *Rattus* (n=57) de diferentes áreas de la isla, de enero a mayo de 2007. Utilicé la Aglutinación Microscópica para detectar anticuerpos anti-*Leptospira* en dichos sueros, así como análisis por  $\chi^2$  y modelos de regresión logística simple (RL) para asociar la seroprevalencia con la especie de roedor, la zona de captura, la edad y el sexo. Las serovariedades más prevalentes fueron Australis (73%), Canicola (67%) y Ballum (42%), mientras que Icterohaemorrhagiae y Autumnalis presentaron seroprevalencias <26%. No encontré diferencias significativas entre especies en la seroprevalencia de Australis. *Oryzomys* y *Mus* presentaron una seroprevalencia de Canicola >71%, significativamente mayor, comparado al 14% en *Rattus*. La seroprevalencia de Ballum osciló entre 39 y 49% en *Oryzomys* y *Mus*, respectivamente, significativamente mayor al 23% en *Rattus*. El modelo de RL fue significativo para la especie y el sitio de captura de las serovariedades más prevalentes. La infección de *Leptospira* en animales silvestres y domésticos incluye diversas relaciones serovariedad-huésped como demuestran los resultados de seroprevalencia y su asociación con las diferentes variables. Una serovariedad puede ser específica para un huésped y endémica de

una región particular. Los resultados indican la predominancia de *Australis* en los roedores insulares y sugieren que pueden servir como reservorios de *Leptospira* patógenas, representando un riesgo de transmisión para animales silvestres, domésticos y humanos. Esto es particularmente preocupante en un sitio prioritario para la conservación de la diversidad biológica mundial, como es la Isla Cozumel.

## TABLA DE CONTENIDOS

1	INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2	MARCO TEÓRICO GENERAL	5
2.1	Introducción de roedores exóticos en islas	5
2.2	Leptospirosis	8
3	HIPÓTESIS	15
4	OBJETIVO GENERAL	16
5	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
6	MATERIAL Y MÉTODOS	18
6.1	Área de estudio	18
6.2	Sujetos de estudio	20
6.3	Trabajo de campo	22
6.3.1	Zonas de captura	23
6.3.1.1	Zonas Naturales (ZN)	23
6.3.1.2	Zonas Naturales con Influencia Antrópica (ZNIA)	23
6.3.1.3	Zonas Urbanas	24
6.3.2	Manejo animal	24
6.4	Trabajo de laboratorio	25
6.4.1	Selección del panel de serovariedades empleados para la prueba de Aglutinación Microscópica	25
6.4.2	Cepas de referencia	27
6.4.3	Muestras de suero	28
6.4.4	Placa maestra con dilución inicial del suero	29

6.4.5	Diluciones del suero para prueba de aglutinación microscópica	29
6.5	Análisis de datos	30
7	RESULTADOS	34
7.1	Capturas y esfuerzo de muestreo	34
7.2	Seroprevalencias totales	35
7.3	Variables de asociación de seroprevalencia de las diferentes serovariedades	38
8	DISCUSIÓN	41
9	CONCLUSIONES	52
10	REFERENCIAS	53
11	APÉNDICE	63

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 6.1 Mamíferos endémicos de Cozumel (Modificado de Cuarón 2009)	19
Cuadro 6.2 Cepas de las serovariedades de <i>Leptospira</i> utilizadas para la prueba de Aglutinación Microscópica	26
Cuadro 6.3 Cálculo aproximado del volumen necesario de antígeno para la realización de la Aglutinación Microscópica	28
Cuadro 6.4 Ejemplo de la manipulación de títulos, títulos codificados y transformación a título recíproco	33
Cuadro 7.1 Especie, zona de captura de acuerdo al nivel de influencia antrópica, sexo y clase de edad de los individuos capturados	35
Cuadro 10.1 Perfil seroepidemiológico de la leptospirosis epidémica	63
Cuadro 10.2 Perfil seroepidemiológico de la leptospirosis endémica	64
Cuadro 10.3 Ejemplos de clasificación epidemiológica, presentación clínica y principales lesiones de algunas serovariedades	65
Cuadro 10.4 Sitios de muestreo de la Zona Natural	66
Cuadro 10.5 Sitios de muestreo de la Zona Natural con Influencia Antrópica	67
Cuadro 10.6 Sitios de muestreo de la Zona Urbana	68
Cuadro 10.7 Hembras gestantes capturadas por zona de captura, y número de fetos encontrados a la necropsia	70
Cuadro 10.8 Hembras lactantes capturadas por zona de captura, y número de crías encontradas en el caso de las hembras que anidaron en la trampa	70
Cuadro 10.9 Seroprevalencia, IC 95% y título recíproco de las serovariedades de <i>Leptospira</i> encontradas, por cada especie de roedor de la Isla Cozumel	71

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 7.1 Seroprevalencia total (%) e intervalo de confianza (IC) de 95%, de las serovariedades de <i>Leptospira</i> de las tres especies de roedor estudiadas	36
Figura 7.2 Seroprevalencia (%) de las serovariedades de <i>Leptospira</i> por especie de roedor de Cozumel en conjunto, de acuerdo con la zona donde fueron capturadas dichas especies	37
Figura 7.3 Seroprevalencia (%) e intervalo de confianza (95%) de las serovariedades de <i>Leptospira</i> de cada una de las especies de roedor estudiadas	38
Figura 7.4 Seroprevalencia (%) e intervalo de confianza (95%) de las serovariedades de <i>Leptospira</i> de acuerdo con la clase de edad de los individuos de las tres especies de roedor estudiadas	39
Figura 7.5 Seroprevalencia (%) e IC (95%) de las serovariedades de <i>Leptospira</i> de acuerdo con el sexo de las tres especies de roedor estudiadas	40
Figura 10.1 Frecuencia de los reportes de diferentes serovariedades de <i>Leptospira</i> en Norteamérica, Centroamérica y el Caribe	72
Figura 10.2 Mapa de la Isla Cozumel y las zonas de muestreo	73

# 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

México es el cuarto país en el mundo en riqueza de especies y el segundo país en tipos de ecosistemas (CONABIO, 2008). Lamentablemente, muchos de éstos se han ido deteriorando, poniendo en riesgo a muchas especies. El deterioro puede ser mayor en ecosistemas insulares, puesto que las especies nativas tienen un alto grado de endemismo como resultado de su aislamiento geográfico, de la especiación y la subespeciación (Alcover *et al.*, 1998).

Cozumel, de origen coralino, es la isla más grande del Caribe mexicano (Navarro, 2005; Cuarón, 2009). Alberga al menos 31 taxa de animales endémicos, tres de las cuales son roedores: *Reithrodontomys spectabilis*, *Oryzomys couesi cozumelae*, *Peromyscus leucopus cozumelae* (Jones y Lawlor, 1965; Engstrom *et al.*, 1989; Reid, 1997; Gutiérrez-Granados, 2003; Cuarón, 2009). Estas especies están en alguna categoría de riesgo de conservación dentro de la normatividad mexicana (SEMARNAT, 2002); e incluso, en el caso de *R. spectabilis*, en la lista roja de la Unión Mundial para la Conservación Naturaleza (UICN) (UICN 2008). Por otro lado, *P. l. cozumelae* parece ser el primer roedor extinto en la Isla (Gutiérrez-Granados, 2003; Cuarón, 2009; Fuentes-Montemayor, 2009).

La leptospirosis se considera una de las zoonosis más dispersas en el mundo y es causada por serovariedades patógenas del género *Leptospira* (Bunnell *et al.*, 2000). Tiene un impacto importante tanto en salud animal como pública (Faine, 2004; Bunnell, *et al.*, 2000; Higgins, 2004). Se presenta en todas las regiones del mundo excepto en las polares, preferentemente en zonas tropicales con clima cálido húmedo (Thierman, 1984; Bunnell *et al.*, 2000), como Cozumel. En regiones templadas la infección es estacional, apareciendo según la época del año; su incidencia aumenta en época de lluvias y meses cálidos

(Thierman, 1984; Bunnell *et al.*, 2000; OPS, 2001; Pradutkanchana *et al.*, 2002). Pocas serovariedades son enzoóticas en una región en particular, mientras que la infección y la seroprevalencia dependen de las características ecológicas, tanto del mismo lugar como de la especie (Thierman, 1984; Vanasco *et al.*, 2003). Asimismo, las serovariedades pueden ser constantes en diferentes huéspedes o ecosistemas (Faine, 1994). En ciertas poblaciones de vida silvestre existen brotes de manera regular (Acevedo-Whitehouse, 2003; Bolin, 2003). De la misma manera, un solo individuo puede ser infectado por múltiples serovariedades, cada una de ellas con una relación epidemiológica huésped-serovariedad diferente (Bolin, 2003; Ayanegui-Alcérreca *et al.*, 2007). Por ello, la importancia de conocer la epidemiología de esta enfermedad (Bolin, 2003).

La leptospirosis se transmite por contacto directo con secreciones y excreciones (fluidos de la placenta, leche, orina) infectadas, penetrando por la piel escoriada o mucosas, o bien, por inhalación de fomites contaminados con las mismas. Diferentes mamíferos pueden actuar como reservorios o huéspedes accidentales de las diversas serovariedades patógenas (Faine, 1994; OPS, 2001).

Los pequeños mamíferos, en particular los roedores, son reconocidos como los principales reservorios de *Leptospira*. Juegan un papel dinámico en el mantenimiento, transmisión y diseminación de la infección en forma directa o indirecta, tanto dentro de su propia especie, como a los animales domésticos o al ser humano, al compartir los mismos nichos ecológicos. Además, estos animales están presentes en un gran número de ecosistemas, son altamente oportunistas, adaptables y tienen poblaciones numerosas (Collares-Pereira *et al.*, 2000). Sin embargo, se desconoce el papel de los roedores nativos de Cozumel en la epidemiología de la leptospirosis, cómo contribuyen en su ciclo infeccioso, ni cuál es el impacto en su propia población. En la Isla también habitan especies

que tradicionalmente se reconocen como reservorios de diferentes serovariedades de este patógeno, como perros y mapaches; en cuyas poblaciones se ha confirmado la presencia de *Leptospira* en las poblaciones de mamíferos medianos, como son los perros urbanos y ferales y los mapaches pigmeos (*Procyon pygameus*) (Mena, 2007).

Existe escasa información publicada sobre leptospirosis en roedores de México, y es nula para el caso de las islas (Erosa-Barbachano, 2001; Vado-Solis *et al.*, 2002). Estos estudios, donde se reporta la seroepidemiología o aislados ocasionales de *Leptospira*, se han hecho en *M. musculus* y *R. rattus*, y pertenecen a las serovariedades Ballum e Icterohaemorrhagiae (Erosa-Barbachano, 2001; Carmona *et al.*, 2007). Solamente existe un estudio serológico previo de *Leptospira* en Cozumel, que fue realizado con los carnívoros endémicos e introducidos (Mena, 2007). A pesar de que el estudio no incluyó a los roedores, los resultados obtenidos indicaron la presencia de anticuerpos contra serovariedades típicamente adaptadas tanto a los carnívoros (Canicola y Grippotyphosa), como a los roedores (Australis, Ballum e Icterohaemorrhagiae) (Mena, 2007). Los resultados anteriores podrían ser el efecto de la interacción (contacto indirecto) de los carnívoros con los roedores en el mismo hábitat y/o de la posible depredación de dichos mamíferos pequeños por los carnívoros (contacto directo).

Ante el panorama anterior, investigué la seroprevalencia de las serovariedades más frecuentes de *Leptospira* en los roedores endémicos y exóticos de la Isla Cozumel, y su asociación epidemiológica con la especie animal, y el sexo, edad y zona de captura de los individuos estudiados. El presente trabajo permite conocer datos poblacionales y epidemiológicos de los roedores de dicha isla, donde las especies endémicas tienen un valor insustituible por su historia evolutiva y su papel ecológico. Mientras tanto, las especies exóticas se han convertido en un problema que pudiera poner en riesgo la salud pública y

del ecosistema en general. Este es el primer estudio con evidencias seroepidemiológicas de leptospirosis en estas poblaciones de roedores. Es de utilidad para el futuro manejo de las especies endémicas y el posible control de las especies exóticas. También aporta información para prevenir posibles zoonosis dentro de la población insular.

## 2 MARCO TEÓRICO GENERAL

### 2.1 Introducción de roedores exóticos en islas

En general, las especies insulares se caracterizan por tener un alto grado de endemidad como resultado de su aislamiento geográfico, de la especiación y la subespeciación (Alcover, 1998). Por lo que la presencia de enfermedades, desastres naturales (v.gr., huracanes, incendios) y otros factores antrópicos (v.gr., pérdida y fragmentación del hábitat, introducción de especies) pueden aumentar la susceptibilidad de extinción de dichos organismos (Martínez-Morales y Cuarón, 1999; Cuarón *et al.*, 2004).

Algunos autores consideran que la invasión de especies exóticas es la segunda causa de pérdida de biodiversidad, después de la destrucción directa del hábitat y de la fragmentación (Mack *et al.*, 2000; Courchamp *et al.*, 2003). Las especies exóticas son aquellas que se establecen fuera de su rango de distribución natural. Se consideran agentes de cambio en el ecosistema invadido o donde fue introducida, ya que amenazan a la biodiversidad nativa. Dichos cambios pueden acrecentarse en las islas oceánicas tropicales (Amori y Clout, 2003). En estos ecosistemas, las invasiones son la mayor causa de perturbación y pérdida de biodiversidad (Courchamp *et al.*, 2003). En Cozumel se han identificado especies exóticas como la *Boa constrictor*, *Rattus rattus*, *Mus musculus*, y perros, gatos, ganado vacuno y cerdos ferales (Martínez-Morales y Cuarón, 1999; Cuarón, comunicación personal; observación personal). Sin embargo, no debemos subestimar la importancia que representa tener más información sobre estos organismos. Frecuentemente, las poblaciones impactadas por las invasiones de especies exóticas corresponden a subespecies, e incluso a especies únicas (Courchamp, 2003). El impacto de las especies exóticas puede ser de gran magnitud y se puede medir en cinco niveles: genético,

individual, poblacional, en la composición de la comunidad y en los procesos ecosistémicos (Courchamp, 2003).

Los efectos ecológicos de la introducción de especies son: la variación en abundancias relativas, la desaparición de algunas especies en algunas partes del hábitat, y la extinción de algunas especies (Mack *et al.*, 2000; Courchamp *et al.*, 2003). Sin embargo, los efectos más importantes de la invasión son la competencia por el espacio y/o los recursos, y la liberación de patógenos (Courchamp *et al.*, 2003). Asimismo, se sabe que la introducción de mamíferos terrestres exóticos crea un nuevo potencial para enfermedades zoonóticas (Crump *et al.*, 2001). Los factores que influyen esto son: la identidad, el tamaño poblacional mínimo viable, las características del crecimiento poblacional, de dispersión y la forma en que interactúan las especies patógenas en su nuevo rango, así como los efectos de mitigación del nuevo ambiente (Mack *et al.*, 2000).

Se han registrado 644 introducciones de mamíferos en islas hasta 1988, y datos más recientes indican que la mayoría de las especies comensales han sido introducidas en estos ecosistemas (Courchamp *et al.*, 2003). Los animales más importantes en términos de número de introducciones y daños resultantes son: conejo, cabra, gato, tres especies de ratas, ratón, cerdo y ganado vacuno. Gran parte han sido introducidos deliberadamente, aunque algunos de los peores invasores se han dispersado de manera accidental, como algunos roedores (Mack *et al.*, 2000).

Los roedores son de los mamíferos más ampliamente distribuidos en el mundo, junto con la población humana. Existen 355 especies de roedores endémicas a islas (18% del total de especies de este Orden), de las cuales el 37.6% están amenazadas (Amori y Clout, 2003). Las principales causas que las ponen en riesgo de extinción son la pérdida de hábitat, la cacería intensiva y la propia introducción de especies exóticas. Los tamaños

corporales de las especies de roedores extintas sugieren que las especies pequeñas se extinguen mayormente por la competencia con roedores introducidos, mientras que las especies grandes se ven más afectadas por la cacería y la pérdida de hábitat (Amori y Clout, 2003).

Tres especies de ratas (*R. rattus*, *R. exulans*, *R. norvegicus*) han colonizado al menos 82% de los mayores 123 grupos insulares (Atkinson, 1985), siendo *R. rattus* la que mayor impacto ha tenido. Seguramente algunas de estas invasiones han sido recurrentes. Por lo tanto, pueden ser más aptas para el parasitismo, debido a que una vez que la población del invasor ha incrementado y sigan llegando individuos infectados, puede haber un incremento en la eficiencia de la transmisión de patógenos.

A su vez, los parásitos tienen efectos negativos en la sobrevivencia y fecundidad de individuos, y pueden regular dinámicas poblacionales de los huéspedes. También son factores importantes en las invasiones, donde las poblaciones nativas de huéspedes se infectan con un patógeno nuevo transportado por los huéspedes introducidos (Prender *et al.*, 2004). Sabemos que *R. rattus* y *M. musculus* han sido introducidos en Cozumel (Cuarón, 2009), por lo que pueden ser una amenaza para la biodiversidad nativa, en particular para la fauna.

Existen ejemplos bien documentados en donde se demuestra la interacción de parásitos de animales introducidos con la fauna nativa, como diferentes patógenos del ganado bovino con bisontes nativos de Polonia (*Bison bonasus*) (Kita y Anusz, 1991); el distemper canino con los hurones de patas negras (*Mustela nigripes*) y los leones (*Panthera leo*) del Serengeti (McCarthy *et al.*, 2007); patógenos que afectan al humano con los grandes simios (Leendetz *et al.*, 2006); o la malaria con las aves nativas de la India (Ishtiaq *et al.*, 2006). Estos reportes demuestran la relevancia para la conservación que ha tenido la

liberación de nuevos patógenos por parte de animales introducidos en diferentes ecosistemas; aparte de sus implicaciones en la salud pública y la salud de los animal domésticos.

## 2.2 Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad emergente de origen bacteriano, aguda y febril que afecta a humanos y animales en todo el mundo (Faine, 1999; Levett, 2001). Fue descrita en el año 1886, en Alemania (Weil, 1886). Mientras que el microorganismo se descubrió de manera independiente en Japón y Alemania en 1915 (Levett, 2001). Poco después se describió el papel de las ratas como portadoras y fuente de la zoonosis (Levett, 2001).

Las bacterias del Género *Leptospira* son Gram negativas y pertenecen al Orden *Spirochaetales*, a la Familia *Leptospiraceae* (OMS, 2003). Este género está dividido en 15 especies con base en su clasificación genómica; y en más de 260 serovariedades patógenas y 60 no patógenas agrupadas en 23 serogrupos, con base en su clasificación antigénica. Solamente no existe en las regiones polares (Faine, 1999).

El hábitat natural de las *Leptospira* patógenas es el túbulo renal de animales que funcionan como reservorio o huésped definitivo. También pueden sobrevivir en estanques, ríos y tierra húmeda; generalmente cuando la temperatura ambiental es húmeda y templada, con un pH desde neutro a ligeramente básico. Por otro lado, son destruidas por la desecación, congelación, calor (50°C durante algunos minutos), sales biliares, detergentes y medios ácidos (Quinn y Markey, 2003). Las serovariedades de *Leptospira* patógenas presentan variaciones en su distribución mundial en términos de regiones, países, nichos ecológicos, especies animales afectadas y factores epidemiológicos (Bharti *et al.*, 2003).

Las prevalencias de las diferentes serovariedades se ven influenciadas directamente por el ambiente local (geografía); las características poblacionales de los reservorios (incluyendo la densidad poblacional) y las características ecológicas; del contacto directo o indirecto entre los huéspedes (silvestres, domésticos o humanos); y de su estado inmunológico. Mientras tanto, la capacidad de detectar dicha prevalencia puede ser influenciada por las pruebas diagnósticas que se utilicen (Hathaway *et al.*, 1978; Boqvist *et al.*, 2002; Bharti *et al.*, 2003). Por lo tanto, existen animales (domésticos o silvestres) que pueden ser huéspedes naturales de algunas especies de *Leptospira*, y accidentales de otras (Vanasco *et al.*, 2003). A su vez, cada serovariedad puede estar asociada a la severidad de la enfermedad, a un rango de huéspedes naturales y a una distribución geográfica.

La leptospirosis es común en los climas húmedos tropicales, donde la cantidad de posibles huéspedes, sobrevivencia y transmisión directa o indirecta de la bacteria se ven favorecidos (Bharti *et al.*, 2003). En cambio, en regiones templadas la infección presenta cierta estacionalidad, donde los meses de lluvia y calor son los de mayor incidencia (Thierman, 1984; Pradutkanchana *et al.*, 2002).

En el laboratorio, se ha determinado que las leptospiras patógenas son microorganismos de aerobios a microaerofilicos de gran motilidad, delgados y flexibles (Adler y De la Peña-Moctezuma, 2009). Se desarrollan a una temperatura de entre 28 y 30°C en medio líquido o semisólido enriquecido con albúmina y ácidos grasos; se pueden observar en preparaciones húmedas con la ayuda de un microscopio de campo oscuro, y en tejidos con tinciones de plata en microscopios de campo claro (Leighton y Kuiken, 2001; Levett, 2001; OPS, 2001; Pradutkanchana *et al.*, 2002; Bolin, 2003; Broots *et al.*, 2005).

Conocer estos datos básicos sobre la ecología de estas bacterias es importante para tratar de entender su epidemiología ya que, como se ha mencionado, las serovariedades pueden ser constantes en diferentes huéspedes o ecosistemas (Bolin, 2003).

Al centro del ciclo epidemiológico de la leptospirosis están los portadores o excretores renales, los cuales son animales que se convierten en portadores crónicos de la bacteria (Prescott, 1992; Adler y De la Peña-Moctezuma, 2009). La transmisión efectiva está sujeta fuertemente al manejo y comportamiento de los animales domésticos, y se presenta en forma directa o indirecta entre individuos infectados y susceptibles (Biberstein, 1990; Böhm *et al.*, 2007). El contacto directo tiene mayor importancia en la infección intraespecie, mientras que el indirecto favorece las infecciones interespecie (Böhm *et al.*, 2007). El contacto directo puede ser con secreciones y excreciones (fluidos de la placenta, leche, orina) infectadas que penetran por la piel escoriada o mucosas, o bien, por inhalación de aerosoles de las mismas (Faine, 1999; OPS, 2001).

Epidemiológicamente, la relación entre el huésped y *Leptospira* se clasifican en dos: huésped definitivo o reservorio, y huésped accidental (Hathaway, 1981). En los primeros, existe una infección leve o subclínica; la bacteria persiste en los túbulos renales durante largos periodos o durante toda la vida, es transmitida frecuente y fácilmente, y la excreción por la orina puede ser intermitente o continua (Faine, 1999; OPS, 2001; Vanasco *et al.*, 2003). Ejemplo de estas relaciones son las serovariedades: Hardjobovis en bovinos y ciervos; Pomona o Tarassovi en cerdos; Canicola en perros; Icterohaemorrhagiae en ratas; Ballum en roedores; Balcanica en tlacuaches y Grippytyphosa en mapaches (Prescott, 1992; Faine, 1999). Otros mamíferos en el mismo ecosistema, para los cuales determinada serovariedad no está adaptada, son huéspedes accidentales. Son menos susceptibles porque necesitan una dosis infectante mayor o porque están ecológicamente separados de los ciclos

de transmisión (Hathaway, 1981). Pueden sufrir una presentación clínica de la enfermedad y la bacteria no persiste por largos periodos en los riñones. Ejemplo de estas relaciones son las serovariedades: Canicola, Pomona o Hardjibovis en humanos; Ballum en bovinos o cerdos; Icterohaemorrhagiae en equinos, caninos o humanos (Prescott, 1992; Faine, 1999). Para su mejor entendimiento, en los Cuadros 10.1 y 10.2 del Apéndice describo el perfil epidemiológico de la leptospirosis epidémica y endémica, respectivamente; según los diferentes tipos de huésped antes descritos.

A grandes rasgos, la enfermedad puede presentar un cuadro clínico o subclínico, dependiendo de las serovariedades infectantes, el estado inmunológico del individuo afectado y la relación del huésped con la serovariedad infectante (OPS, 2001; Ayanegui-Alcérreca *et al.*, 2007). Ambas patogenias se han descrito anteriormente en la literatura (Prescott, 1992; Faine, 1999; OPS, 2001; Bolin, 2003), aunque existe poca información sobre los hallazgos patológicos de las *Leptospira* en roedores (Rosseti *et al.*, 2004; Tucunduva de Faria *et al.*, 2007). En el Cuadro 10.3 del Apéndice, describo la clasificación epidemiológica de los huéspedes (reservorios o accidentales), así como el tipo de presentación clínica, las lesiones y los signos que provocan diferentes serovariedades de *Leptospira*, respectivamente.

El diagnóstico se basa en signos clínicos y pruebas directas (aislamiento, microscopía electrónica y de campo oscuro, tinción de plata, reacción en cadena de la polimerasa -PCR-, inmunohistiquímica e inmunofluorescencia) e indirectas (ensayo inmunoenzimático -ELISA-, aglutinación macroscópica, aglutinación en látex, aglutinación microscópica -AM- y fijación del complemento). Sin embargo, los signos no son patognomónicos, por lo que hacen que esta enfermedad sea sub-diagnosticada en lugares donde no se utilizan pruebas de laboratorio (OMS, 2003). Todas las pruebas han sido bien

documentadas (OPS, 2001; OMS, 2003), pero para fines de este trabajo, únicamente se describirá la prueba de Aglutinación Microscópica. A este método diagnóstico se le considera como la prueba de referencia para esta enfermedad, a pesar de ser una prueba indirecta (OPS, 2001; OMS, 2003). Es decir, solamente detecta anticuerpos contra el agente y no indica la presencia del mismo; ni tampoco hace diferencia entre anticuerpos actuales, recientes o pasados (Chappel *et al.*, 1992).

La Aglutinación Microscópica consiste en la aglutinación de anticuerpos con antígenos vivos, donde se utiliza un panel o grupo de serovariedades pre-seleccionados de *Leptospira* (se recomienda incluir cepas aisladas anteriormente en el país o región de estudio). Se usa para detectar los anticuerpos aglutinantes específicos de cada serovariedad mediante el establecimiento de un título en las reacciones positivas (OPS, 2001; Tizzard, 2000). Para lo cual, se realizan diluciones seriadas dobles. El título del suero se establece como la más alta dilución que causa un determinado grado de aglutinación (50% del campo visual de *Leptospira* debe estar aglutinado). Mientras tanto, el punto de corte utilizado varía según el área de estudio o del objetivo del diagnóstico, ya que, como se dijo anteriormente, la leptospirosis puede ser endémica de una región o animal en particular (Bolin, 2003). El punto de corte para establecer una muestra como positiva puede variar dependiendo del tipo de estudio (clínico o epidemiológico) y de la población a estudiar (humanos, animales domésticos o silvestres) (Tizzard, 2000; Ayanegui-Alcérreca *et al.*, 2007). Normalmente, en muestras clínicas se califican como enfermos a las reacciones positivas en la dilución 1:100. El uso de puntos de corte altos ( $\geq 1:100$ ) para el diagnóstico de cuadros clínicos en humanos o infecciones accidentales en animales domésticos, subestima la prevalencia de serovariedades adaptadas al huésped en una población en particular, donde a pesar de esperar prevalencias altas, los animales tienden a producir títulos aglutinantes bajos. No

obstante, en estudios en los que no se tienen referencias anteriores, se pueden usar puntos de corte más bajos, ya que sólo se trata de identificar si ha existido con anterioridad algún contacto entre el huésped y el agente (Hathaway, 1981).

La Aglutinación Microscópica se considera específica a nivel de serovariedad, aunque comúnmente se pueden presentar reacciones cruzadas entre diferentes serovariedades del mismo serogrupo. Algunas de las causas son que la prueba puede detectar al mismo tiempo anticuerpos aglutinantes tipo IgG (de mayor especificidad antigénica) o IgM (de menor especificidad antigénica); por otro lado, el antígeno de reconocimiento central de la prueba es el LPS y existen similitudes antigénicas entre serovariedades de los mismos serogrupos o especies bacterianas (Tizzard, 2000; Levett, 2001). De esta manera, muchos animales pueden ser portadores de *Leptospira* siendo seronegativos, o bien, pueden tener reacciones de aglutinación positivas en diluciones bajas a serovariedades del mismo serogrupo o especie que aquella que es la infectante (Thierman, 1984). La especificidad también se define como la capacidad de clasificar a un suero como seronegativo cuando es verdaderamente seronegativo; y se reconoce que es  $\geq 90\%$  (OMS, 2003). Por lo tanto, se recomienda que cuando existan seroprevalencias bajas (*e.g.*:  $\leq 20\%$ ) con título recíproco (TR) de  $\leq 1:100$ , sean interpretadas con cautela, ya que la mayor parte pueden ser reacciones cruzadas entre serovariedades de la misma especie o serogrupo. Cuando esto sucede, se recomienda asumir como la serovariedad infectante aquella que presenta los títulos y seroprevalencias más altos. Es recomendable que se consulte la taxonomía de especies y serogrupos para reconocer las potenciales reacciones cruzadas (Faine *et al.*, 1999; Ayanegui-Alcérreca *et al.*, 2007).

Mientras tanto, la sensibilidad de la prueba se entiende como la capacidad de dar como seropositivo al suero que verdaderamente es positivo y se considera que varía en un

rango de 73 al 90%, dependiendo de la serovariedad, especie animal y tiempo transcurrido desde el estímulo antigénico o desafío natural (OMS, 2003).

Debido a las características de *Leptospira* antes mencionadas, el diagnóstico serológico de la leptospirosis es una herramienta fundamental para determinar su presencia en cualquier ecosistema, especialmente en zonas insulares prioritarias para la biodiversidad mundial, tal como nuestro sitio de interés, la Isla Cozumel.

### 3 HIPÓTESIS

Existen diferencias entre los roedores nativos y exóticos, así como con las zonas con distinto nivel de perturbación antrópica (Zona Natural, Zona Natural con Influencia Antrópica, Zona Urbana) de la Isla Cozumel, con respecto a la seroprevalencia de diferentes serovariedades de *Leptospira*. No hay diferencias de la seroprevalencia de *Leptospira* con relación al sexo y a la clase de edad (adultos y juveniles) de los roedores.

#### 4 OBJETIVO GENERAL

Determinar la asociación entre la seroprevalencia a diferentes serovariedades de *Leptospira* con una especie de roedor endémico (*Oryzomys couesi cozumelae*) y dos de exóticos (*Mus musculus* y *Rattus rattus*) de Cozumel, considerando las características ambientales de la isla.

## 5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Determinar la abundancia de los roedores nativos y exóticos de Cozumel en zonas con distinto nivel de perturbación antrópica (Zona Natural, Zona Natural con Influencia Antrópica, Zona Urbana).

2) Identificar la presencia de anticuerpos contra diferentes serovariedades de *Leptospira* en los roedores nativos y exóticos de la Isla Cozumel, mediante la prueba de Aglutinación Microscópica.

3) Determinar la asociación entre la seroprevalencia de *Leptospira* y la especie, sexo y edad de los roedores, así como con los diferentes tipos de zonas (urbanas, naturales con influencia antrópica y naturales) de la Isla Cozumel.

## 6 MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Área de estudio

Cozumel, Quintana Roo, es la isla de mayor tamaño en el Caribe mexicano. Tiene gran importancia histórica, cultural, turística y es un área prioritaria para la conservación de la biodiversidad mundial. Se encuentra a 17.5 km de la costa de la península de Yucatán (20°16' a 20°36'N y 86°44'a 87°02'W) y está separada del continente por el Canal de Cozumel, el cual tiene una profundidad de alrededor de 400 metros. El clima es cálido húmedo, con temperatura anual de 25.5 °C y precipitación anual de 1,505 mm (Cuarón, 2009).

La población humana es de más de 65,000 habitantes, la mayoría de los cuales vive en San Miguel, ubicado en el extremo poniente de la isla (Cuarón *et al.*, 2004; Fortes-Corona, 2004; Cuarón, 2009). El único otro poblado es El Cedral. La actividad económica principal es el turismo, atraído principalmente por las bellezas naturales del lugar (Cuarón, 2009).

La isla forma parte del Sistema Coralino Mesoamericano, que solamente es menor a la Gran Barrera Coralina de Australia. No cuenta con ríos ni cuerpos de agua superficiales, a excepción de los cenotes y depósitos de lluvias estacionales (Cuarón, 2009). Dichos cuerpos de agua abastecen a las poblaciones silvestres durante la temporada seca y son una vía de transmisión potencial para diferentes patógenos, como bacterias del género *Leptospira*.

Aproximadamente el 90% de la isla está cubierta por vegetación nativa y casi el 70% de la cobertura vegetal es selva mediana subperennifolia. Los demás tipos de vegetación son: selva baja caducifolia, manglar, tasistal, tular, saibal y vegetación halófila o

de dunas costeras (Martínez-Morales, 1996; Fortes-Corona, 2004; Navarro, 2005; Cuarón, 2009).

Cozumel es un importante centro de endemismos de especies. Habitan crustáceos, anfibios, peces, reptiles, aves y mamíferos; muchos de los cuales son endémicos y están en peligro crítico, aunque no estén incluidos en ninguna lista de especies amenazadas, internacionales o nacionales. Se ha extinto un ratón (*Peromyscus leucopus cozumelae*), y muchos otros vertebrados endémicos están por hacerlo (e.g., *Toxostoma guttatum*, *Nasua Nelsoni*, *Procyon pygmaeus*, *Reithrodontomys spectabilis*) (Cuarón, 2009).

Las principales amenazas son los factores antrópicos como la introducción de especies (*Boa constrictor*, perros y gatos ferales, y ratas y ratones de casa), la fragmentación y destrucción del hábitat, la captura de fauna silvestre para mantenerla como mascota, y en menor grado, la cacería. Mientras tanto, los principales factores naturales son los huracanes que azotan comúnmente la zona, afectando a la biota y a la sociedad insular (Cuarón, 2009).

**Cuadro 6.1 Mamíferos endémicos de Cozumel (Modificado de Cuarón, 2009)**

Clase/Familia	Especie o Subespecie	Nombre común	Categoría de amenaza	
			IUCN <sup>1</sup>	NOM <sup>2</sup>
Didelphidae	<i>Didelphis marsupialis cozumelae</i>	Tlacuache de Cozumel	MP-NI	NI
Muridae	<i>Peromyscus leucopus cozumelae</i>	Ratón de campo de Cozumel	MP-NI	A
	<i>Reithrodontomys spectabilis</i>	Ratón de campo de Cozumel	PC-EP	A
	<i>Oryzomys couesi cozumelae</i>	Rata de campo de Cozumel	MP-NI	A
Procyonidae	<i>Nasua nelsoni</i>	Pizote o Coatí enano	NI-MP	A
	<i>Procyon pygmaeus</i>	Mapache pigmeo	PC-EP	P
Tayassuidae	<i>Pecari tajacu nanus</i>	Pécari de collar enano	MP-NI	P

<sup>1</sup>Categoría de riesgo de acuerdo a la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN). PC: Peligro crítico; EP: En peligro; MP Mínima preocupación; NI: No incluida

<sup>2</sup>Lista Oficial Mexicana de especies amenazadas. NI: No incluidas; A: Amenazadas; P: En peligro de extinción

## 6.2 Sujetos de estudio

Cozumel alberga tres especies roedores nativos, pertenecientes a la Familia Muridae, Subfamilia Sigmodontinae: *Reithrodontomys spectabilis*, *Oryzomys couesi cozumelae* y *Peromyscus leucopus cozumelae* (Jones y Lawlor, 1965; Engstrom *et al.*, 1989; Reid, 1997; Gutiérrez-Granados, 2003). Todos ellos son endémicos de Cozumel y se encuentran en alguna categoría de conservación dentro de la normatividad mexicana o internacional (Ver Cuadro 6.1). La evidencia disponible indica que *P. l. cozumelae* se ha extinto (Cuarón, 2009). También se conoce la presencia de dos especies de roedores exóticos: *Rattus rattus* y *Mus musculus* (Fuentes, 2007). Ambas pertenecen a la Subfamilia Murinae. A continuación se describen brevemente algunas características de los roedores nativos y exóticos que persisten en la isla.

### 6.2.1 *Oryzomys couesi cozumelae*

*O. c. cozumelae* era relativamente común en el bosque secundario y también ha sido capturado en la selva mediana (Engstrom, 1989; Gutiérrez-Granados, 2003). Su densidad presenta amplias variaciones espaciales y temporales (Gutiérrez-Granados, 2003; Fortes-Corona, 2003). Es considerada una especie generalista en cuanto a sus hábitos alimenticios y a su selección de hábitat. Tiene un gran valor ecológico debido a que es una subespecie endémica de Cozumel, con altos niveles de diversidad genética y alélica (Vega *et al.*, 2007). Además, es una subespecie endémica considerada como amenazada en la normatividad mexicana (SEMARNAT, 2002).

### 6.2.2 *Reithrodontomys spectabilis*

Anteriormente, Engstorm y colaboradores (1989) reportan esta especie como ocasional. Después, Reid (1997) la reporta como bastante común en vegetación secundaria y los bordes de la selva baja, mientras que, en fechas más recientes, su población fue descrita como pequeña (*ca.* 3.3 ind/ha) y con grandes fluctuaciones temporales y espaciales (Fortes-Corona, 2004). Puede considerarse como generalista en cuanto a sus hábitos alimenticios, aunque no hay estudios específicos sobre su alimentación (Fuentes, 2007). Su valor ecológico también es muy grande, ya que es la única especie de roedor endémica de la isla y la más grande dentro de su género; a pesar de ser relativamente pequeño (14-23 gr) (Jones y Lawlor, 1965). Está considerada como en peligro crítico (A2bce) por la UICN (UICN, 2008).

### 6.2.3 *Rattus rattus*

Es la rata habitual de embarcaciones y de esta manera ha sido distribuida accidentalmente en las islas de gran parte del planeta (Amori y Clout, 2003). Ha colonizado más del 80% de los ecosistemas insulares de todo el mundo (Courchamp *et al.*, 2003). Es omnívora y de hábitos arborícolas, lo cual beneficia su establecimiento en nuevos nichos ecológicos y pone en riesgo a la fauna nativa, ya que puede ser depredador (Amori y Clout, 2003). En muchas ocasiones puede representar un riesgo de salud pública, debido a que tiene la capacidad de alojar patógenos y transmitirlos a otros animales, domésticos y silvestres, incluyendo al hombre.

#### 6.2.4 *Mus musculus*

Es un pequeño roedor que pudiera ser el mamífero más distribuido en todo el globo, a parte del humano. Su invasión a islas oceánicas es relativamente reciente, a partir de la época de exploración europea (Amori y Clout, 2003). Tiene hábitos alimenticios omnívoros. Su dieta incluye semillas e invertebrados, aunque también puede consumir vertebrados, como pequeños reptiles. Esto aumenta el impacto negativo que puede llegar a tener, sobre todo en ecosistemas vulnerables (Amori y Clout, 2003). Tal como *R. rattus*, puede considerarse como un riesgo de salud pública y para el ecosistema en general.

### 6.3 Trabajo de campo

Realicé la captura de los roedores de Cozumel de enero a mayo del 2007, muestreando en partes representativas de todas las áreas accesibles de la isla. Antes, diferencié las zonas de captura con base en sus características ecológicas y su grado de influencia antrópica para delimitar, de alguna forma, la distribución de estas especies. Dichas zonas fueron: Zona Natural (ZN), Zona Natural con Influencia Antrópica (ZNIA) y Zona Urbana (ZU).

En cada sitio coloqué trampas tipo Sherman, las cebé con una mezcla de avena, crema de cacahuete y esencia de vainilla. Mantuve las trampas activas durante 4 días y 3 noches. Cada mañana las revisé y reemplacé con una porción de cebo fresco para atraer a los animales. El procesamiento de los roedores capturados lo explico más adelante.

A continuación describo con más detalle las características de las zonas de captura, cuyas ubicaciones pueden apreciarse en la Figura 10.2 del Apéndice.

### 6.3.1 Zonas de captura

#### 6.3.1.1 Zonas Naturales (ZN)

Fueron 18 sitios en donde domina la vegetación de selva mediana subperennifolia y el acceso por parte del hombre es limitado o nulo, debido a la poca facilidad para entrar. Se colocaron en promedio 49 trampas en cada sitio, representando un total de 2,670 noches/trampa. La disposición de las trampas dependió de las características de cada sitio, colocándose usualmente en una grilla o a lo largo de un trayecto (Ver Cuadro 10.4 en el Apéndice para detalles). La distancia mínima entre las trampas fue de 8 metros. Por último, asigné a cada sitio un nombre y los georeferencí. Muestro los sitios y la disposición de las trampas en el Cuadro 10.4 del Apéndice.

#### 6.3.1.2 Zonas Naturales con Influencia Antrópica (ZNIA)

Fueron 32 sitios en donde predomina la vegetación natural pero donde el acceso humano es posible, aunque limitado en algunos casos. Ahí se realizan diferentes actividades humanas (como agricultura, extracción de material pétreo, zonas costeras y basureros) y se encuentran relativamente separadas de la mancha urbana. Se colocaron en promedio 31 trampas en cada sitio, representando un total de 2,964 noches/trampa. De igual forma que en las ZN, el número de trampas y su disposición dependieron de las características de cada sitio. Usualmente se colocaron a lo largo de un trayecto lineal, o de manera oportunista cuando las condiciones del sitio de muestreo no lo permitían. La distancia mínima entre trampa y trampa fue de 8 metros. A los sitios también les asigné un nombre y los geo-referencí. (Ver Cuadro 10.5 en el Apéndice para detalles).

### 6.3.1.3 Zonas Urbanas

Éstas se remiten a diferentes puntos de la ciudad de San Miguel, Cozumel, abarcando sitios representativos de ella. Para esto, dividí la ciudad en 14 bloques (colonias o grupos de colonias) aproximadamente del mismo tamaño. En cada uno de estos sitios obtuve muestras en casas, lotes y/o terrenos baldíos, ubicados en las cuatro esquinas y en el centro de cada uno. Trabajé en un total de 70 sitios diferentes de esta zona. En 12 sitios puse 5 trampas, en 53 sitios coloqué 10 trampas, en 3 sitios instalé 15 trampas, en un solo sitio puse 20 trampas y en otro 35. En cada caso durante 4 días y 3 noches, excepto en un sitio (Casa Benjamín), donde se mantuvieron las trampas durante 10 días por petición del dueño. En total coloqué 2,105 noches trampa. Coloqué las trampas dependiendo la disponibilidad de espacio y del permiso de los propietarios. También les asigné un nombre y geo-referencia. La distancia entre trampa y trampa fue de al menos 5 metros. (Ver Cuadro 10.6 en el Apéndice para detalles).

### 6.3.2 Manejo animal

A todos los individuos capturados los identifiqué hasta especie, determiné el sexo, la edad y tomé las medidas morfométricas estándar, tales como: peso, longitud total, longitud de cola y longitud de oreja y pata derecha. Manejé a los animales capturados de diferente manera, según si se trataba de una especie nativa o exótica.

A los roedores nativos los contuve de manera física. Después, les extraje una muestra sanguínea (100 – 200  $\mu$ l) con un capilar, a partir del seno orbital, tal como lo permite la NOM-062-ZOO-1999 (SAGARPA 2009). Marqué a estos roedores con un arete en la oreja derecha y los liberé en el sitio de captura. Mantuve la sangre en refrigeración en

viales de 1 ml sin anticoagulante. A continuación, llevé dichas muestras a las instalaciones de la Sociedad Humanitaria A. C. de Cozumel para su procesamiento. En dicho lugar centrifugué cada tubo a 3,500 rpm durante 10 minutos. Por último, separé los sueros de los paquetes celulares, los identifiqué y mantuve en congelación hasta su traslado al Laboratorio de Vacunología y Leptospirosis de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Eutanacíé a los roedores exóticos en una cámara de sacrificio utilizando éter como anestésico inhalado; tal como lo permite la NOM-062-ZOO-1999 (SAGARPA 2009). Posteriormente, extraje la sangre mediante punción intracardiaca y procesé las muestras en forma semejante a la antes descrita para los roedores nativos.

## 6.4 Trabajo de laboratorio

### 6.4.1 Selección del panel de serovariedades para la prueba de Aglutinación Microscópica

Seleccioné un panel de sólo 6 serovariedades de *Leptospira* debido a la poca cantidad de suero que les pude extraer a estos roedores (por su tamaño) para realizar la prueba. Para dicha selección realicé una búsqueda bibliográfica electrónica de reportes serológicos publicados sobre leptospirosis, utilizando los buscadores PUBMED y CABS Abstracts. El marco de referencia que utilicé fueron las diferentes especies de mamíferos y las zonas geográficas (Norteamérica, Centroamérica –incluyendo las islas del Caribe– Sudamérica, Europa y Asia), en un periodo desde 1976 hasta el 2006. Los datos de la búsqueda bibliográfica se muestran en la Figura 10.1 del Apéndice. Elegí las serovariedades con base en los resultados de la frecuencia de reportes de prevalencia en

roedores. A partir del análisis de la información anterior, opté por las siguientes serovariedades: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum Castellonis, y Autumnalis; por ser las de mayor frecuencia de reporte en roedores en la zona geográfica de estudio, y a la vez, haber sido usadas por Mena (2007) en su estudio de carnívoros en Cozumel. La serovariedad Australis la escogí debido a las altas prevalencias previamente reportadas en los carnívoros de Cozumel (mapaches y perros) (Mena, 2007). Mientras que Hardjoprajitno, la elegí por interés del Laboratorio de Vacunología y Leptospirosis de la FMVZ de la UNAM, donde en trabajos anteriores se ha explorado el papel de los roedores en el ciclo epidemiológico de la *Leptospira* en bovinos domésticos (Carmona *et al.*, 2007). No se incluyeron más serovariedades en el panel porque la cantidad de suero disponible por cada individuo muestreado no era suficiente.

La clasificación taxonómica de dichas cepas la muestro en el Cuadro 6.2.

**Cuadro 6.2 Cepas de *Leptospira* utilizadas para la prueba de Aglutinación Microscópica**

<b>Especie</b>	<b>Serogrupo</b>	<b>Serovariedad</b>	<b>Cepa</b>
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis	Castellon-3
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akimayi A
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond-Utrecht IV
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno

#### 6.4.2 Cepas de referencia

La prueba de Aglutinación Microscópica requiere de antígenos frescos, para lo cual, realicé cultivos con las cepas de referencia de las serovariedades elegidas. Las serovariedades (Cuadro 6.2) fueron proporcionadas por el WHO/FAO/OIE – Collaborative Centre for Reference and Research on Leptospirosis, Australia and Western Pacific Region de Brisbane, Australia. Estas serovariedades son utilizadas por común acuerdo entre los laboratorios que realizan el diagnóstico de leptospirosis en el país (GRILLEP-FMVZ, UNAM; UAM-Xochimilco; CENASA y CENID-Microbiología).

El género *Leptospira* está considerado como un microorganismo de desarrollo *in vitro* muy lento y fastidioso, con requerimientos nutricionales y fisicoquímicos específicos. Por lo tanto, elegí el medio de cultivo líquido Ellinghausen-McCullough, modificado por Johnson y Harris (EMJH) y suplementado con 1% de fracción V de albúmina sérica bovina, vitaminas, electrolitos y minerales. Además, contiene ácidos grasos proporcionados por Tween y glicerol como fuente primaria de energía (Faine, 1999).

Cultivé cada una de las 6 serovariedades seleccionadas de *Leptospira* (Cuadro 6.2) a 30°C, por un lapso de 7 a 10 días; hasta que mostraran un desarrollo de 0.5 de turbidez (evaluación macroscópica) según el nefelómetro de McFarland, lo cual equivale a  $10^6$  leptospirosis/ml de cultivo, para poder utilizarlos en la prueba de Aglutinación Microscópica. Evalué cada cultivo por campo visual con objetivo 40X en microscopio de campo oscuro para evaluar la densidad del campo, así como para ver que los microorganismos no mostraran autoaglutinación ni contaminación (Faine, 1999).

Con base en el número de muestras de suero obtenidas durante el trabajo de campo, hice el cálculo aproximado del volumen (ml) necesario de antígeno para realizar la prueba a cada uno de los sueros (Cuadro 6.3).

**Cuadro 6.3 Cálculo aproximado del volumen necesario de antígeno para la realización de la AM**

Sp	Placa	Sueros	No. de placas	No. de pozos / placa	No. total de pozos	Antígeno / pozo (µl)	Vol. de cultivo (µl)	Vol. de cultivo (ml)
1	A	96	8	96	768	25	19200	19.2
1	B	96	8	96	768	25	19200	19.2
2	C	84	7	96	672	25	16800	16.8
3	D	72	6	96	576	25	14400	14.4
							<b>69600</b>	<b>69.6</b>

Sp = Especie, 1 = *Mus musculus*, 2 = *Oryzomys couesi cozumelae*, 3 = *Rattus rattus*

### 6.4.3 Muestras de suero

Para fines prácticos de la realización de la prueba diagnóstica, diluí los sueros con la solución maestra que describo más adelante, necesaria para dicha prueba. Así pude mantener congelados (-20°C) los sueros diluidos y listos para usarse, en placas de plástico de 96 pozos con fondo plano, Nunc<sup>®</sup>. Cada una de esas placas la nombré “placa maestra”.

La dilución maestra consta de:

- **Solución amortiguadora de Sørensen.** Contiene Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (8.33 g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1.09 g) y aforado a 1 lt. La esterilicé en autoclave a 110 °C durante 20 minutos y la mantuve en refrigeración (4 °C).
- **Solución salina fisiológica (SSF).** Contiene NaCl (1,840 ml) y solución amortiguadora de Sørensen (160 ml).
- **Solución de dilución maestra amortiguada.** Contiene SSF (1,840 ml) y solución amortiguadora de Sørensen (160 ml), para un volumen total de 2 lt.

#### 6.4.4 Placa maestra con dilución inicial del suero

Para la realización de la prueba también usé placas de 96 pozos con fondo plano, Nunc<sup>®</sup>. En cada pozo coloqué una muestra individual de suero (28.8  $\mu$ l) previamente identificado, con 151.2  $\mu$ l de SSF, para obtener una dilución de 1:6.5. De esta manera, mantuve las placas maestras en congelación hasta la realización de la prueba.

#### 6.4.5 Diluciones del suero para prueba de Aglutinación Microscópica

En cada pozo, establecí una reacción antígeno anticuerpo en un ensayo con un volumen constante de 75  $\mu$ l por dilución, compuesto por tres elementos balanceados en partes iguales: 1.- Cultivo de *Leptopira* (25  $\mu$ l); 2.- Solución Salina Fisiológica (25  $\mu$ l); y 3.- Dilución maestra (25  $\mu$ l). Así conformé una dilución inicial de 1:25 de suero problema.

A partir de este punto, diluí las muestras de suero en una serie geométrica en una proporción constante entre diluciones con base 2, para enfrentarlos con 6 cultivos vivos de diferentes serovariedades. A continuación, describo dicho procedimiento:

- 1.- Coloqué 25  $\mu$ l de SSF en cada pozo de cada microplaca en forma homogénea.
- 2.- Coloqué 25  $\mu$ l de la dilución inicial de la placa maestra (1:6.5) el primer pozo en la primera línea de cada microplaca, de tal forma que cada una sirvió para probar 12 sueros; cada suero con 8 diluciones seriadas.
- 3.- Tomé 25  $\mu$ l de la primera línea para depositarlos en la segunda, y realizar diluciones dobles seriadas, hasta lograr 8 diluciones.
- 4.- Agregué 25  $\mu$ l de antígeno en todos los pozos, en un volumen constante. De esta manera, conseguí una dilución de 1:25 para la primera línea de la microplaca, de 1:50

para la segunda, de 1:100 para la tercera, de 1:200 para la cuarta, y así sucesivamente hasta la dilución de 1:3,200 de la octava línea.

5.- Cubrí cada placa maestra con un plástico adherible para evitar su deshidratación y la incubé durante 90 minutos en estufa bacteriológica a una temperatura de 30°C.

6.- Una vez concluido el periodo de incubación (2 horas aproximadamente), observé las placas maestras en un microscopio de campo oscuro invertido.

## 6.5 Análisis de datos

Como mencioné anteriormente, la prueba diagnóstica estándar para leptospirosis es la Aglutinación Microscópica. Dicha prueba mide la concentración de anticuerpos en la máxima dilución que produce una reacción positiva, la cuál se expresa como “título” (Thrusfield, 2007). La presentación de los datos y los análisis estadísticos basados en los “títulos” se describen como seroprevalencia (% de seropositivos en el estudio). Siguiendo lo recomendado en la literatura, consideré como reacción positiva sólo cuando más del 50% de *Leptospira* en el campo aglutinaban, y negativo cuando más del 50% de las bacterias se encontraban sin aglutinar (OMS, 2003). El punto de corte utilizado fue de 1:25, con base a lo recomendado en estudios poblacionales realizados tanto con animales domésticos como con silvestres (Hellstrom, 1978; Mackintosh, 1981).

De esta manera, calculé la seroprevalencia de cada serovariedad como el número de muestras positivas \* 100 / (n); donde n, es igual al número de animales muestreados. Utilicé un intervalo de confianza (IC) de 95%, calculándolo de la siguiente manera:

seroprevalencia (%)  $\pm 1.96 * \sqrt{\text{seroprevalencia} * (100 - \text{seroprevalencia}) / n}$ ; donde n, es igual al número de animales muestreados, programando las fórmulas en Excel 2000®.

También utilicé las pruebas de  $\chi^2$  ( $p \leq 0.05$ ) y regresión logística (RL) ( $p \leq 0.05$ ) para buscar las asociaciones entre las variables especie animal (*M. musculus*, *R. rattus* y *O. c. cozumelae*), edad (adulto y juvenil), zona de captura (ZN, ZNIA, ZU) y sexo (hembra y macho), con la seroprevalencia de las serovariedades de *Leptospira* (Australis, Autumnalis, Ballum Castellonis, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Hardjoprajitno). Todo esto, con la ayuda del programa estadístico NCSS and PASS (Jerry Hintze®, 2001).

Para la Aglutinación Microscópica, diluí los sueros en una serie geométrica, esto es, en una dilución constante entre las diluciones sucesivas; en este caso, en base 2. Medí los códigos correspondientes a los diferentes títulos (1,2,3,4...) para obtener la media aritmética (suma de los códigos / número de títulos – en Excel-). Obtuve el antilogaritmo de la media aritmética para determinar la media geométrica. Esta no admite valores cero, dado que su logaritmo es infinito. Por lo tanto, utilicé la media geométrica como un indicador de la concentración promedio de anticuerpos específicos contra las seis serovariedades en los individuos positivos. Para dar evidencia a las relaciones epidemiológicas que existen entre cada serovariedad y especie de roedor; en el mismo contexto que se han hecho la mayor parte de las investigaciones epidemiológicas en otras especies animales (Mackintosh, 1981; Ayanegui-Alcérreca, 2007; Thrusfield, 2007).

Los títulos de anticuerpos fueron expresados como Media Geométrica del Código (MGC) de la dilución (1:25 = 1, 1:50 = 2, 1:100 = 3, 1:200 = 4, 1:400 = 5, 1:800 = 6, 1:1,600 = 7, 1:3,200 = 8), IC (95%), y títulos recíprocos (Cuadro 3.4). Como mencioné

anteriormente, no incluí los valores 0. Por lo tanto, las MGC sólo representan a los roedores seropositivos. Las fórmulas se programaron en Excel 2000®.

Finalmente, transformé el codificado al título recíproco (fórmula abajo), para expresar su valor de acuerdo al valor de la dilución original. A continuación defino la media geométrica, el error estándar, y el título recíproco para su mejor comprensión.

- **Media geométrica del título codificado (MGC)** =  $\sqrt[n]{(y_1)(y_2)(y_3)\dots(y_n)}$ , (donde n = número de seroreactores positivos).

- **Error estándar** = desviación estándar del título codificado /  $\sqrt{n}$  (donde n = número de seroreactores positivos).

$$\text{*Desviación estándar} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{(n-1)}}$$

- **Título recíproco** =  $2^{(\text{MGC})} * (12.5)$ , donde 12.5 es la base de la dilución inicialmente utilizada y 2 representa el intervalo de doble dilución.

Finalmente, utilicé la prueba de  $\chi^2$  ( $p \leq 0.05$ ) y Regresión Logística (RL) ( $p \leq 0.05$ ) para buscar las asociaciones entre las variables especie animal (*M. musculus*, *R. rattus*, *O. c. cozumelae*), edad (adulto y juvenil), zona de captura (ZN, ZNIA, ZU) y sexo (hembra y macho), con la seroprevalencia de diferentes serovariedades de *Leptospira* (Australis, Autumnalis, Castellonis, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Hardjoprajitno). Para ello utilicé el programa estadístico NCSS and PASS (Jerry Hintze ©,2001).

**Cuadro 6.4 Ejemplo de la manipulación de títulos, títulos codificados y transformación a título recíproco**

<b>Muestra</b>	<b>Título</b>	<b>Código</b>	<b>Estadístico</b>	
<b>1</b>	1:25	1	<b>No. muestras</b>	5
<b>2</b>	negativo		<b>No. seroreactores</b>	4
<b>3</b>	1:100	3	<b>MGC</b>	2.9
<b>4</b>	1:200	4	<b>Error estándar</b>	1.04
<b>5</b>	1:300	6	<b>IC 95%</b>	2.04
<b>MGC</b>		2.9	<b>MGC (<math>\pm</math> IC 95%)</b>	2.9 ( $\pm$ 2.04)
			<b>Título recíproco</b>	1:94.1

## 7 RESULTADOS

### 7.1 Capturas y esfuerzo de muestreo

Mediante un esfuerzo de muestreo de 7,739 noches/trampa obtuve un total de 387 capturas de 371 individuos diferentes, teniendo un éxito de captura total de 5%. En cuanto a los roedores nativos, capturé 104 individuos de *O. c. cozumelae* (39 hembras, 59 machos, 6 sin sexar); obteniendo un éxito de captura de 1.3% para esta especie. No capturé ejemplar alguno de *R. spectabilis*. En cuanto a los roedores exóticos, capturé un total de 267 individuos, obteniendo un éxito de captura de 3.5%. Con estas capturas registré a 203 *M. musculus* (97 hembras, 103 machos y 3 no determinados) y a 64 *R. rattus* (33 hembras y 31 machos); obteniendo un éxito de captura de 2.6% y de 0.8%, respectivamente.

Los sitios en donde atrapé más animales pertenecen a la ZU, con 230 individuos: 178 *M. musculus*, 45 *R. rattus* y 7 *O. c. cozumelae*; obteniendo un éxito de captura total de 10.9% en esta zona (8.4% para *M. musculus*, 2.1% para *R. rattus* y 0.3% para *O. c. cozumelae*). En la ZNIA capturé 98 individuos: 25 *M. musculus*, 19 *R. rattus* y 54 *O. c. cozumelae*; obteniendo un éxito de captura total de 3.3% en esta zona (0.8% para *M. musculus*, 0.6% para *R. rattus* y 1.8% para *O. c. cozumelae*). Mientras tanto, en la ZN únicamente capturé 43 ratones, todos pertenecientes a la especie *O. c. cozumelae*; los cuales representan un éxito de captura de 1.3% en esta zona (Cuadro 7.1). Algunas capturas fueron de hembras gestantes y lactantes (algunas con cría) (Ver los Cuadros 10.7 y 10.8 del Apéndice).

**Cuadro 7.1 Especie, zona de captura de acuerdo al nivel de influencia antrópica, sexo y clase de edad de los individuos capturados.**

Especie	Total (%)	Zona de captura	Sexo (%)		Edad (%)	
			Hembras	Machos	Adulto	Juvenil
<i>Mus musculus</i>	200 (55.2)	ZNIA	12 (50.0)	12 (50.0)	12 (50.0)	12 (50.0)
		ZU	86 (48.9)	90 (51.1)	148 (84.1)	28 (15.9)
<i>Rattus rattus</i>	63 (17.4)	ZNIA	11 (57.9)	8 (42.1)	19 (100.0)	0 (0.0)
		ZU	21 (47.7)	23 (52.3)	22 (50.0)	22 (50.0)
<i>Oryzomys couesi cozumelae</i>	99 (27.3)	ZN	18 (41.9)	25 (58.1)	43 (100.0)	0 (0.0)
		ZNIA	30 (62.5)	18 (37.5)	22 (22)	26 (26)
		ZU	3 (37.5)	5 (62.5)	8 (100.0)	0 (0.0)
Total*	362 (100)		181 (50.0)	181 (50.0)	274 (75.7)	88 (24.3)

ZNIA: Zona natural con influencia antropogénica.

ZU: Zona urbana.

ZN: Zona natural.

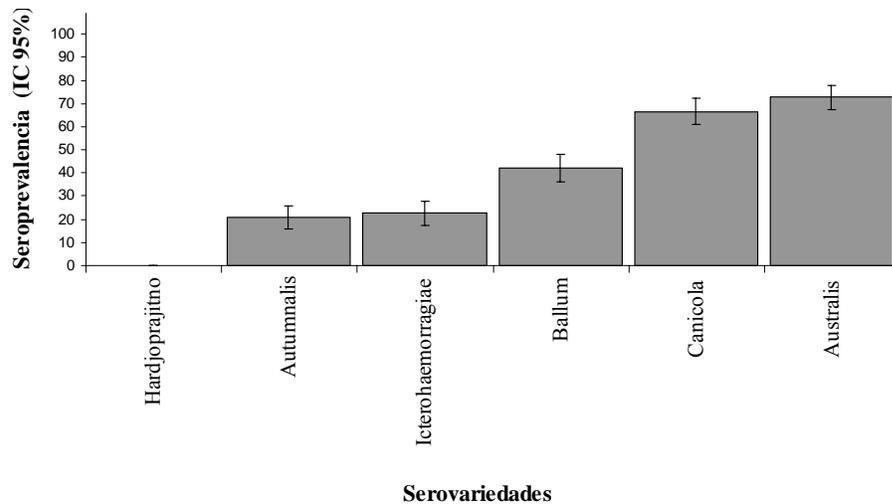
\*Se eliminaron de la tabla 8 individuos cuyos datos se encontraban mal capturados

Nota: En el caso del sexo y de la clase de edad se indican los porcentajes de cada especie para cada una de las zonas de estudio donde se capturaron. Algunas hembras se capturaron en las se fases reproductivas de gestación o lactación. Los datos se muestran en los cuadros 9.7 y 9.8 del Apéndice.

## 7.2 Seroprevalencias totales

De los 371 individuos capturados, obtuve 279 sueros, de los cuales 267 (95.7%) (IC 93.3 - 98.1%) fueron seroreactores positivos por la menos a una serovariedad del panel de serología, utilizando como punto de corte la dilución 1:25.

Los resultados de seroprevalencias totales por serovariedad (IC 95%) y título recíproco fueron: Australis 72.7% (67.4-77.9%) (1:119) (n = 278); Canicola 66.5% (61-72.1%) (1:139) (n = 278); Ballum Castellonis 42% (36.7-47.9%) (1:55.1) (n = 276); Icterohaemorrhagiae 22.6% (17.5-27.8%) (1:41) (n = 252), Autumnalis 20.8% (15.8-25.8%) (1:1.44) (n = 255) y ningún seroreactor a Hardjoprajitno (n = 277) (Figura 7.1 y Cuadro 10.9).



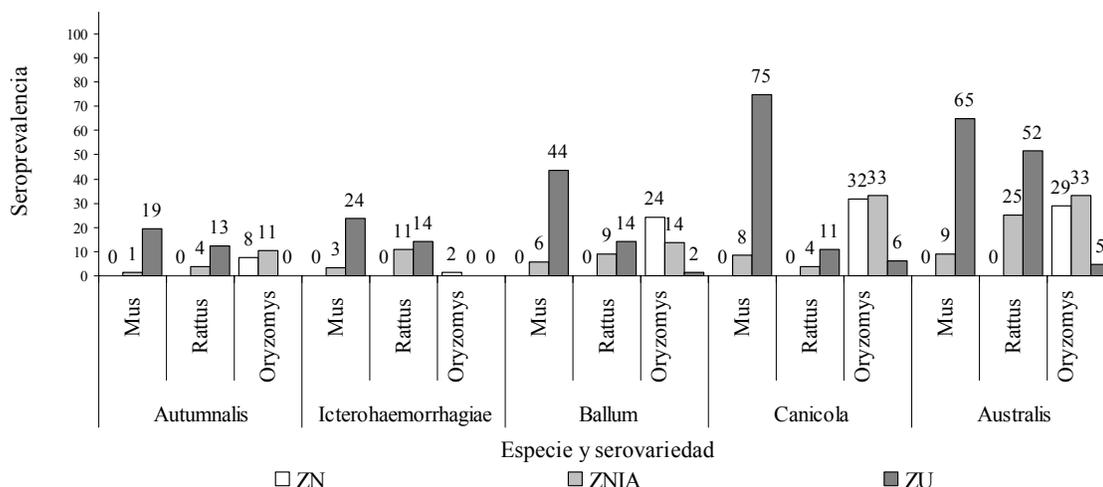
**Figura 7.1 Seroprevalencia total (%) e intervalo de confianza (IC) de 95% de las serovariedades de *Leptospira* de las tres especies de roedor estudiadas, en conjunto.**

Observé diferencias significativas entre las seroprevalencias totales de tres serovariedades ( $\chi^2=249.0$ , 4 g.l.,  $p<0.001$ ), donde Australis, Canicola y Ballum Castellonis fueron las de mayor seroprevalencia y títulos MGC más altos (Ver Cuadro 10.9 del Apéndice). En cuanto a Autumnalis, su baja seroprevalencia y títulos recíprocos no permiten determinar diferencia significativa con respecto a la seroprevalencia de Icterohaemorrhagiae.

La distribución de seroprevalencia y títulos recíprocos por serovariedad difirió entre las especies estudiadas (Ver Cuadro 10.9 en el Apéndice). El 54.8% (47.2-62.3%) de *M. musculus*, el 21.5% (11.3-31.4%) de *O. c. cozumelae* y el 19.3% (9.0-29.6%) de *R. rattus* fueron positivos por lo menos a una serovariedad de *Leptospira*. En general, la seroprevalencia de Australis fue la más elevada, considerando a las tres especies de roedores en conjunto. La seroprevalencia más alta en *M. musculus* es contra la serovariedad Canicola (83.3 %), en *R. rattus* es contra la serovariedad Australis (75.4%), y en *O. c.*

*cozumelea* también contra *Canicola* (71.2%). De manera contraria, la seroprevalencia más baja es contra la serovariedad *Icterohaemorrhagiae*, considerando a las tres especies de roedores en conjunto. La seroprevalencias más bajas en *M. musculus* es contra la serovariedad *Autumnalis* (20.5%); en *R. rattus* es contra *Canicola* (14%); y en *O. c. cozumelae* contra *Icterohaemorrhagiae* (1.5%).

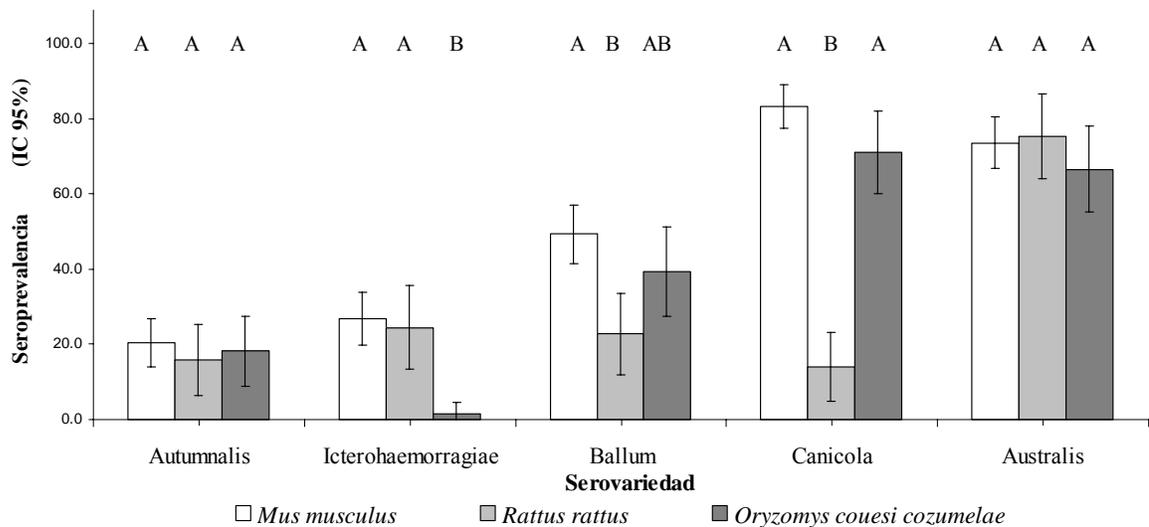
La seroprevalencia total fue menor en la ZN, con 10.7% (5.8-15.6%), seguida de la ZNIA, con 22.9% (12.0-33.8%). En tanto, registré la seroprevalencia más alta en la ZU, con el 62% (50.2-73.7%). En la Figura 7.2 muestro la seroprevalencia de cada serovariedad, por especie y zona de captura.



**Figura 7.2 Seroprevalencia (%) de las serovariedades de *Leptospira* por especie de roedor de Cozumel, de acuerdo con la zona donde fueron capturadas dichas especies, en conjunto. ZN: Zona Natural; ZNIA: Zona Natural con Influencia Antrópica; ZU: Zona Urbana.**

### 7.3 Variables de asociación de seroprevalencia de las diferentes serovariedades

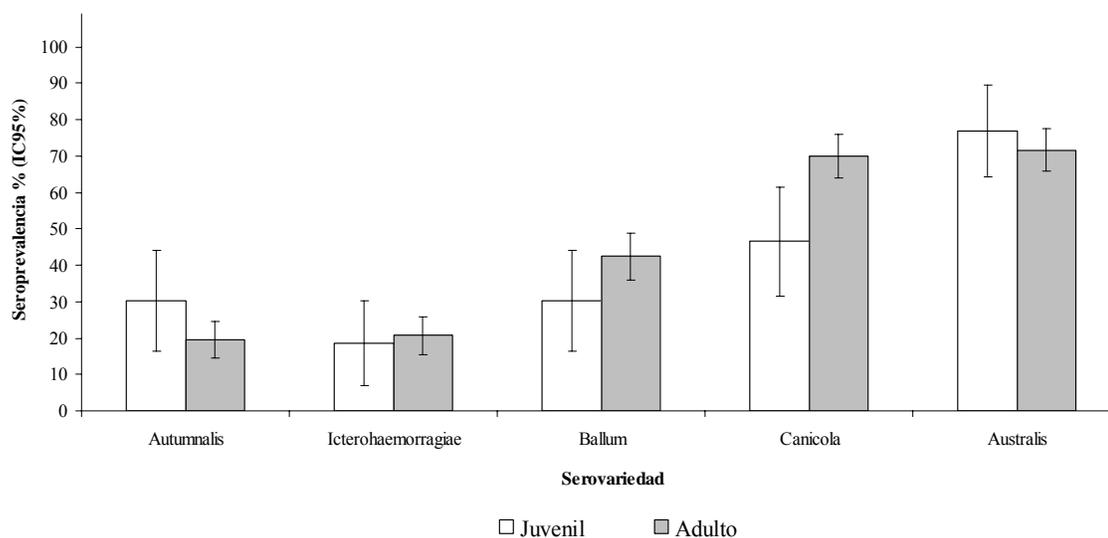
No hubo diferencias significativas en las seroprevalencias de Australis ni de Autumnalis entre las tres especies de roedor estudiadas ( $> 0.05$ ) (Figura 7.3). En cambio, para Canicola hubo diferencias significativas entre *M. musculus* y *O. c. cozumelae* con respecto a *R. rattus* ( $p \leq 0.05$ ). También hubo diferencia en la seropositividad de Icterohaemorrhagiae, ya que esta fue significativamente mayor en *M. musculus* y *R. rattus*, con relación a la de *O. c. cozumelae*. La seroprevalencia de Ballum Castellonis fue significativamente mayor en *M. musculus* y *O. c. cozumelae* que en *R. rattus* ( $p \leq 0.05$ ). Como mencioné anteriormente, no hubo seroreactores positivos a la serovariedad Hardjoprajitno.



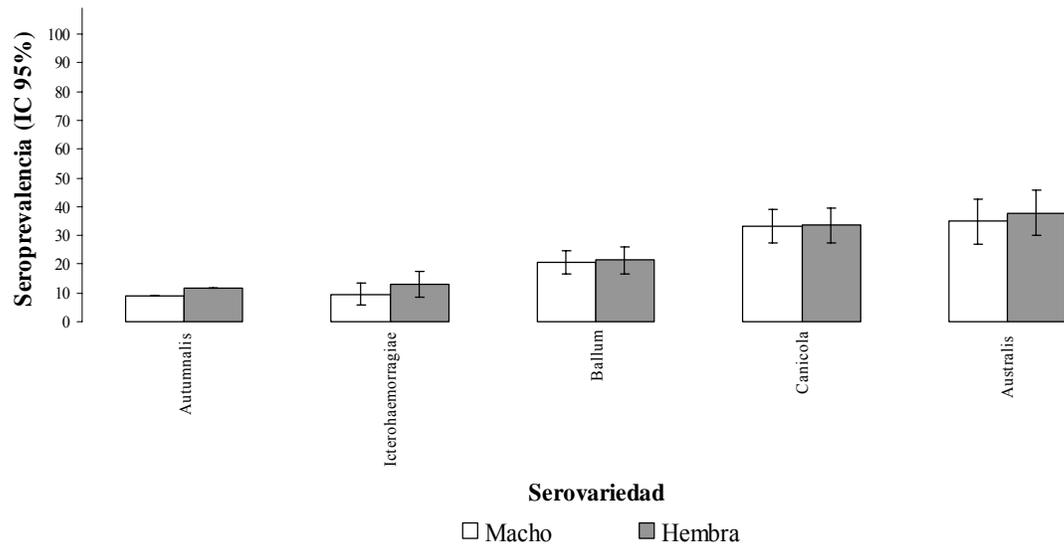
**Figura 7.3 Seroprevalencia (%) e IC (95%) de las serovariedades de *Leptospira* de cada una de las tres especies de roedor estudiadas en la Isla Cozumel. Se omite la serovariedad Hardjoprajitno por no haber habido organismos seroreactores. Las letras sobre las barras muestran las diferencias significativas entre las tres especies, para la serovariedad respectiva. A: Donde no existen diferencias significativas; B: Donde existen diferencias significativas; AB: Existen diferencias significativas con una serovariedad, pero no existe dicha diferencia con respecto a la otra.**

De manera consistente en el caso de todas las serovariedades estudiadas, la seroprevalencia fue mayor en la ZU, seguida de la ZNIA y finalmente la ZN (Figura 7.2). Las serovariedades más prevalentes en la ZU son Canicola, Australis y Ballum Castellonis, registradas en *M. musculus* y en *R. rattus* en el caso de Australis. También registré la presencia de Icterohaemorrhagiae y Autumnalis, pero en menor proporción. En la ZNIA también se presentaron seroreactores a todas las serovariedades (excepto Hardjoprajitno), siendo las más prevalentes Australis y Canicola, registradas sobre todo en *O. c. cozumelae*. En la ZN solamente capturé *O. c. cozumelae*, y las serovariedades más prevalentes son Canicola, Australis y Ballum Castellonis, seguidas por escasos seroreactores positivos de Autumnalis e Icterohaemorrhagiae (Figura 7.3).

No encontré diferencias estadísticamente significativas entre las seroprevalencias de las diferentes serovariedades al considerar la clase de edad o sexo en cualquiera de las tres especies de roedores estudiadas (Figuras 7.4 y 7.5).



**Figura 7.4 Seroprevalencia (%) e IC (95%) de las serovariedades de *Leptospira* de acuerdo con la clase de edad de los individuos de las tres especies de roedor estudiadas.**



**Figura 7.5 Seroprevalencia (%) e IC (95%) de las serovariedades de *Leptospira* de acuerdo con el sexo de los roedores de las tres especies estudiadas, en conjunto.**

## 8 DISCUSIÓN

Capturé un total de 267 (203 *M. musculus* y 64 *R. rattus*) roedores exóticos. Anteriormente, ya existían reportes de *R. rattus* y *M. musculus* en Cozumel (Engstrom, *et al.* 1989; Fortes-Corona, 2004; Fuentes, 2007). Fortes-Corona (2004) reportó un avistamiento de *R. rattus* en la ciudad de San Miguel. Sin embargo, esta es la primera vez que se realiza un muestreo en la ZU y en muchos de los sitios de la ZNIA, con el objetivo de capturar estas especies y determinar su seropositividad para diferentes serovariedades de *Leptospira*.

Mediante un esfuerzo de muestreo total de 7,739 noches/trampa, solamente capturé 104 *O. c. cozumelae* en cuanto a los roedores nativos, teniendo un éxito de captura de 1.3%. Los capturé en los tres tipos de sitio de captura utilizados para este estudio, aunque solamente fueron siete individuos en la ZU, en tres sitios diferentes (4 en “Faro”, 2 en “Línea, y 1 en “DIF” - ver Cuadro 10.6 en el Apéndice-). Dichos sitios eran terrenos en la periferia de la ciudad, en donde predominaba la vegetación nativa. Gutiérrez-Granados (2003) reportó un éxito de captura ligeramente superior (1.9%) para esta especie, mediante un esfuerzo de muestreo de 16,794 noches/trampa. Posteriormente, Fortes-Corona (2004) obtuvo un éxito de captura menor (0.69%) con un esfuerzo de muestreo superior (18,879 noches/trampa). Mientras tanto, Fuentes (2007) realizó un esfuerzo de muestreo de 16,855 noches/trampa, obteniendo un éxito de captura de 0.39% para esta especie, inferior al del presente estudio. Todas las capturas de los dos primeros estudios anteriormente citados ocurrieron en la parte central de Cozumel. Fuentes (2007) también incluyó la zona urbana dentro de su trampeo, aunque con un esfuerzo de muestreo reducido. También hay reportes de la presencia de *O. c. cozumelae* en la parte noroeste, norte, este y sur de la isla (Vega *et*

*al.*, 2007). Esta especie tiene cierta preferencia (sin diferencias estadísticamente significativas) por la cercanía a zonas perturbadas (Fuentes, 2007). Su abundancia no se relaciona con variables como la disponibilidad de refugio, cobertura vegetal del sotobosque, cantidad de semillas removidas o densidad de árboles (Gutiérrez-Granados, 2003).

Por otro lado, no capturé ningún *R. spectabilis*. Este es el primer estudio en las poblaciones de roedores de Cozumel en donde no se encuentran individuos de esta especie. Gutiérrez-Granados (2003), reportó 6 capturas que le representó un éxito de captura de 0.03%. Después se incrementó dicho éxito a 0.13% y a 0.58% en estudios posteriores (Fortes-Corona, 2004; Fuentes-Montemayor, 2007). Según Fuentes-Montemayor (2007) y Fuentes-Montemayor (2009), esta especie tiene preferencia por las zonas más alejadas de los bordes y menos perturbadas; a pesar de que Reid (1997), lo reporta como abundante en los bordes de la selva baja. El declive en la población de esta especie puede deberse a eventos como los huracanes, la destrucción y fragmentación del hábitat, el efecto de los bordes y de manera particular a las especies exóticas (Cuarón, 2009). La presencia de animales introducidos (*Boa constrictor* y perros y gatos ferales) pone de manifiesto que los roedores nativos son susceptibles a la depredación (Martínez-Morales y Cuarón, 1999; Bautista, 2006), incluyendo la de *R. rattus*. En las Islas Galápagos, la pérdida de las especies *Nesorysomys* y *Oryzomys* coincide con los hábitat en donde *R. rattus* se ha establecido (Harris *et al.*, 2006). Asimismo, cuatro especies de *Oryzomys sp.* se extinguieron en Galápagos debido a la presencia de *R. rattus*, así como 14 especies de aves en diferentes islas. En México, se han documentado casos de roedores insulares endémicos probablemente extintos por la introducción de gatos y ratas (Mellink *et al.*, 2002). Además, existen autores que afirman que las ratas han estado implicadas en el 54% de las

extinciones recientes de aves atribuidas a la depredación (Amori y Clout, 2003). A *R. exulans* se le ha atribuido la extinción de varios invertebrados nativos (anfibios y reptiles), así como a *R. norvegicus* se le culpa de la eliminación de la población total de tuátaras (*Sphenodon punctatus*), en una isla de Nueva Zelandia (Amori y Clout, 2003). Por otro lado, el impacto de la invasión de *M. musculus* parece ser menor, sin embargo esto puede reflejar nuestra ignorancia sobre sus efectos; los cuales pueden ser graves para el ecosistema, ya que también puede ser depredador, aunque lo más probable. Particularmente en Cozumel, dichos efectos son difíciles de evaluar, dada la presencia de *R. rattus*.

Este también es el primer estudio seroepidemiológico de *Leptospira* en estas poblaciones de roedores, así como para cualquier población insular de roedores de México. Los resultados obtenidos evidencian la presencia bien establecida de *L. interrogans* (Australis, Canicola e Icterohaemorrhagiae) y *L. borgpetersenii* (Ballum Castellonis), en las tres especies de roedores capturadas. Sin embargo, los resultados de este estudio no son suficientes para demostrar si dichas serovariedades provienen de los roedores exóticos o de los nativos. Se puede inferir que los animales exóticos pueden acarrear nuevos agentes infecciosos a los sitios que invaden, pero también se ha reportado que los individuos exóticos sufren infecciones por los patógenos de las especies nativas (Torchin *et al.*, 2003). Aparte, en el caso del patógeno en estudio, éste puede sobrevivir fuera de sus huéspedes mamíferos, en un ambiente acuoso y sin nutrientes (Trueba *et al.*, 2004).

El punto de corte que elegí para la realización de la prueba de Aglutinación Microscópica fue la dilución 1:25, la cual es similar al utilizado en otros estudios con ratones, donde incluso, se incluyeron títulos menores. Por ejemplo, en la Nueva Zelandia e India se han reportado puntos de corte de 1:12 y 1:20, respectivamente (Hathaway *et al.*,

1981; Priya *et al.*, 2007); solamente utilizando la prueba como evidencia de un contacto anterior con un agente determinado y no como diagnóstico de una infección activa.

De las dos especies de roedores exóticos incluidas en el muestreo el 54.8% (47.2-62.3%) de *M. musculus* y el 19.3% (9-29.6%) de *R. rattus* fueron positivos por lo menos a una serovariedad de *Leptospira*. La prevalencia total fue menor a la encontrada en la Isla Terciaria, Portugal, donde se encontró una seroprevalencia total en *M. musculus* de 90.9% y de 56.8% en *R. rattus* (Collares-Pereira *et al.*, 2000). Mientras tanto, en este estudio el 21.5% (11.3-31.4%) de los *O. c. cozumelae* fueron seropositivos por lo menos a una de las serovariedades estudiadas. Otras especies de roedores silvestres han sido identificadas como portadoras de *Leptospira*, como *Apodemus agrarius* y *A. speciosus*, en Corea y Japón, respectivamente (Cho *et al.*, 1988; Koizumi *et al.*, 2008). En ambos casos, la prevalencia fue menor que en este estudio (9.9% y 11%, respectivamente). Sin embargo, el agente fue aislado en el laboratorio. En Argentina, los roedores *Holochilus brasiliensis* y *Oligoryzomys flavescens* presentaron seroprevalencias mayores con la prueba de ELISA, 100% (n=2) y 84% (n=19) (Vanasco, 2003).

Incluí en el estudio la serovariedad Australis principalmente por el reporte de Mena (2007), donde fue una de las que presentaron mayor prevalencia (10.8%) en los perros y otros mamíferos medianos de Cozumel. En los roedores de la isla, la prevalencia total para la serovariedad Australis fue del 72.7% (67.4-77.9%) (1:119.5), donde los roedores exóticos tuvieron una mayor prevalencia, siendo de 75.4% y 73.7% en *R. rattus* y *M. musculus*, respectivamente. La prevalencia en los *O. c. cozumelae* también fue alta (66.7%). Esta serovariedad tradicionalmente se ha aislado de roedores silvestres y de marsupiales (Agriculture, 2000). También Faine (1994) designa a la serovariedad como adaptada a ratas, después de trabajar con modelos experimentales y naturales de infección en esos

animales con dicha serovariedad. Hay evidencias a nivel mundial de prevalencias altas en diversas poblaciones de roedores, como: *Hydromys chrysogaster*, *Perameles nasuta*, *Isodon macrourus*, *R. sordidus*, *R. fuscipes*, *R. rattus*, *M. musculus*, *Uromys caudimaculatus* y marsupiales silvestres. En Europa ha sido aislada de *Apodemus sylvaticus*, *Ondatra zibethicus*; y de otros mamíferos pequeños: *Erinaceus europaeus* y *Meles meles* (Agriculture, 2000).

El perro es el reservorio reconocido para la serovariedad Canicola (Instituto Pasteur, 2008). Sin embargo, en el presente estudio encontré una seroprevalencia total elevada en las poblaciones de roedores (66.5% (61-72.1%) (1:139)). *M. musculus* y *O. c. cozumelae* tuvieron una seroprevalencia del 83.3% (77.5-89.2%) y 71.2% (60.3-82.1%), respectivamente, para esta serovariedad. Estos resultados se pueden relacionar con la distribución de los mamíferos medianos silvestres y perros en Cozumel, ya que existe una evidencia de la presencia de anticuerpos contra esta serovariedad en dichas poblaciones (Mena, 2007). La prevalencia en la población de *R. rattus* fue del 14% (5.0-23.1%), es decir, igual a la reportada en perros de Yucatán (Vado-Solis *et al.*, 2002), en donde ningún roedor fue seropositivo a esta serovariedad. Los resultados fueron ligeramente superiores a los reportados en ratas de Nueva Zelandia (8%) (Hathaway *et. al.*, 1981) y en carnívoros silvestres y perros de la Isla Cozumel (11.7% y 7.5%, respectivamente) (Mena, 2007). Existen contados reportes de aislados de Canicola en otras especies animales asociados a cuadros clínicos (cerdos, caballos, ovejas, gato y humanos) y en forma subclínica (bovinos). Entre las especies silvestres se reportan: *Canis lupus*, *Isodon macrourus*, *Melomys burtoni* y *M. cervinipes* (Agriculture, 2000).

Referente a la situación de la serovariedad Ballum Castellonis en Cozumel, el 42% (36.7-47.9%) (1:55.1) de los roedores (nativos y exóticos) fueron seroreactores positivos;

presentándose en el 39.4% de los sueros de *O. c. cozumelae* capturados en el presente estudio. Hallé una seroprevalencia de Ballum Castellonis del 49.4% en los *M. musculus* (todos capturados en la ZNIA y la ZU), similar a la reportada para la misma serovariedad y en la misma especie en la ciudad de Santa Fé, Argentina (Rossetti *et al.*, 2004). En dicho estudio la prevalencia fue de 39%, 44% y 46% mediante las pruebas (directas) de aislamiento, tinción de Warthin-Starry e inmunohistoquímica, respectivamente. La reacción contra esta serovariedad ha predominado en ratones (*M. musculus*) de otras islas del Caribe (Matthias y Levett, 2002). En México, se ha reportado con bajas prevalencias en la zona continental cercana a Cozumel, pero en poblaciones de vacas y humanos (Leal *et al.*, 2003; Luna *et al.*, 2005). También, en una granja de bovinos lecheros en el centro de México se reportaron cinco aislamientos de Ballum Castellonis, a partir de *M. musculus* (Carmona *et al.*, 2007). Mientras tanto, se encontró evidencia de que los perros de Cozumel presentan anticuerpos contra Ballum Castellonis y Ballum Mus, en un 22 y 5%, respectivamente (Mena, 2007). Dichos resultados posiblemente estén relacionados con la distribución de los perros en Cozumel, al compartir el espacio con las diferentes especies de roedores (nativos o exóticos) en la ZNIA (llamada zona rural por Mena -2007-) y en la ZU. A la especie *R. rattus* se le reconoce como huésped de mantenimiento de este serogrupo, aunque tradicionalmente se considera a *M. musculus* como el reservorio de esta serovariedad (Hathaway *et al.*, 1981). Asimismo, Ballum ha sido aislada de *R. rattus*, *R. norvegicus*, *M. musculus* y del erizo común (*Erinaceus europaeus*). Por lo tanto, no es extraño mostrar que exista una prevalencia de anticuerpos contra Ballum Castellonis del 22.8% en las ratas exóticas (*R. rattus*) de Cozumel. Aunque dicha prevalencia sea menor a la presentada por las otras dos especies estudiadas. En otro ecosistema insular, en Nueva Zelanda, encontraron una seroprevalencia del 27% de *R. rattus* (similar a la de este

estudio) y 4% de *R. norvegicus* con títulos de 1:24 a 1:192 y de 1:12 a 1:48, respectivamente (Hathaway *et al.*, 1981). Los resultados obtenidos en este estudio dan fundamento al papel que juegan estos roedores como reservorios de esta serovariedad, y al posible riesgo de salud pública y de conservación que esto implica. Por último, aunque no capturé ningún individuo de la especie *R. spectabilis*, existe un reporte del aislamiento de esta serovariedad en un *R. megalotis* en California, E. U. (Hubert y Rosen, 1966).

Icterohaemorrhagiae presentó una seroprevalencia total del 22.6% (17.5-27.8%) (1:40.8), donde *M. musculus* y *R. rattus* presentaron una seroprevalencia del 26.9% (20-33.9%) y 24.6% (13.4-35.7%), respectivamente. En tanto que en *O. c. cozumelae* fue tan sólo del 1.5% (5-4.5%). En un estudio realizado en una región continental relativamente cercana a la Isla Cozumel se registró una seroprevalencia total de 15%, pero de 71% en *R. rattus* (Vado-Solis *et al.*, 2002). Existe otro reporte de seroprevalencia de Icterohaemorrhagiae en ratas en otra región mexicana, específicamente en Cd. Guzmán, Jalisco, la cual fue de 3.95% (Sepúlveda *et al.*, 2002), mucho menor a la reportada en el presente estudio. Esta serovariedad ha predominado en *R. norvegicus* de otras islas del Caribe (Taylor *et al.*, 1991) y es considerada reservorio de la serovariedad Icterohaemorrhagiae en otras partes del mundo (Hathawat *et al.*, 1981). Se ha observado que cuando existe un alto nivel de endemismo de Icterohaemorrhagiae entre los animales que funcionan como reservorios (con este serogrupo), la prevalencia del serogrupo Ballum es baja o nula (Hathawat *et al.*, 1981); lo cual sugiere que Icterohaemorrhagiae se adapta de mejor manera a sus reservorios que Ballum, cuando circulan en las mismas poblaciones. Sin embargo; en este estudio la prevalencia de Ballum Castellonis sobrepasa a la de Icterohaemorrhagiae, lo cual puede ser reflejo del número de *M. musculus* capturados (203), contra 64 registros de *R. rattus*.

La prevalencia total de Autumnalis para los roedores de Cozumel fue de 20.8% (15.8-25.8%) (1:1.44.4). Sin embargo, la baja seroprevalencia detectada y los títulos recíprocos obtenidos con el tamaño de muestra, no permiten hacer inferencias sobre esta serovariedad. Como mencioné anteriormente, la prueba puede presentar reacciones cruzadas entre diferentes serovariedades del mismo serogrupo o especie. Lo cual quiere decir que ciertos individuos pueden ser portadores de *Leptospira* siendo seronegativos, o que reacciones positivas en diluciones bajas a serovariedades del mismo serogrupo o especie que aquella que es la infectante. Por lo tanto, asumí que son producto de reacciones inespecíficas a las serovariedades de mayor seroprevalencia en este trabajo. Autumnalis se ha aislado de *Byicota indica*, *B. savilei* y *R. rattus* en India y Tailandia, donde se consideran como los reservorios silvestres, en asociación a brotes epidémicos con leptospirosis clínica grave en humanos (Saravanan *et al.*, 2000; Thaipadungpanit *et al.*, 2007).

Ninguno de los roedores de la Isla Cozumel presentó anticuerpos contra la serovariedad Hardjoprajitno. Aunque Mena (2007), reportó un seroprevalencia de 8.8 y 12.5% de Hardjobovis y de 5.8 y 12.5% de Hardjoprajitno en carnívoros silvestres y perros, respectivamente. Esta serovariedad se ha asociado al ganado vacuno, el cual se considera su reservorio (Quinn y Markey, 2003). Cabe considerar que no capturé a ningún individuo cerca de donde se encuentra el escaso ganado de este tipo que habita en la isla, en cual se concentra cerca de la comunidad de El Cidral, en la parte suroeste de Cozumel. Bullach *et al.* (2006), en el primer estudio de comparación genómica entre las especies *L. interrogans* y *L. borgpetersenii*, proponen para el caso específico de Hardjobovis (*L. borgpetersenii*), que ha estado evolucionando hacia un ciclo de transmisión directa entre sus reservorios de estricta dependencia, manifestándose la reducción del genoma así como en poca viabilidad

fuera de su reservorio (bovinos) y poca adaptabilidad a otros reservorios o medios de cultivo. En tanto, Hardjoprajitno demuestra tener un genoma más grande reflejado en una mayor adaptabilidad al medio ambiente y a diferentes reservorios o huésped accidentales.

En la Península de Yucatán han sido reportadas otras serovariedades (Pomona y Wolffi ) en especies silvestres, en tlacuaches (*Didelphis virginiana*) de áreas suburbanas del Estado de Yucatán (Ruiz *et al.*, 2002). Estas serovariedades no fueron monitoreadas en el presente estudio.

No evalué variables ambientales/climatológicas, como temperatura y humedad, que pudieran influir en la transmisión de *Leptospira*, en las poblaciones de huéspedes de mantenimiento silvestres. En la Isla Terciaria, Portugal, se reporta una seroprevalencia de la serovariedad Arborea del 90.9% en *M. musculus*, capturados sobre todo en lugares húmedos, que favorecen la sobrevivencia de estos organismos fuera del huésped (Collares-Pereira *et al.*, 2000). No existe información sobre la variación local de variables climatológicas (temperatura, humedad) en las diferentes zonas de captura. No obstante, hay que considerar que por las peculiares características geográficas (topografía plana, extensa vegetación natural) es poco probable que exista una variabilidad importante en la temperatura de las diferentes zonas de la isla (salvo la Zona Urbana, en donde seguramente aumenta por la actividad humana y el asfalto que recubre las calles). La humedad también es poco probable que varíe mucho, quizás con excepción de las zonas más próximas a las lagunas costeras de la isla.

Al notar las claras diferencias en cuanto a la zona de captura entre las especies de roedores de Cozumel, puedo decir que existen oportunidades casi nulas de transmitir la *Leptospira* en la ZN entre las especies nativas y exóticas, ya que únicamente encontré roedores nativos de la especie *O. c. cozumelae*. De manera contraria, la oportunidad de

transmisión aumenta notoriamente en la ZU, donde atrapé roedores nativos (sólo 7 *O. c. cozumelae*) y exóticos, con una alta densidad en las poblaciones de los últimos. En la ZNIA encontré animales de las tres especies capturadas, por lo tanto, es la zona donde existe mayor oportunidad de transmisión de *Leptospira* entre las tres especies.

No encontré diferencias significativas al relacionar la edad y el sexo con la serología, al igual que en especies estudiadas en otras ocasiones (Hathaway *et al.*, 1981). En contraste con lo reportado por Collares-Pereira *et al.* (2000), donde encontraron una mayor prevalencia en los machos sexualmente activos (*M. musculus*) en una de las Islas Azores, Portugal.

Por otro lado, debido a que los roedores han sido identificados como los principales portadores y diseminadores de *Leptospira* dentro y alrededor de diversas ciudades, el humano siempre juega un papel de huésped accidental (Priya *et al.*, 2007). Por lo tanto, la epidemiología de la leptospirosis, en humanos, es mejor entendida cuando se estudia con base a las serovariedades que portan los roedores u otros posibles reservorios en una determinada región. En los humanos, esta enfermedad es rara en los niños, aumenta en los adolescentes y en la mayoría de los casos, se encuentra en adultos (Erosa-Barbachano, 2001). Las serovariedades que más se han asociado con la leptospirosis aguda o fatal en los humanos son aquellas pertenecientes al serogrupo Icterohaemorrhagiae (Icterohaemorrhagiae, Copenhageni y Lai), y algunas serovariedades del serogrupo Australis (Australis y Bratislava), Autumnalis (Autumnalis y Bim), Bataviae (Bataviae) y Pyrogenes (Pyrogenes y Zanoni) (Agriculture, 2000).

De esta manera, mediante los resultados obtenidos en este estudio, determino que existen diferencias entre las tres especies de roedores estudiadas, así como con las zonas con distinto nivel de perturbación antrópica de Cozumel, con respecto a la seroprevalencia

de diferentes serovariedades de *Leptospira*. Asimismo, establezco que no hay diferencias de la seroprevalencia de *Leptospira* con relación al sexo y clase de edad de las tres especies de roedores insulares.

## 9 CONCLUSIONES

Existen diferencias entre los roedores nativos y exóticos, así como con las zonas con distinto nivel de perturbación antrópica de la Isla Cozumel, con respecto a la seroprevalencia de diversas serovariedades de *Leptospira*. Sin embargo, no hay diferencias de la seroprevalencia de *Leptospira* con relación al sexo y a la clase de edad de los roedores de la isla.

Los resultados obtenidos en este estudio dejan ver que las poblaciones de roedores de la Isla Cozumel, tanto nativas como exóticas, han estado en contacto con algunas serovariedades patógenas de *Leptospira*.

El patrón seroepidemiológico que observé para las serovariedades Australis en el caso de las tres especies estudiadas, Ballum Castellonis para las dos especies de ratones (*O. c. cozumelae* y *M. mus*) e Icterohaemorrhagiae para las ratas (*R. rattus*), apunta a que están mejor adaptadas a sus respectivos reservorios. El comportamiento de los ratones puede estar favoreciendo el contacto directo o indirecto con el reservorio reconocido de Canicola (perros), y aumentando el riesgo la infección accidental de esta serovariedad. En particular, si se comparan con los resultados del grupo de las ratas.

No hay evidencia de la presencia de la serovariedad Hardjobovis en los roedores. Mientras que las evidencias que obtuve para Autumnalis no son suficientes para inferir alguna conclusión sobre su seroprevalencia.

Más allá del ciclo epidemiológico de las serovariedades detectadas en los roedores, su presencia implica un factor de riesgo de infección tanto para otros mamíferos domésticos o silvestres, como para el hombre.

La serología sólo constituye una evidencia del desafío natural que ha existido de parte de las poblaciones de roedores con *Leptospira*. Solamente el aislamiento y la caracterización de estos patógenos podrán determinar su presencia en dichas poblaciones.

Es necesario realizar el aislamiento y caracterización molecular de las *Leptospira* para determinar su presencia y asociación con los diferentes reservorios. Con base en ello, se deben hacer estudios de riesgo de infección y su impacto, en particular en las especies estudiadas y en las otras que comparten su hábitat, incluyendo al hombre.

El presente estudio representa el segundo reporte serológico de la *Leptospira* en los mamíferos de la Isla Cozumel (Mena, 2007) y el primero en sus roedores. Asimismo, es el primero que incluye un muestreo exhaustivo en la ZU, y en menor grado en la ZNIA.

La seroprevalencia fue mayor en la ZU, seguida de la ZNIA y finalmente la ZN. Las serovariedades más prevalentes en la ZU son Canicola, Australis y Ballum Castellonis, registradas en *M. musculus*, y también en *R. rattus* en el caso de Australis. También registré la presencia de Icterohaemorrhagiae y Autumnalis, pero en menor proporción. En la ZNIA también se presentaron seroreactores a todas las serovariedades (excepto Hardjoprajitno), siendo las más prevalentes Australis y Canicola, registradas sobre todo en *O. c. cozumelae*. En la ZN solamente capturé *O. c. cozumelae*, y las serovariedades más prevalentes son Canicola, Australis y Ballum Castellonis, seguidas por escasos seroreactores positivos de Autumnalis e Icterohaemorrhagiae. No encontré una diferencia entre las clases de sexo y edad y la seroprevalencia de *Leptospira* en ninguna de las tres especies estudiadas.

La información obtenida es una señal de que existe un riesgo de zoonosis en Cozumel, por lo tanto es necesario el monitoreo de otras enfermedades, de preferencia de aquellas que tengan implicaciones en la conservación y en la salud pública; para poder determinar un adecuado manejo de las mismas y de sus huéspedes.

## 11 REFERENCIAS

- Acevedo-Whitehouse WK, De la Cueva H, Gulland FMD, Aurioles GD, Arellano CF, Suárez GF. Evidence of *Leptospira interrogans* infection in California sea lion pups from the Gulf of California. *J Wildl Dis.* 2003;39:145-51.
- Adler, B. y De la Peña-Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Micro.*(En prensa).
- Agriculture Fisheries and Forestry. A scientific review of leptospirosis and implications for quarantine policy. Canberra: Commonwealth of Australia; 2000.
- Alcover JA, Sans A, Palmer M. The extent of extinctions of mammals on islands. *J Biogeogr.* 1998;25:913-8.
- Amori G, Clout M. Rodents on islands: a conservation challenge. En: Singleton GR, Hinds LA, Krebs CJ, Spratt DM, editores. *Rats, mice and people: rodent biology and management.* Australia: Australian Center for International Agricultural Research; 2003. p. 63-8.
- Atkinson IAE. The spread of commensal species of *Rattus* to oceanic islands and their effect on island avifaunas. En: Western D, Pearl MC, editores. *Conservation of island birds: ICBP Technical Publication;* 1985. p. 35-81.
- Ayanegui-Alcerreca MA, Wilson P, Mackintosh C, Collins-Emerson J, Heuer C, Midwinter A, *et al.* Leptospirosis in farmed deer in New Zealand: a review. *N Z Vet J.* 2007;55:102-8.
- Bautista S. Distribución, abundancia y dieta de perros y gatos ferales en la Isla Cozumel (tesis de maestría). Xalapa, Veracruz, México: Instituto de Ecología A. C; 2006.

- Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 2003;3:757-71.
- Biberstein E. *Leptospirae*. Boston: Blackwell Scientific Publicacions; 1990.
- Böhm M, White P, Chambers J, Smith L, Hutchings M. Wild deer as a source of infection for livestock and humans in the UK. *Vet J.* 2007;174:270-6.
- Bolin CA. Leptospirosis. En: Fowler ME, editor. *Zoo and wild animal medicine*. Philadelphia: Saunders; 2003.
- Broots GF, Batel JS, Morse SA. *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 18<sup>a</sup> ed. México: El Manual Moderno S.A. de C.V.; 2005.
- Bunnell JE, Hice CL, Watts DM, Montrueil V, Tesh RB, Vinetz JM. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;63:255-8.
- Carmona-Gazca CA, Ávila-García J, De la Peña-Moctezuma A. *Leptospira* infection in cows and rodents from a dairy farm in central Mexico. International Leptospirosis Society (ILS) 5th meeting; 2007 September 17-20. Quito, Ecuador.
- Collares-Pereira M, Mathias ML, Santos R, Ramalhinho MG, Duarte P. Rodents and *Leptospira* transmission risk in Terceira island (Azores). *Eur J Epidemiol* 2000;16:1151-7.
- CONABIO. Comisión Nacional para el conocimiento y el uso de la Biodiversidad. 2009: [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx).
- Courchamp F, Chapuis JL, Pascal M. Mammal invaders on islands: Impact, control and control impact. *Biol Rev Cam Philos Society.* 2003;78:347-83.

- Crump JA, Murdoch DR, Baker MG. Emerging infectious diseases in an island ecosystem: the New Zealand perspective. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7:767-72.
- Cuarón AD. Cozumel. In: Gillespie R, Clague D, editors. *Encyclopedia of Islands.* Berkeley, USA: University of California Press; 2009:203-6.
- Cuarón AD, Martínez Morales MA, McFadden AW, Valenzuela D, Gompper ME. The status of dwarf carnivores on Cozumel Island, Mexico. *Biodiv Conserv.* 2004;13:317-31.
- Chappel R, Prime R, Millar B, Mead L, Jones R, Adler B. Comparison of diagnostic procedures for porcine leptospirosis. *Vet Microbiol.* 1992; 30:151-63.
- Chinery M. *Guía de campo de los animales silvestres.* Barcelona: Blume S.A.; 1988.
- Cho M, Kee S, Song H, Kim K, Song K, Baek L, *et al.* Infection rate of *Leptospira interrogans* in the field rodent, *Apodemus agrarius*, in Korea. *Epidemiol Infect.* 1998;121:685-90.
- Engstrom MD, Schmidt CA, Morales JC, Dowler RC. Records of mammals from Isla Cozumel, Quintana Roo, Mexico. *Southwest Nat.* 1989;34:413-5.
- Erosa-Barbachano A. Leptospirosis. *Biomédica.* 2001;12:282-7.
- Faine S, Adler B, Bolin CA, *et al.* *Leptospira* and leptospirosis. 2<sup>a</sup> ed. Melbourne, Australia; 1999.
- Fortes-Corona I. *Ecología de roedores endémicos de la Isla Cozumel, Quintana Roo, México (tesis de licenciatura).* Zapopan, Jalisco: Universidad de Guadalajara; 2004.

- Fuentes-Montemayor E, Cuarón AD, Vázquez-Domínguez E, Benítez-Malvido J, Valenzuela D, Andresen E. Living on the edge: roads and edge effects on animal populations. *J Anim Ecol.* 2009.
- Fuentes-Montemayor E. Efectos de borde provocados por caminos sobre poblaciones de ratones endémicos de la Isla Cozumel (tesis de maestría). México D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México; 2007.
- Harris DB, Gregory SD, MacDonald DW. Space invaders? A search for patterns underlying the coexistence of Alien black rats and Galápagos rice rats. *Oecologia.* 2006;149:276-88.
- Hathaway SC. Leptospirosis in New Zealand: an ecological view. *N Z Vet J.* 1981;29:109-12.
- Hathaway SC, Blackmore DK, Marshall RB. Leptospirosis in free-living species in New Zealand. *J Wildl Dis.* 1981;17:489-96.
- Higgins R. Emerging or re-emerging bacterial zoonotic diseases: bartonellosis, leptospirosis, Lyme borreliosis, plague. *Rev Sci Tech Off Int Epeiz.* 2004; 23:569-81.
- Hubbert WT, Rosen MN. Isolation of *Leptospira ballum* from a Western Harvest Mouse (*Reithrodontomys megalotis*). *Bull Wildl Dis Assoc.* 1966;2:18-9.
- Instituto Pasteur. *Leptospira* Molecular Biology Home Page. Paris; 2008 <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Leptospira.html>.
- Ishtiaq F, Beadell J, Baker A, Rahmani A, Jhala Y, Fleischer C. Prevalence and evolutionary relationships of haematozoan parasites in native versus introduced populations of common myna *Acridotheres tristis*. *Proc R Soc B.* 2006;273:587-4.

- Jones JK, Lawlor TE. Mammals from Isla Cozumel, Mexico, with description of a new species of harvest mouse. *M Nat Hist.* 1965;16:409-19.
- Kita J, Anusz K. Serologic survey for bovine pathogens in free-ranging European Bison from Poland. *J Wildl Dis.* 1991;27(1):16-20.
- Koizumi N, Muto M, Yamamoto S, Baba Y, Kudo M, Tamae Y, *et al.* Investigation of reservoir animals of *Leptospira* in the northern part of Miyazaki Prefecture. *Jpn J Infect Dis.* 2008;61:465-8.
- Leal CB, García E, González E, Fuentes JL, Escobedo J. Risk factors and prevalence of leptospirosis infection in a rural community of Chiapas, Mexico. *Epidemiol Infect.* 2003;131:1149-56
- Leendetz F, Pauli G, Maetz-Rensing K, Boardman W, Nunn C, Ellenbrok H, *et al.* Pathogens as drivers of population declines: the importance of systematic monitoring in great apes and other threatened mammals. *Biol Conserv* 2006;131(2):325-37.
- Leighton FA, Kuiken T. Leptospirosis. En: Williams ES, Barker IK, editores. *Infectious diseases of wild animals.* 3 ed. Iowa: Iowa State University Press/AMES; 2001.
- Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:296-326.
- Luna MA, Moles LP, Gavaldón D, Nava C, Salazar F. Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México considerando las regiones ecológicas. *Rev Cubana Med Trop.* 2005;57.

- Mack R, D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol Applic.* 2000;10:689-710.
- Martínez-Morales MA. The Cozumel curassow: abundante, habitat preference and conservation (tesis de doctorado). Cambridge, U.K.: Universidad de Cambrigde; 1996.
- Martínez-Morales MA, Cuarón AD. *Boa constrictor*, an introduced predator threatening the endemic fauna on Cozumel Island, Mexico. *Biodiv Conserv.* 1999;8: 957-63.
- Matthias MA, Levett PN. Leptospiral carriage by mice and mongooses on the island of Barbados. *West Indian Med J.* 2002;51:10-3.
- McCarthy A, Shaw M, Goodman S. Pathogen evolution and disease emergence in carnivores. *Proc R Soc B.* 2007;274:3165-74.
- Mellink E, Ceballos G, Luevano J. Population demise and extinction threat of the Angel de la Guarda deer mouse (*Peromyscus guardia*). *Biol Conserv* 2002; 108:107-11.
- Mena H. Presencia de *Leptospira* spp. y moquillo canino en poblaciones de perros y carnívoros silvestres en la Isla Cozumel (tesis de maestría). México D. F. Universidad Nacional Autónoma de México; 2007.
- Navarro RMG. Conocimientos y percepciones sobre la fauna por los habitantes de la Isla Cozumel. Zapopan, Jalisco: Universidad de Guadalajara; 2005.
- Organización Mundial de la Salud. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control. Malta: OMS; 2003.

- Organización Panamericana de la Salud. El control de las enfermedades transmisibles. Washington D.C.: OPS; 2001.
- Pradutkanchana S, Pradutkanchana J, Kanjanapin W, Siripaitoon P. An outbreak of leptospirosis after severe flood in Hai Tai in 2000. *J. Infec Dis Antimicrobial Agents*. 2002;19:9-13.
- Prenter J, Macneil C, Dick JT, Dunn AM. Roles of parasites in animals invasions. *Trends Ecol Evol*. 2004;19:385-90.
- Prescott JF. Leptospirosis. In: Jubb KF, Kennedy PC, Palmer N, editors. *Pathology of Domestic Animals*. San Diego: Academic Press Inc; 1992. p.503-11.
- Priya CG, Hoogendijk KT, Berg MVD, Rathinam SR, Ahmed A, Muthukkaruppan VR, *et al*. Field rats form a major infection source of leptospirosis in and around Madurai, India. *J Postgrad Med*. 2007;53:236-40.
- Quinn PJ, Markey BK. *Concise review of veterinary microbiology*. EUA: Blackwell Publishing; 2003.
- Reid FA. *A field guide to the mammals of Central America and southeast Mexico*. New York: Oxford University Press; 1997.
- Rossetti CA, Vanasco NB, Pini N, Carfagnini JC. Comparison of three diagnostic techniques for the detection of leptospires in the kidneys of wild house mice (*Mus musculus*). *Pesq Vet Bras*. 2004;24:6-10.
- Ruiz PHA, Puc FMA, Flores AJ, Vado SI, Cárdenaz MM. Isolation of *Salmonella enterica* and serologic reactivity to *Leptospira interrogans* in opossums (*Didelphys virginiana*) from Yucatan, Mexico. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2002; 44:235-7.

- SAGARPA. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. 2008: [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx).
- Saravanan R, Rajendran P, Thyagarajan SP, Smythe LD, Norris MA, Symons ML, *et al.* *Leptospira autumnalis* isolated from a human case from Avadi, India, and the serovar's predominance in local rat and bandicoot populations. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 94:503-6.
- SEMARNAT. NOM -059-ECOL-2001, Protección Ambiental, especies nativas de México de flora y fauna silvestres- categorías de riesgo y clasificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- lista de especies en riesgo: Diario Oficial de la Federación, (6 de marzo); 2002. p. 95-190.
- Sepúlveda A, Santiago J, Preciado FJ. La rata y el perro, importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco. *Rev Cubana Med Trop.* 2002;54.
- Taylor KD, Turner LH, Everard JD. Leptospirosis in *Rattus* spp. on Barbados. *J Trop Med Hyg.* 1991;94:102-3.
- Thaipadungpanit J, Wuthiekanun V, Chierakul W, Smythe L, Petkanchanapong W, Limpiboon R, *et al.* A dominant clone of *Leptospira interrogans* associated with an outbreak of human leptospirosis in Thailand. *PLoS Negl Trop Dis.* 2007;1(1):e56.
- Thierman A. Leptospirosis: current development trends. *J Am Vet Med Assoc.* 1984;184:722-5.
- Tizzard IR. *Inmunología veterinaria.* 6 ed. México: McGraw Hill– Interamericana; 2000

- Torchin ME, Lafferty KD, Dobson AP, McKenzie VJ, Kuris AM. Introduced species and their missing parasites. *Nature*. 2003;421:628-30
- Tucunduva de Faria M, Athanzio DA, Goncalves Ramos EA, Silva EF, Reis MG, Koy AI. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. *J Comp Pathol*. 2007;137:231-8.
- Tucunduva de Faria M, Athanzio DA, Goncalves Ramos EA, Silva EF, Reis MG, Koy AI. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. *J. Comp. Path.* 2007;137:231-8.
- Vado-Solis I, Cárdenaz MF, Jiménez B, Alzina A, Laviada H, Suárez V, *et al.* Clinical-epidemiological study of leptospirosis of humans and reservoirs in Yucatán, Mexico. *Rev Inst Med Trop Sao Paolo*. 2002;44:335-40.
- Vanasco NB, Sequeira MD, Sequeira G, Tarabla HD. Associations between leptospiral infections and seropositivity in rodents and environmental characteristics in Argentina. *Prev Vet Med*. 2003;60:227-35.
- Vega R, Vázquez-Domínguez E, Mejía-Puente A, Cuarón AD. Unexpected high levels of genetic variability and the populations structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biol Conserv*. 2007;137:210-22
- Weil A. Ueber eine eigentümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit. *Dtsche Arch Klin med*. 1886;39:209-32.

## 10 Apéndice

**Cuadro 10.1 Perfil seroepidemiológico de la leptospirosis epidémica**

<b>Transmisión</b>	Directo	Intraespecie	Baja frecuencia
	Indirecto	Interespecie	Mayor frecuencia en animales domésticos
<b>Signos clínicos</b>	Presentación aguda	Medio ambiente	Alta frecuencia relacionada con la estación del año
<b>Presentación individual</b>	Presentación aguda	Nefritis intersticial aguda, falla renal y hepática, hepatitis, abortos, agalactia, ictericia, hemoglobinuria, anemia hemolítica, hemorragias generalizadas	
<b>Seropositividad en la población</b>	Aguda de leve a grave	Bacteriemia de 10 días; duración del agente en riñón y otros órganos y leptospiruria de días a semanas	
<b>Diagnóstico individual o de hato</b>	Se presenta con baja frecuencia en hatos de producción pecuarias, a manera de brote, y se relaciona con la edad		
<b>Huésped accidental doméstico y serovariedad (es) asociadas</b>	Aglutinación microscópica	Títulos altos contra la serovariedad infectante	
	Cultivo	No es frecuente y se obtiene de órganos urinarios, orina, sangre, hígado o SNC*.	
<b>Huésped accidental silvestre y serovariedad (es) asociadas</b>	Bovinos	Pomona, Icteroheamorrhagiae, Canicola, Griptophosa	
	Porcinos	Canicola, Icteroheamorrhagiae	
	Caninos	Pomona, Griptophosa, Hardjobovis	
	Equinos	Pomona, Icteroheamorrhagiae, Griptophosa	
<b>Huésped accidental silvestre y serovariedad (es) asociadas</b>	Ovinos	Pomona, Ballum	
	<i>Rattus norvegicus</i>	Pomona	
	<i>Zalophus californianus</i>	Pomona	
	<i>Cervus elaphus</i>	Pomona, Copenhageni, Roumanica	

\*SNC: Sistema nervioso central

NOTA: El humano siempre es un huésped accidental

**Cuadro 10.2 Perfil seroepidemiológico de la leptospirosis endémica**

<b>Transmisión</b>	Directo	Intraespecie	Alta frecuencia
	Indirecto	Interespecie	Ocasional
<b>Signos clínicos</b>	Presentación aguda	Ambiente	Baja frecuencia relacionada con la estación del año
<b>Presentación individual</b>	Crónica	Nefritis intersticial y baja fertilidad en hembras jóvenes	
<b>Seropositividad en la población</b>	Se presenta con alta frecuencia ligada a la edad de los individuos		
<b>Diagnóstico individual o de hato</b>	Aglutinación microscópica	Títulos bajos contra la serovariedad infectante	
	Cultivo	No es frecuente y se obtiene de órganos urinarios, reproductores y de la orina	
<b>Huésped de mantenimiento o reservorio doméstico</b>	Domésticos	Bovinos	Hardjobovis
		Porcinos	Pomona, Tarassovi
<b>Huésped de mantenimiento o reservorio silvestre</b>	Silvestres	Caninos	Canicola
		Equinos	Bratislava
		<i>Mus musculus</i>	Ballum
		<i>R. rattus</i>	Icteroheamorrhagiae
		<i>R. norvegicus</i>	Ballum, Icteroheamorrhagiae, Copenhageni
		<i>Trichosurus vulpecula</i>	Balcanica
	<i>Procyon lotor</i>	Grippyphosa	
	<i>Cervus elaphus</i>	Hardjobovis	

**Cuadro 10.3 Ejemplos de clasificación epidemiológica (reservorio o huésped accidental), presentación clínica y principales lesiones de algunas serovariedades**

Serovariedad	Especie animal	Presentación clínica					Lesiones					Signos											
		Tipo de huésped	Clínica	Subclínica	Aguda	Crónica	Hígado	Riñón	Pulmón	Vasos	Aparato reproductor	SNC	Fiebre	Ictericia	Hemoglobinuria	Mialgia	Hemorragia	Hemólisis	Falla renal	Falla hepática	Infertilidad	Aborto / Agalactia	
Australis	Roedores	R	x	x		x																	
	Caninos Humano	A	x		x	x	x	x										x	x				
Autumnalis	Roedores	R		x	x																		
	Humano Equino	A	x		x		x	x					x	x		x			x	x			
Ballum	Ratón Rata	R		x	x		x																
	Humano Bovino Hámster	A	x	x	x		x		x	x		x			x	x	x	x	x	x			
Bratislava	Porcino Equino	R	x	x	x	x		x		x		x	x	x							x	x	
	Humano Canino	A	x		x			x		x		x						x				x	
Canicola	Canino	R	x	x	x		x																
	Humano		x		x		x	x	x	x		x	x	x					x	x			
	Porcino				x		x	x	x										x	x		x	
	Bovino	A	x		x		x	x					x	x					x	x		x	
	Hámster		x		x		x	x				x				x			x	x			
	León m. Cobayo		x		x		x	x		x			x	x		x			x	x		x	
Grippotyphosa	Mapache	R			x		x																
	Humano		x		x		x		x			x	x									x	
	Canino	A	x		x		x	x					x						x	x			
	Bovino Equino		x		x		x	x		x		x	x						x	x		x	
Hardjobovis	Bovino Ciervo	R		x	x		x			x											x	x	x
	Humano		x		x							x	x		x								
	Equino Porcino	A	x		x		x						x								x		
Icterohaemorrhagiae / Copenhageni	Rata	R		x	x		x																
	Humanos		x		x		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	Bovinos		x		x		x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	
	Canino	A	x		x		x	x		x		x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	Cerdos Ciervo		x		x		x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	
Pomona	Porcino	R	x	x	x	x		x		x		x	x									x	x
	Bovino		x	x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x				x	
	Ciervo		x	x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x				x	
	Canino	A	x		x		x	x				x	x	x		x	x	x	x				
	Equino Hámster		x		x		x	x	x	x		x	x	x		x	x	x	x			x	
Tarassovi	Porcino	R		x	x		x	x		x											x	x	
	Bovino	A	x		x		x															x	

R = Reservorio  
A = Huésped accidental  
SNC = Sistema nervioso central

**Cuadro 10.4 Sitios de muestreo de la Zona Natural (ZN)**

Nombre del sitio	Coordenadas UTM		Número de trampas	Disposición de trampas
	N	E		
CAPA eje 6 c3 S	2262060	16508499	49	grilla 7x7
CAPA eje 6 c5 N	2261150	16507715	49	grilla 7x7
CAPA eje 6 c7 N	2260246	16506928	49	grilla 7x7
CAPA eje 6 c5 N	2259358	16506130	49	grilla 7x7
CAPA eje 8 c8 N	2266356	16504939	49	grilla 7x7
CAPA eje 8 c6 N	2259316	16508515	49	grilla 7x7
Las Palmas 1	2259316	16508515	49	grilla 7x7
Las Palmas 2	2265776	16517619	48	2 líneas
Potabilizadora 1	2270709	16510828	49	grilla 7x7
Potabilizadora 2	2270436	16510814	50	2 líneas
Potabilizadora 3	2271370	16510356	50	2 líneas
lLost1	2262430	16504046	50	lineal
Lost2	2262698	16502668	50	en "U"
Fraclost	2261457	16504120	50	lineal
Campo de Tiro	2246220	16505171	50	circular
Manglar 1	2271394	16512553	50	4 líneas
Manglar 2	2271397	16511861	50	2 líneas
Trayecto Manglar	2272920	16508984	50	2 líneas

**Cuadro 10.5 Sitios de muestreo de la Zona Natural con Influencia Antrópica (ZNIA)**

Nombre del sitio	N	E	Número de trampas	Disposición de trampas
Casa Jaime-Rancho las Huertas	2263533	16510392	50	grilla 5x10
Vivero el Delfín	2265003	16508851	49	grilla mixta
Abarrotes San Carlos	2264393	16509456	50	oportunista
Las Palmas 3	2265138	16517296	50	en "L"
Basurero Alternativo	2260035	16514865	50	oportunista
Relleno Sanitario	2251942	16509847	50	en "U"
Camino Basurero	2251244	16511101	50	2 líneas
El Chino	2249572	16500642	50	oportunista
Cuna	2251854	16500706	25	oportunista
Sagrado	2254438	16500071	49	grilla 7x7
Lucho	2253794	16500384	25	2 líneas
Caballeriza Potabilizadora	2271024	16510698	50	oportunista
Rasta	2243907	16504372	10	oportunista
Galeón	2252049	16511774	20	oportunista
Punta Morena	2256153	16514829	10	oportunista
Playa Bonita	2249909	16510075	10	oportunista
Ventanas al Mar	2254421	16513410	20	oportunista
Iguanas	2258355	16516373	10	oportunista
Mezcalito	2258355	16516373	10	oportunista
Chen río	2253889	16512991	10	oportunista
Las Fincas	2266403	16509045	50	oportunista
Golf 1	2271863	16507877	50	lineal
Golf 2	2271758	16508600	50	lineal
Playa Azul	2271990	16507388	25	oportunista
Club Náutico	2269762	16506198	25	lineal
Caleta	2263186	16502018	20	lineal
Mariposario	2262181	16501467	10	oportunista
Uvas	2260984	16501020	10	oportunista
Playa Corona	2259602	16499762	10	oportunista
Reef Club	2256452	16498360	50	oportunista
Playa Carlos and Charlies	2255929	16498362	15	lineal
Palancar	2250727	16497565	25	oportunista

Oportunista: significa que no se mantuvo un patrón, ya que las condiciones del sitio de muestreo no lo permitían, pero el espacio entre trampa y trampa fue de al menos de 8 metros y no mayor a 10 metros.

**Cuadro 10.6 Sitios de muestreo de la Zona Urbana (ZU)**

Nombre del sitio	Coordenadas UTM		Número de trampas	Disposición de trampas
	N	E		
Casa Proyecto	2265517	16504321	5	oportunista
Casa Tatiana	2267562	16505627	5	oportunista
Casa Benjamín*	2266167	16504957	5	oportunista
Hotel Edem	2268023	16505259	5	oportunista
Hard Rock	2268066	16505259	5	oportunista
Milfred	2267369	16507414	5	oportunista
Edwin	2267347	16507468	5	oportunista
Luis Ramón			5	oportunista
Baldío II	2267057	16506313	5	oportunista
Extra	2266282	16505816	5	oportunista
Mexicana	2267542	16505698	5	oportunista
Muelle Ferry	2268157	16505118	5	oportunista
Mercado	2267548	16505531	10	oportunista
Capitanía de Puerto	2268650	16505699	10	oportunista
Volkswagen	2268318	16506299	10	oportunista
Bar Cachocas	2267948	16505738	10	oportunista
Lavadoras	2267826	16505791	10	oportunista
Cebetis	2268154	16506537	10	oportunista
Vivero Aeropuerto	2267901	16507028	10	oportunista
Frente Polis	2267778	16506385	10	oportunista
Rómulo	2267209	16506289	10	oportunista
Vecindad	2267722	16505993	10	oportunista
Frente Vivero	2267901	16507028	10	oportunista
Guzmán	2267297	16506999	10	oportunista
Vivero Paez	2266659	16506875	10	oportunista
Baldío	2267152	16506466	10	oportunista
Vivero Rastro	2266090	16507329	10	lineal
Baldío III	2265603	16506578	10	oportunista
Antena	2266307	16506502	10	oportunista
Baldío IV	2265958	16506130	10	oportunista
Partenón	2265958	16506130	10	oportunista
Huerto	2265528	16505669	10	oportunista
Baldío V	2266035	16505619	10	oportunista
San Francisco	2265561	16505127	10	lineal

**Cuadro 10.6 Sitios de muestreo de la zona urbana (ZU) (cont.)**

Nombre del sitio	Coordenadas UTM		Número de trampas	Disposición de trampas
	N	E		
Jarocho	2265382	16505516	10	oportunista
Junto Selva	2264877	16505083	10	2 líneas
Lineal	2265172	16505047	10	lineal
Beisbol	2265561	16505127	10	oportunista
Cimientos	2265176	16504859	10	oportunista
Nicolas	2264805	16505082	10	oportunista
Baldío VI	2265024	16504777	10	lineal
Perros	2265323	16504581	10	oportunista
Santos	2265873	16505162	10	oportunista
Russel	2265630	16504547	10	oportunista
Vulcanizadora	2265939	16505166	10	oportunista
Golfito	2267735	16505473	10	oportunista
Casa Julio	2267017	16504479	10	oportunista
Rentadora	2267185	16504920	10	oportunista
Bicis	2267542	16505698	10	oportunista
Bomberos	2267125	16506258	10	oportunista
Casa Verde	2266852	16505826	10	oportunista
Retranca	2266862	16505181	10	lineal
Juventud	2266353	16505667	10	oportunista
Vivero Rubí	2266749	16505230	10	2 líneas
Villas Caribe	2266913	16504915	10	oportunista
Frente Chedraui			10	oportunista
Baldío VII	2266818	16504522	10	lineal
Quinta	2266808	16504194	10	lineal
Club Campestre	2266432	16505650	10	lineal
Reciclaje	2266408	16504663	10	oportunista
Pilar	2266389	16504592	10	oportunista
Cerrada	2266663	16504663	10	2 líneas
Lapalapa	2266424	16504359	10	oportunista
Just Relax	2265239	16503142	10	oportunista
Muelle Carga	2264414	16502715	10	oportunista
Control Canino	2264071	16504146	15	en "U"
Teresa	2264782	16504632	15	oportunista
DIF	2265524	16503969	15	lineal
Faro	2265166	16504240	20	lineal
Sociedad Humanitaria-Casa Sr. Ventura	2263841	16510392	35	mixto

Oportunista: significa que no se mantuvo un patrón, ya que las condiciones del sitio de muestreo no lo permitían, pero el espacio entre trampa y trampa fue de al menos 8 metros y no mayor a 10 metros.

\*Las trampas permanecieron durante 10 días en este sitio por petición del dueño de esa casa.

**Cuadro 10.7 Hembras gestantes capturadas por zona de captura, y número de fetos encontrados a la necropsia. Las hembras de la especie *O. c. cozumelae* fueron liberadas en el sitio de captura, por lo que no se obtuvo el número de fetos. Las necropsias de las hembras de especies introducidas se realizaron utilizando éter como anestésico inhalado, tal como lo permite la NOM-062-ZOO-1999**

Especie	Zona de captura			# de hembras gestantes	# de fetos
	ZN	ZNIA	ZU		
<i>Oryzomys couesi cozumelae</i>	3	1	0	4	0
<i>Rattus rattus</i>	0	1	3	4	20
<i>Mus musculus</i>	0	3	19	22	2
Total	3	5	22	30	22

\*SR: No se tomó registro del dato en 4 hembras

**Cuadro 10.8 Hembras lactantes capturadas por zona de captura, y número de crías encontradas en el caso de las hembras que anidaron en la trampa. En dichos casos, las crías de la especie de *O. c. cozumelae* fueron liberadas con sus madres en el sitio de captura. Las crías de las especies de roedores introducidas se sacrificaron utilizando éter como anestésico inhalado, tal como lo permite la NOM-062-ZOO-1999**

Especie	Zona de captura			# de hembras lactantes*	# de crías
	ZN	ZNIA	ZU		
<i>Oryzomys couesi cozumelae</i>	0	2	0	2	9**
<i>Rattus rattus</i>	0	0	3	3	0
<i>Mus musculus</i>	0	0	13	13	5***
Total	0	2	16	18	14

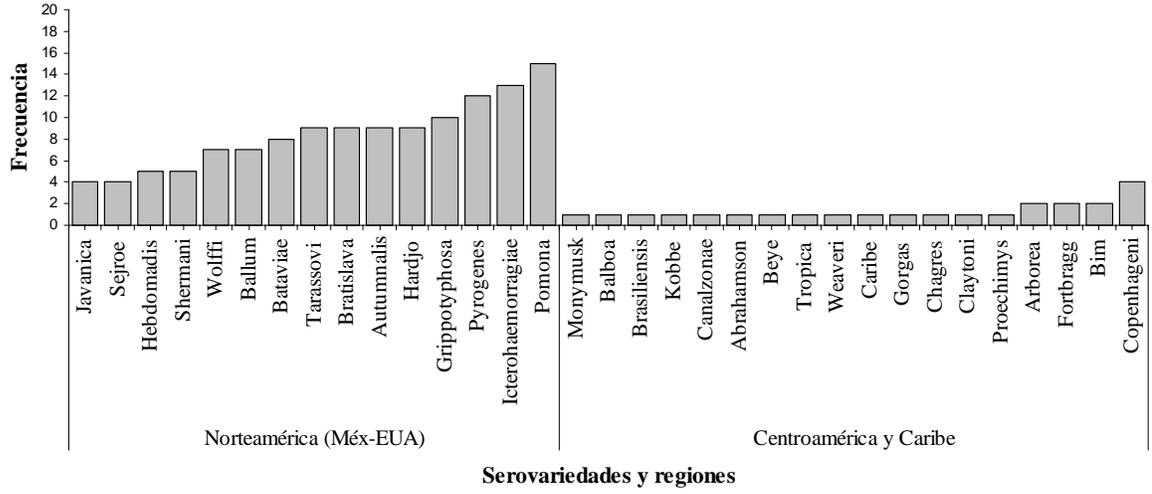
\*Esta fase reproductiva se determinó por el aumento de tamaño de las glándulas mamarias o por haber capturado a las hembras con su camada

\*\*Ambas hembras anidaron en la trampa

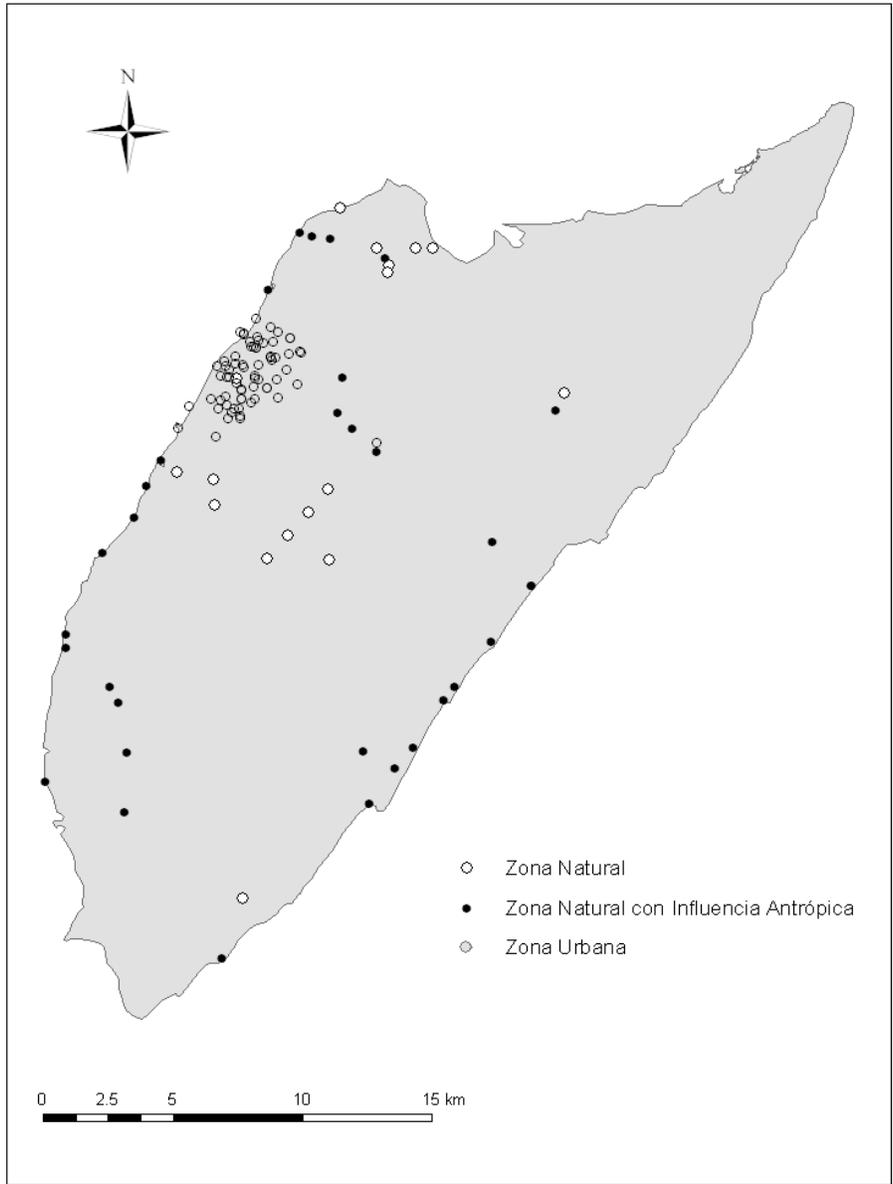
\*\*\*Solamente una hembra anido el la trampa

**Cuadro 10.9 Seroprevalencia, IC 95% y título recíproco de las serovariedades de *Leptospira* encontradas, por cada especie de roedor de la Isla Cozumel. El orden es de la serovariedad con menor a mayor prevalencia por especie de roedor. Se omite la serovariedad Hardjoprajitno por no haber habido organismos seroreactores.**

Serovariedad	Especie	Seroprevalencia %	Intervalo de confianza 95%		Título recíproco
Autumnalis	<i>Mus musculus</i>	20,5	14,2	26,8	1:43.5
	<i>Rattus rattus</i>	15.8	6.3	25.3	1:66
	<i>Oryzomys couesi</i> <i>cozumelae</i>	18.2	8.9	27.5	1:30.8
Icterohaemorrhagiae	<i>Mus musculus</i>	26.9	20	33.9	1:41.5
	<i>Rattus rattus</i>	24.6	13.4	35.7	1:37.1
	<i>Oryzomys couesi</i> <i>cozumelae</i>	1.5	0	4.5	1:100
Ballum	<i>Mus musculus</i>	49.4	41.5	57.2	1:53.6
	<i>Rattus rattus</i>	22.8	11.9	33.7	1:35.4
	<i>Oryzomys couesi</i> <i>cozumelae</i>	39.4	27.6	51.2	1:61.6
Canicola	<i>Mus musculus</i>	83.3	77.5	89.2	1:174.1
	<i>Rattus rattus</i>	14	5	23.1	1:46.7
	<i>Oryzomys couesi</i> <i>cozumelae</i>	71.2	60.3	82.1	1:87.1
Australis	<i>Mus musculus</i>	73.7	66.8	80.6	1:107.2
	<i>Rattus rattus</i>	75.4	64.3	86.6	1:282.8
	<i>Oryzomys couesi</i> <i>cozumelae</i>	66.7	55.3	78	1:70.7



**Figura 10.1** Frecuencia de los reportes de diferentes serovariedades de *Leptospira* en Norteamérica, Centroamérica y el Caribe.



**Figura 10.2 Mapa de la Isla Cozumel y las zonas de muestreo.**