



Universidad  
Nacional  
de Loja

# Universidad Nacional de Loja

## Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

### Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

#### “DETECCIÓN DE *Leptospira* spp. EN CUYES DE LA PARROQUIA CHANTACO DEL CANTÓN LOJA”

Trabajo de titulación previo a la  
obtención del título de Médica  
Veterinaria Zootecnista

**AUTORA:**

Jhuliana Yaritza Pineda Romero

**DIRECTORA:**

Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2023

## Certificación


Loja, 16 de diciembre del 2022

Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc.

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

### CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **“DETECCIÓN DE *Leptospira* spp. EN CUYES DE LA PARROQUIA CHANTACO DEL CANTÓN LOJA”**, previo a la obtención del título de **Médica Veterinaria Zootecnista**, de la autoría de la estudiante **Jhuliana Yaritza Pineda Romero**, con **cédula de identidad Nro.1105209850**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación para su respectiva sustentación y defensa.



Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc.

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

## **Autoría**

Yo, **Jhuliana Yaritza Pineda Romero**, declaro ser autora del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

**Firma:** 

**Cédula de identidad:** 1105209850

**Fecha:** 30 de junio de 2023.

**Correo electrónico:** [jhuliana.pineda@unl.edu.ec](mailto:jhuliana.pineda@unl.edu.ec)

**Teléfono:** 0991418343

**Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Titulación.**

Yo, **Jhuliana Yaritza Pineda Romero**, declaro ser autora del Trabajo de Titulación denominado: **“DETECCIÓN DE *Leptospira* spp. EN CUYES DE LA PARROQUIA CHANTACO DEL CANTÓN LOJA”**, como requisito para optar por el título de **Médica Veterinaria Zootecnista**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los treinta días del mes de junio de dos mil veintitrés.

**Firma:** 

**Autora:** Jhuliana Yaritza Pineda Romero

**Cédula:** 1105209850

**Dirección:** San Cayetano Bajo, Parroquia El Valle, Loja.

**Correo electrónico:** jhuliana.pineda@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0991418343

**DATOS COMPLEMENTARIOS:**

**Directora del Trabajo de Titulación:** Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc.

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo de investigación primeramente a Dios, mi sustento espiritual, por las bendiciones recibidas para llegar a cumplir mis propósitos, por darme fortaleza en este proceso para obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis padres Esther Romero y José Pineda, que, con su amor, trabajo, sacrificio e incondicional apoyo, me acompañaron en cada uno de mis pasos, me enseñaron a luchar, a superarme y enfrentar cada uno de mis obstáculos para lograr llegar hasta aquí.

A mis hermanas María del Cisne y Evelin, a mi hermano Alejandro y toda mi familia que ha estado presente en toda mi carrera universitaria, brindándome su apoyo y motivación cada día para poder culminar mis estudios, fueron quienes me impulsaron a cumplir mis metas.

A mis amistades, con quienes he compartido grandes experiencias de mi vida académica, por su apoyo durante el transcurso de mi formación universitaria.

***Jhuliana Yaritza Pineda Romero***

## **Agradecimiento**

Al culminar con éxitos mis estudios universitarios, presento mi más profundo agradecimiento a todas las personas que hicieron posible la finalización de la presente investigación.

Agradezco a todas las autoridades y personal que hacen la Unidad Nacional de Loja, a la Facultad de Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables y a la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por abrirme las puertas y permitirme formar parte de esta prestigiosa Institución, por la acogida en cada una de sus aulas, laboratorios y demás, así mismo agradezco infinitamente al personal docente por confiar en mí, por las enseñanzas brindadas y por los conocimientos teórico-prácticos impartidos y los cuales son fundamentales para crecer profesionalmente.

Agradezco de manera especial a mi directora de tesis, Mvz. Jhuliana Luna y docente especialista Mvz. Roberto Bustillos, por haberme guiado durante el desarrollo de esta investigación con paciencia y dedicación y que gracias a sus consejos y correcciones hoy puedo culminar este trabajo.

***Jhuliana Yaritza Pineda Romero***

## Índice de contenidos

Portada.....	i
Certificación .....	ii
Autoría .....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento .....	vi
Índice de contenidos.....	vii
Índice de tablas:.....	ix
Índice de figuras: .....	x
Índice de anexos: .....	xi
1. Título .....	1
2. Resumen .....	2
2.1. Abstract.....	3
3. Introducción .....	4
4. Marco Teórico .....	6
4.1. Leptospirosis.....	6
4.2. Etiología .....	6
4.3. Características Microbiológicas .....	7
4.4. Transmisión .....	11
4.5. Patogenia.....	12
4.6. Manifestaciones Clínicas.....	14
4.7. Lesiones .....	15
4.8. Diagnóstico.....	15
4.8.1. Prueba MAT .....	16
4.8.2. Prueba ELISA.....	17
4.8.3. Prueba PCR .....	18
4.9. Tratamiento .....	21
4.10. Resistencia a Antibióticos .....	22
4.11. Prevención.....	22
4.11.1. Vacunación.....	22
4.11.2. Control De Residuos en la Producción de Cobayos .....	23
4.11.3. Evitar Exposición a Factores De Riesgo.....	23

4.12. Epidemiología .....	24
5. Metodología .....	27
5.1. Lugar de estudio .....	27
5.2. Diseño de la investigación .....	28
5.3. Tipo de muestreo y tamaño de la muestra .....	28
5.4. Traslado e identificación de los animales.....	28
5.5. Registro de información .....	29
5.6. Eutanasia.....	29
5.7. Necropsia.....	29
5.8.1. Muestras de orina .....	29
5.8.2. Muestras de sangre .....	29
5.9. Detección de <i>Leptospira</i> patógena PCR convencional a partir de muestras de orina 30	
5.9.1. Replicación del ADN .....	31
5.9.2. Electroforesis y lectura en gel de agarosa .....	31
5.10. Diagnóstico serológico mediante MAT (aglutinación microscópica).....	31
6. Resultados .....	32
6.1. Resultados del diagnóstico serológico .....	32
7. Discusión .....	34
8. Conclusiones .....	37
9. Recomendaciones .....	38
10. Bibliografía.....	39
11. Anexos .....	51



## **Índice de tablas:**

<b>Tabla 1.</b> Serovares de referencia usados como antígenos para la prueba MAT. ....	16
<b>Tabla 2.</b> Ventajas y desventajas de los principales métodos diagnósticos de la leptospirosis. .	18
<b>Tabla 3.</b> Cebadores, muestra, sensibilidad, especificidad y técnicas de PCR para el diagnóstico de la leptospirosis por diferentes autores. ....	19
<b>Tabla 4.</b> Tamaño muestral. Parroquia Chantaco .....	28
<b>Tabla 5.</b> Reactivos y volumen utilizados en PCR.....	30

## Índice de figuras:

<b>Figura 1.</b> Clasificación de <i>Leptospira</i> de acuerdo a las especies del género.....	7
<b>Figura 2.</b> Una micrografía electrónica de barrido mejorada en color de la bacteria <i>Leptospira</i> .....	8
<b>Figura 3.</b> Arquitectura de la membrana de <i>Leptospira</i> spp.....	8
<b>Figura 4.</b> Estructura celular de espiroquetas.....	9
<b>Figura 5.</b> Leptospiras bajo el microscopio de fondo oscuro.....	10
<b>Figura 6.</b> Impregnación argéntica de <i>Leptospira</i> spp. mediante la técnica de Warthin-Starry.....	10
<b>Figura 7.</b> Presentación de la leptospirosis, de sus diferentes estados de la enfermedad. Desde el inicio de la sintomatología.....	13
<b>Figura 8.</b> Tipos de pruebas PCR.....	19
<b>Figura 9.</b> Localización de estudio: parroquia Chantaco.....	27
<b>Figura 10.</b> Resultado de electroforesis de detección molecular de <i>Leptospira</i> a partir de muestras de orina.....	32

## **Índice de anexos:**

<b>Anexo 1.</b> Compra de los animales.....	51
<b>Anexo 2.</b> Técnica de concusión.....	51
<b>Anexo 3.</b> Toma de muestras de sangre .....	52
<b>Anexo 4.</b> Toma de muestras de orina .....	52
<b>Anexo 5.</b> Muestras obtenidas de sangre y orina.....	53
<b>Anexo 6.</b> Centrifugación de las muestras de sangre .....	53
<b>Anexo 7.</b> Obtención de suero sanguíneo .....	54
<b>Anexo 8.</b> Muestras de orina para ser procesadas .....	54
<b>Anexo 9.</b> Muestras de orina en termociclador .....	55
<b>Anexo 10.</b> Proceso de PCR convencional .....	55
<b>Anexo 11.</b> Proceso de Electroforesis y resultado .....	56
<b>Anexo 12.</b> Certificado de Traducción del Resumen .....	57

## 1. Título

“DETECCIÓN DE *Leptospira* spp. EN CUYES DE LA PARROQUIA CHANTACO DEL CANTÓN LOJA”

## 2. Resumen

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica bastante compleja provocada por una bacteria perteneciente al género *Leptospira*. Su diagnóstico generalmente se realiza por métodos bacteriológicos y serológicos. Sin embargo, la aplicación de técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ha permitido el diagnóstico de forma muy específica y eficaz. El presente trabajo tiene como propósito el resaltar la importancia de realizar un monitoreo sobre la presencia de *Leptospira* patógena en cuyes debido al impacto en la salud animal y a la cercanía que tienen estos animales con el ser humano. Con esta investigación se podrá contribuir con información epidemiológica adicional sobre la leptospirosis y sugerir medidas preventivas adecuadas, que reduzcan el riesgo de transmisión en animales y hacia las personas vinculadas con su manejo. Se recogieron 82 muestras de orina de cuyes procedentes de la parroquia Chantaco (cantón Loja) para diagnóstico directo de leptospirosis mediante PCR convencional para detección del gen *hap 1*. En el presente estudio se pudo detectar la presencia de *Leptospira* spp. en 1,21% de los animales muestreados. Se detectó a un individuo eliminador de *Leptospira* patógena, confirmando que estos animales son capaces de eliminar esta bacteria a través de la orina, convirtiéndose en un riesgo potencial de contagio a otras especies cercanas.

**Palabras Clave:** *Cavia porcellus*, *Leptospira*, leptospirosis, zoonosis, PCR.

## 2.1. Abstract

Leptospirosis is a very complex zoonotic disease caused by a bacterium belonging to the genus *Leptospira*. Its diagnosis is generally done through bacteriological and serological methods. However, the application of molecular techniques such as Polymerase Chain Reaction (PCR) has enabled a very specific and efficient diagnosis. The purpose of this study aims to highlight the importance of monitoring the presence of pathogenic *Leptospira* in guinea pigs, due to animal health impacts and the proximity of these animals to humans. With this research it will be able to contribute additional epidemiological information on leptospirosis and suggest appropriate preventive measures, that decrease the risk of transmission in animals towards people associated with its management. Eighty-two urine samples were collected from guinea pigs from Chantaco parish (Loja province) through conventional PCR for a direct diagnosis of leptospirosis using the *hap 1* gene. In the present research it has detected the presence of *Leptospira* spp. in 1.21% of sampled animals. it was detected one individual eliminating pathogenic *Leptospira*, confirming that these animals are capable of eliminating this bacterium through their urine, making it a potential risk of contagion to other nearby species.

**Keywords:** *Cavia porcellus*, *Leptospira*, leptospirosis, zoonosis, PCR.

### 3. Introducción

El cuy (*Cavia porcellus*) como cualquier otra especie animal, es vulnerable a contraer enfermedades bacterianas, virales, parasitarias y/o metabólicas, que afectan negativamente la producción ocasionando serias pérdidas económicas (Morales, 2017). De estas, las enfermedades bacterianas son las que se manifiestan rápidamente y producen altos índices de morbilidad y mortalidad. Dentro de estas, la leptospirosis es una enfermedad compleja, cuyo agente etiológico es una espiroqueta delgada y móvil enrollada en un apretado espiral y con un gancho en cada extremo, perteneciente al género *Leptospira* (Brightman, 2018).

La crianza de cuyes es una de las actividades más representativas de la zona estudiada y ocupa un punto importante sobre la economía rural de la región. Los sistemas de crianza, en su mayoría de tipo familiar, involucran factores de riesgo (ausencia de un adecuado control sanitario, desconocimiento de las medidas y prácticas de bioseguridad, etc.) que pueden generar una mayor exposición y susceptibilidad frente a este tipo de enfermedades para esta especie, considerando además que el cobayo sirve de reservorio de *Leptospira* spp. (Morales, 2017).

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, de importancia y distribución mundial, presente en países desarrollados y en desarrollo. Es considerada de riesgo ocupacional, ya que muchos casos ocurren en personas que trabajan con animales o en contacto directo con el medio ambiente contaminado (Gutiérrez & Morales, 2020).

Los roedores son la principal fuente de infección porque al ser un hospedador de mantenimiento no presentan signos clínicos, pero eliminan un alto nivel de bacterias en la orina, contaminando el agua y el suelo, por lo que tienen un rol importante dentro de la cadena epidemiológica de la enfermedad (Rodríguez et al., 2014; Mori et al., 2017).

El diagnóstico de la leptospirosis es complejo y generalmente se realiza por métodos bacteriológicos y serológicos. En las últimas décadas la aplicación de técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ha permitido el diagnóstico de leptospirosis (Martin et al., 2015), al ser una técnica más sensible, específica y capaz de detectar la presencia de ADN leptospiral durante la fase aguda de la infección (Mohd Ali et al., 2018).

Como antecedentes a esta investigación; en el año 2021 en Colombia, se realizó un estudio sobre la evidencia molecular de *Leptospira interrogans* sensu stricto en *Cavia porcellus* (cuyes), en el que se tomaron 270 muestras de tejido renal en cuyes sacrificados y las cuales fueron analizadas mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional y coloración diferencial de Warthin Starry (W-S). En la evaluación de 270 muestras, 4 (1,5%) fueron positivas para PCR y una de las muestras demostró la presencia de *Leptospira* spp. bajo tinción W-S (Benavides et al., 2021).

Otro estudio realizado en 2020 para la determinación de anticuerpos contra serovares de *Leptospira* spp. en cuyes de Cajamarca – Perú; se colectaron muestras de sangre de 242 cuyes, aparentemente sanos; los sueros fueron procesados mediante la prueba de microaglutinación (MAT), considerando títulos de >1/100 como seropositivos. Se utilizaron cepas de referencia de los serovares Bratislava, Canicola, Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Pomona. Se encontraron seroprevalencias de 40.50% (98/242). Los serovares reactivos fueron Icterohaemorrhagiae (19.01%, 46/242), Canicola (16.53%, 40/242) y Pomona (8.68%, 21/144) (Gutiérrez & Morales, 2020).

Así que, la presente investigación resulta importante por el impacto que general la enfermedad en la salud animal y debido a la cercanía que tienen estos animales con el ser humano, que podría representar un factor que favorece la transmisión. Así mismo, contribuye con información valiosa para instaurar medidas preventivas y promover la realización de programas sanitarios y de bioseguridad, con el fin de mejorar los sistemas de producción y la salud de esta especie. Es así que, en el presente trabajo investigativo se plantearon los siguientes objetivos:

a) Identificar el gen *hap* 1 de *Leptospira* spp. en muestras de orina de cobayos de la parroquia Chantaco del cantón Loja.

b) Identificar los serovares y los títulos serológicos de los cobayos que eliminan *Leptospira* spp., mediante orina.



## 4. Marco Teórico

### 4.1. Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad transmisible que afecta tanto a los animales como al ser humano, causada por una infección por cualquiera de los agentes patógenos del género *Leptospira* spp. (OIE, 2021).

Afecta a más de 160 especies de animales salvajes y domésticos, los que constituyen un reservorio y fuente de infección para el ser humano. Las especies más afectadas son los roedores salvajes y animales domésticos, especialmente perros, ganado bovino, porcino, ovino y equino (Carranza et al., 2020).

La leptospirosis es más prevalente en países tropicales y subtropicales, presumiblemente porque la supervivencia de la bacteria fuera del huésped requiere condiciones húmedas y cálidas que son típicas de las áreas trópicas (Guernier et al., 2016).

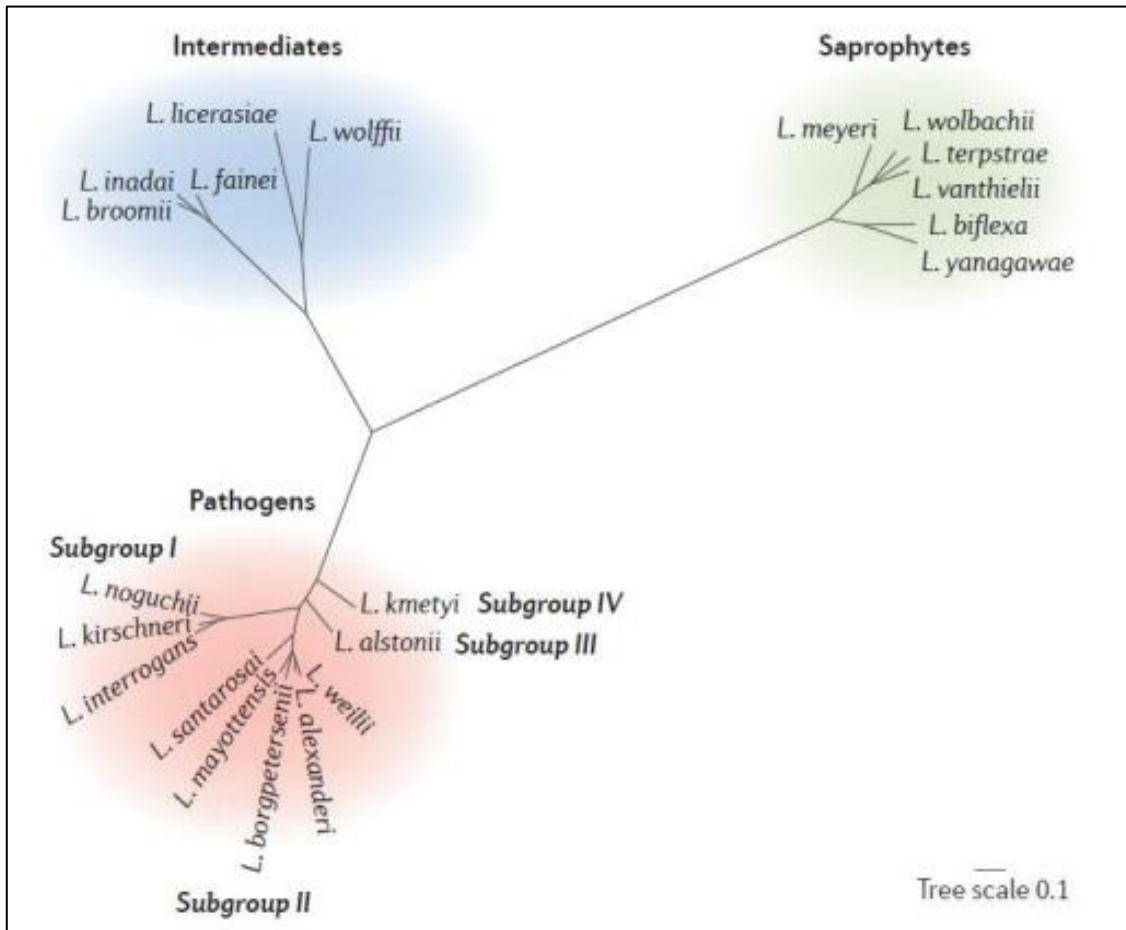
### 4.2. Etiología

El término *Leptospira* proviene del griego leptos: delgado y del latín spira: espiral, es un género de bacterias del orden de los espiroquetales (Lemus et al., 2017). Pertenecientes al filo *Spirochaetes*, familia *Leptospiraceae*. Se clasifican en tres grandes grupos: patógenas, intermedias y no patógenas o saprofitas, siendo la primera el agente etiológico de la enfermedad (Espinoza, 2014).

Los “saprófitos” son especies ambientales que se eliminan rápidamente en los animales y no son patógenos para humanos y otros animales. Los “intermedios” se han descrito tanto en humanos como en animales, pero generalmente muestran una virulencia más baja y solo causa una leve enfermedad. Las especies potencialmente mortales como *Leptospira interrogans*, que es la especie patógena dominante en todo el mundo, se clasifica dentro del grupo de "patógenos" y puede infectar a todos los mamíferos (Thibeaux et al., 2018).

La leptospirosis es una enfermedad causada por bacterias del género *Leptospira*. Estas bacterias son Gram negativas, aerobias estrictas, de forma helicoidal, flageladas y móviles. Serológicamente, hay más de 300 serovares leptospirales distintos reconocidos y estos están organizados en 30 serogrupos (OIE, 2021).

Actualmente, el género *Leptospira* está dividido en 22 especies y se conoce que diez especies son patógenas, reportándose en más de 160 especies de mamíferos en todo el mundo (Ballados-González et al., 2018).



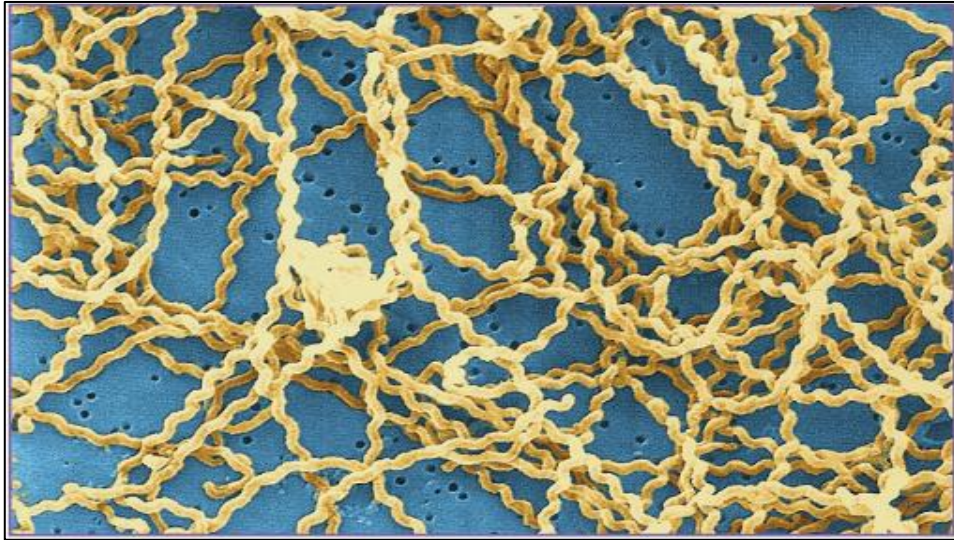
**Figura 1.** Clasificación de *Leptospira* de acuerdo a las especies del género.

**Fuente:** Picardeau (2017), Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis.

Teóricamente, cualquier *Leptospira* puede infectar a cualquier especie animal, pero solo una pequeña cantidad de serotipos serán endémicos en cualquier zona o país. Además, la leptospirosis es una enfermedad con nidalidad natural, y cada serotipo tiende a mantenerse en hospedadores de mantenimiento específicos (OIE, 2021).

### 4.3. Características Microbiológicas

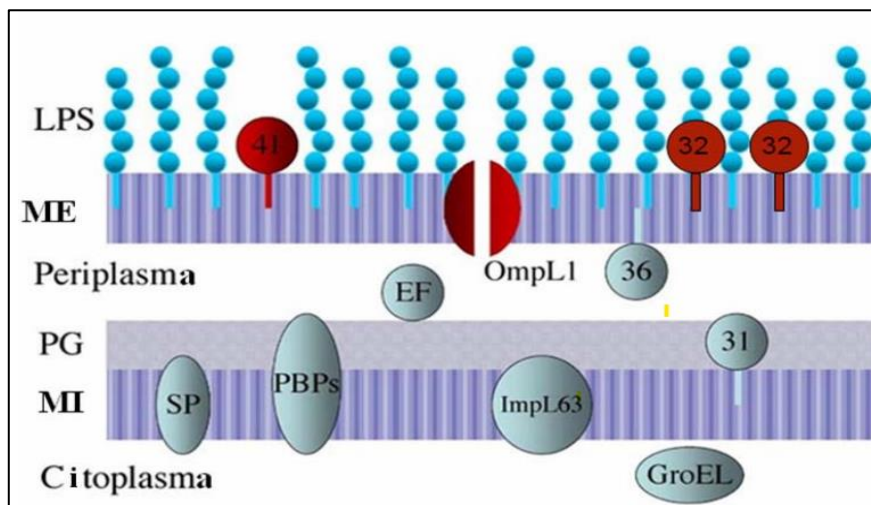
Según Brightman (2018), las leptospiras son organismos delgados y móviles de cinco a siete micras de largo. Su cuerpo tiene la forma de un apretado espiral enrollado, con un "gancho" en cada extremo (Figura 2).



**Figura 2.** Una micrografía electrónica de barrido mejorada en color de la bacteria *Leptospira*.

**Fuente:** Brightman (2018), Science Source/Science Photo Library.

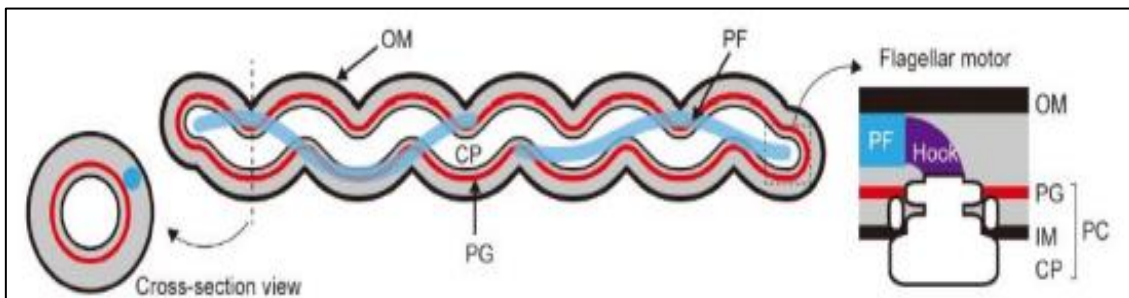
La *Leptospira* tiene una estructura de doble membrana: la membrana citoplasmática y la pared celular de peptidoglicano, ambas asociadas y recubiertas por una membrana externa. La membrana externa contiene lipopolisacáridos (LPS) altamente inmunogénicos (Figura 3), responsables de la especificidad de serovares al igual que varias lipoproteínas (LipL32, LipL41) y porinas (OmpL1, Omp85) (García et al., 2013).



**Figura 3.** Arquitectura de la membrana de *Leptospira* spp. LPS: liposacáridos, Proteínas: OmpL, LipL41, Lip32, LipL36, LipL31, ImpL63, proteínas de unión penicilina (PBPs), Proteínas de shock térmico y GroEL.

**Fuente:** Céspedes (2005), Leptospirosis : Enfermedad Zoonótica

Las leptospiras son móviles, presentan movimiento rotatorio y de flexión (Kenneth & C, 2017), su gran movilidad está dada por un axostilo, formado por dos filamentos axiales que se encuentran en un disco final del cuerpo citoplasmático, cuyo extremo libre está unido a la región media de la bacteria (Céspedes, 2005). Los flagelos de las espiroquetas actúan como citoesqueleto para determinar la helicidad del cuerpo celular, y también participan girando el cuerpo celular para la propulsión (Figura 4), éstas nadan rodando u ondulando su cuerpo celular impulsado por la rotación de los flagelos periplásmicos (FP) debajo de la membrana externa (Nakamura, 2020).

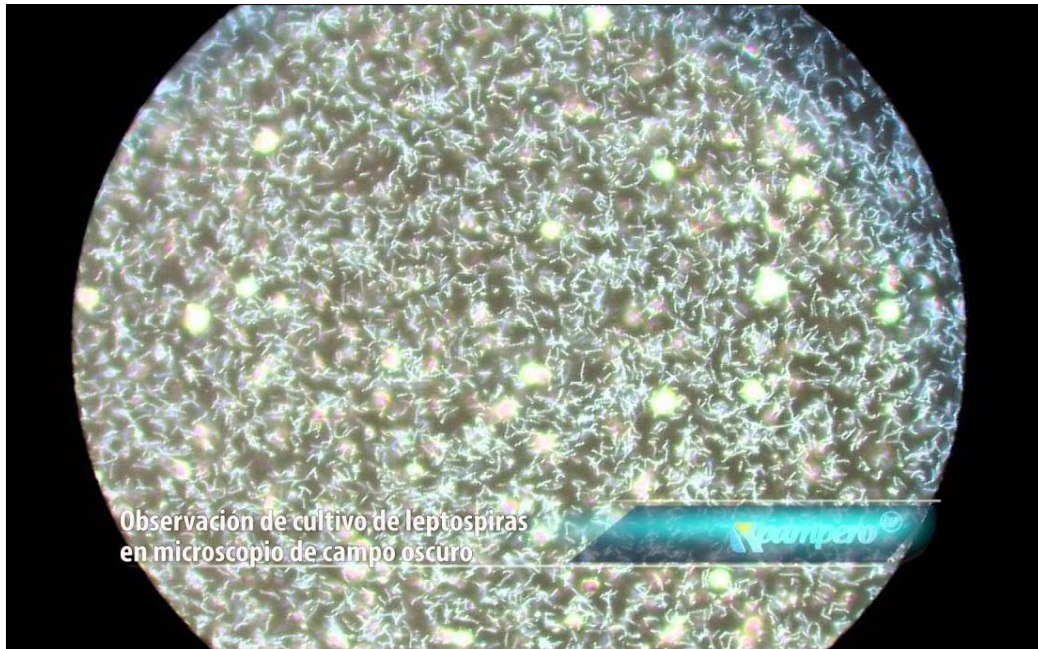


**Figura 4.** Estructura celular de espiroquetas. Esquemas de las vistas en sección transversal, longitudinal y ampliada de la estructura celular y el motor flagelar compartido por las especies de espiroquetas. Se muestra membrana externa (OM), flagelo periplásmico (PF), capa de peptidoglucano (PG), membrana interna (IM), citoplasma (CP), y el cilindro protoplásmico (PC).

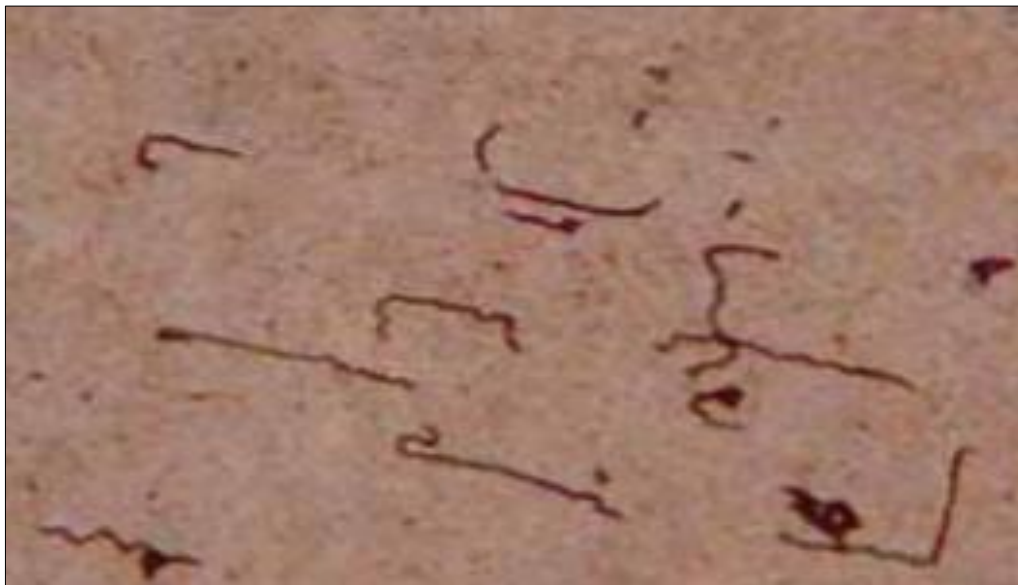
**Fuente:** Tomado y adaptado de Nakamura (2020).

Las leptospiras son organismos aeróbicos y de crecimiento lento y tienen la capacidad de alargarse de forma lateral mediante la síntesis de péptidoglucano para el crecimiento colectivo (Sanchez et al., 2022). Crecen a una temperatura óptima entre 28-30°C y en un medio con pH que oscila entre 7.2 y 7.6 (Valverde et al., 2021). Las leptospiras pueden sobrevivir en ambientes húmedos condiciones ambientales proporcionadas que el pH es casi neutro. Estas mueren rápidamente por agua salada y un pH ácido (Brightman, 2018).

Las leptospiras se pueden ver bajo el microscopio utilizando iluminación de fondo oscuro (Brightman, 2018) (figura 5), se pueden teñir con técnicas de inmunodetección e impregnación argéntica y se colorean débilmente con colorantes de anilina (figuras 6). No se visualizan con microscopio de campo brillante y tinciones habituales (García et al., 2013).



**Figura 5.** Leptospiras bajo el microscopio de fondo oscuro.  
**Fuente:** INTA, (2014)



**Figura 6.** Impregnación argéntica de *Leptospira spp.* mediante la técnica de Warthin-Starry.  
**Fuente:** García et al., (2013).

Estas bacterias mueren a los 10 segundos cuando son calentadas a 100°C y a los 10 minutos a una temperatura de 56°C. En el frío puede sobrevivir hasta 100 días a -20°C (García et al., 2013).

#### 4.4. Transmisión

Podría decirse que la leptospirosis es una enfermedad infecciosa de casi todas las especies de mamíferos, especialmente en un gran número de especies de roedores, así como la importancia de los animales domésticos como una fuente de infección para el ser humano (Adler & De la Peña, 2015). Las leptospiras patógenas se mantienen en los túbulos renales de animales portadores asintomáticos (roedores, cánidos, ganado), y se excretan a través de la orina, contaminando el ambiente, donde pueden sobrevivir durante meses (Thibeaux et al., 2018). Esta bacteria permanece viva e infectiva diferentes medios como suelo húmedo, ríos, lagos, aguas estancadas, pantanos y lodo. Se han encontrado en leche, carnes frías y algunas vísceras (Valverde et al., 2021).

La transmisión de la enfermedad se ve influenciada en regiones de climas húmedos tropicales y subtropicales y se da cuando se produce el contacto directo de las mucosas o lesiones de piel con orina, sangre, agua o tierras contaminadas con *Leptospira* spp. (Serrano et al., 2020).

Los humanos generalmente se infectan a través de la exposición indirecta con agua o suelo contaminado con orina, pero también se ha sugerido la transmisión directa por algunas especies (Guernier et al., 2016). La infección puede ocurrir de manera accidental en el trabajo, en salidas recreativas o por desastres naturales donde las aguas estancadas y contaminadas son un foco altamente contagioso (Valverde et al., 2021).

Si bien es cierto, los roedores excretan mayor carga bacteriana en la orina (hasta  $10^7$  leptospiras/ml durante más de 9 meses) (Nally et al., 2005), el volumen que pueden excretar es considerablemente menor al de los otros reservorios domésticos no roedores. Algunos estudios sugieren una participación de perros, cerdos y vacas en el ciclo de transmisión y mantenimiento de leptospirosis, dada su estrecha relación con las actividades humanas diarias (Guernier et al., 2016). La orina de los animales herbívoros se considera como la principal fuente de infección ya que tiene un pH alcalino, lo que favorece la supervivencia del germen. Un ml de orina de los mismos puede contener hasta 100 millones de leptospiras (Adler & De la Peña, 2010).

En el bovino, la transmisión de esta bacteria se produce a través de membranas mucosas, conjuntiva o por lesiones en la piel (Baquero et al., 2010). Los rumiantes tienen

gran importancia en la diseminación de la enfermedad, ya que la orina alcalina permite mayor viabilidad de estas bacterias en comparación con una orina ácida.

Las cobayas pueden contagiarse de leptospirosis cuando entran en contacto con roedores infectados, transportando y propagando la bacteria (Saul, 2019). Las principales fuentes de infección para esta especie lo constituyen la orina de animales infectados, asintomáticos y portadores; también el agua, leche, forrajes, pastos, tejidos de animales, descargas post parto y semen contaminado (Agudelo et al., 2007).

Los animales crónicamente infectados pueden ser portadores durante toda la vida y servir de reservorios de la infección para otros animales y para el ser humano. Debe considerarse el diagnóstico diferencial según las formas comunes de presentación en las diferentes especies (SENASA, 2016).

#### **4.5. Patogenia**

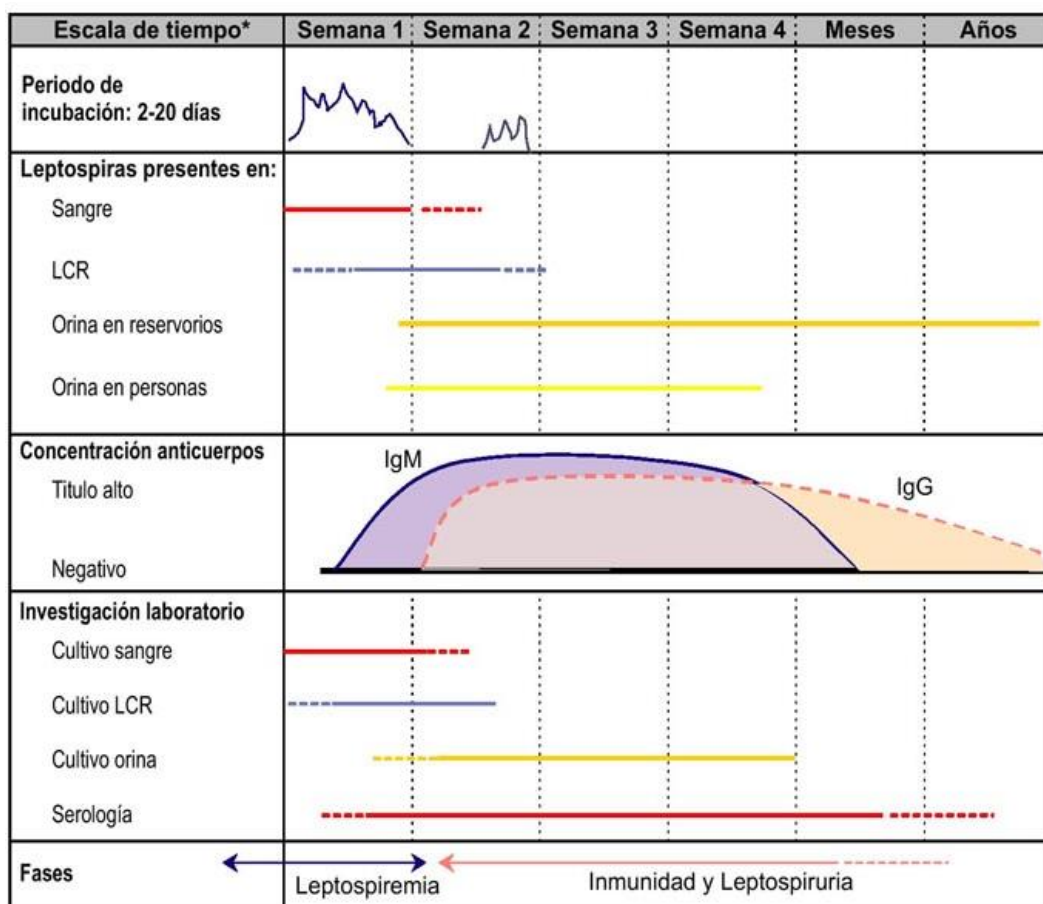
El éxito de las leptospiras como patógenos se explica por su forma espiral y motilidad endoflagelar (que les permite atravesar rápidamente tejidos conectivos y barreras), así como por su capacidad para escapar o secuestrar el sistema inmunitario del huésped (Picardeau, 2017). Además, de que la *Leptospira* puede adaptarse y resistir condiciones estresantes (Fouts et al., 2016).

La infección ocurre cuando el patógeno ingresa a un huésped a través de la mucosa o pequeñas abrasiones en la piel (Barragan et al., 2017). La espiroqueta, después de penetrar la mucosa, se disemina a través del torrente sanguíneo y produce una vasculitis infecciosa en la que se dañan las células endoteliales capilares (Monzón et al., 2019). El período de incubación es de 7 a 14 días en promedio, pudiendo oscilar de 2 a 20 días (MINSA, 2011). En tan solo 1 hora post inoculación se encuentran en sangre y diversos órganos como el cerebro. Cabe señalar que los mecanismos por los cuales atraviesa la placenta y la barrera hematoencefálica aún no están totalmente claros (Wunder et al., 2016).

La infección causa una leptospiremia prolongada, alcanzando diferentes órganos: hígado, riñón, corazón, músculo esquelético e incluso el sistema nervioso central y humor acuoso, que finaliza cuando el hospedero produce una respuesta inmune efectiva que generalmente ocurre entre la primera y segunda semana después de la exposición. La

mayoría de procesos infecciosos por *Leptospira* cursan en forma asintomática o con manifestaciones clínicas inespecíficas y autolimitadas en un plazo de cuatro a siete días (García et al., 2013). Después de la primera semana, aparecen los anticuerpos en sangre y coinciden con el desarrollo de meningitis, no encontrándose *Leptospira* en el LCR, lo cual sugiere daño inmunológico. La *Leptospira* puede persistir por semanas en el humor acuoso y ocasionalmente causa uveítis crónica o recurrente (Céspedes, 2005).

En un estudio donde se utilizaron conejillas de indias y de las cuales fueron inoculadas con *Leptospira* en piel erosionada, se detectaron leptospirosis en la sangre tan pronto como 2 h después de la infección y luego se diseminaron al hígado, pulmones y riñones de casi todos los animales dentro de 96 h (Zhang et al., 2012).



**Figura 7.** Presentación de la leptospirosis, de sus diferentes estados de la enfermedad. Desde el inicio de la sintomatología.

**Fuente:** Céspedes (2005) Leptospirosis : Enfermedad Zoonótica Reemergente

La respuesta inmunitaria, principalmente es humoral. Luego de la infección se producen inmunoglobulinas IgM e IgG específicas (figura 7), que van a evitar los síntomas clínicos post-exposición (Adler & De la Peña, 2010). En los 10 primeros días



de infección los animales producen altos niveles de IgM, y luego disminuyen progresivamente, teniendo niveles bajos hasta el final del primer mes. La IgG también aparece tempranamente, pero sus niveles más altos aparecen a las 4 semanas posteriores a la infección y persisten por largos periodos (Ballard et al., 1984).

#### **4.6. Manifestaciones Clínicas**

La leptospirosis se puede dividir en dos fases: una fase aguda cuyo inicio coincide con la infección bacteriémica y, una fase crónica que se produce mucho y afecta al aspecto reproductivo (Ellis, 1994). De las formas clínicas sintomáticas de la enfermedad, el 80-90% evoluciona en una forma anictérica benigna y 10-20% como leptospirosis grave con ictericia e insuficiencia renal (Céspedes, 2005).

En caninos, por ejemplo, la forma más diagnosticada es la subaguda en los que sus signos clínicos son más evidentes, como fiebre, anorexia, vómitos, deshidratación, letargo, dolor muscular, diarrea, vasculitis que pueden generar petequias y equimosis, su fase crónica cursa con hepatitis crónica, por lo tanto ictericia, encefalopatía hepática, pérdida de peso y abortos (L., 2005). Pacientes hepáticos presentan bajo apetito, pérdida de peso, ictericia, ascitis, encefalopatía hepática, diarrea, debido al daño vascular que se presenta en la primera fase de la enfermedad y consecuencia de la CID, pueden presentar hemorragias petequiales o equimóticas, hematemesis, epistaxis, glositis, hemorragias pulmonares (Uribe, 2016).

La infección aguda principalmente ocurre en animales jóvenes, y a medida que avanza la enfermedad, los pacientes renales presentan anorexia, pirexia (40,5-41,5 °C), letargo, conjuntivitis, depresión, deshidratación, vómitos, polidipsia poliuria, estomatitis, dolor lumbar por renomegalia, nefritis, dolor muscular, depende del estadio de la enfermedad presentan oliguria o anuria; en casos más severos presentan anemia hemolítica, hemoglobinuria, hemorragias petequiales de las membranas mucosas, ictericia, neumonía, signos de meningitis (incoordinación, salivación y rigidez muscular), septicemia; al principio puede cursar con diarreas, siendo sanguinolentas y/o amarillentas, de olor fétido, pero más tarde puede cursar con estreñimiento (Lilenbaum & Martins, 2014).

Los signos en cobayos inoculados con leptospiras por vía intraperitoneal se incluían ictericia, conjuntivitis, inapetencia, anemia, hemorragias, y albuminuria. (Adler & De la Peña, 2015).

En la mayoría de animales la leptospirosis está asociada principalmente a abortos, muerte perinatal, nacimiento de crías débiles e infertilidad (Hamer et al., 2019).

#### **4.7. Lesiones**

Las lesiones *post mortem* no son específicas de la enfermedad, por lo que no se puede realizar un diagnóstico basándose en ellas. Las lesiones poco observables dependerán del serovar implicado del órgano y especie afectada (Luna, 2019).

En un estudio, cuyes que fueron inoculados con *Leptospira* se observaron hemorragias en órganos internos, además de lesiones graves como hemorragias en pulmones, nefritis, ictericia y hematuria (Zhang et al., 2012).

El primer órgano afectado es el hígado, con un cuadro de necrosis cortical, zonas con pequeña congestión, núcleos con picnosis y cariorexis (Feraud & Abeledo, 2005), hepatomegalia (Waktol et al., 2016), palidez o de color amarillento, vesícula biliar llena, espesa y viscosa de color pardo o verde oscuro. Los riñones a menudo están edematosos en animales con signos sistémicos, estos pueden ser pálidos o contener manchas rojas o blancas/grises, bandas de tejido o cicatrices fibróticas (Sandow & Ramírez, 2005). Se observan hemorragias difusas a nivel del tejido, además de visibles hemorragias externas (hemoptisis, hematemesis, epistaxis, melenas) la nefritis intersticial y necrosis tubular aguda (Gilper & Vélez, 2020).

En hembras gestantes, se puede observar edema y necrosis en los cotiledones, edema y hemorragias en las membranas fetales (Feraud & Abeledo, 2005). En los fetos abortados se observan congestión generalizada y deposiciones líquidas (Sandow & Ramírez, 2005).

#### **4.8. Diagnóstico**

Debido a la amplia variedad de serovares de leptospiras que pueden infectar a un organismo se emplean técnicas de diagnóstico altamente específicas como es el Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Microaglutinación con Antígenos Vivos (MAT) (Bautista et al., 2019).

#### 4.8.1. Prueba MAT

La aglutinación microscópica (Microscopic Agglutination Test-MAT en inglés), se caracteriza por la reacción entre una suspensión antigénica de serogrupos de *Leptospira* con el suero del paciente, se observa aglutinación en microscopio de campo oscuro, dando el resultado a través de diluciones en forma de títulos (Aranzazu et al., 2020).

El título de punto final se define como la dilución de suero que muestra un 50% de aglutinación, dejando libres un 50% de las células en comparación con un cultivo control diluido a la mitad en solución salina tamponada con fosfato. El resultado de la prueba puede indicarse como el punto final de la dilución del suero (por ejemplo, 1/100 o 1/400) o como un título que es el inverso de la dilución del punto final del suero (por ejemplo, 100 o 400). Un título de 1/100 se considera positivo, pero dada la alta especificidad de la MAT, pueden tomarse títulos menores como indicio de exposición previa a *Leptospira*. Cuando se toma como significativo un título de 1/100 o superior, la sensibilidad de la prueba solo es del 41%, e incluso cuando el título significativo mínimo se reduce a 1/10, la sensibilidad de la prueba solo es del 67% (OIE, 2021).

MAT se considera la prueba inmunológica de referencia y detecta anticuerpos aglutinantes de clase inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina G (IgG). Sin embargo, esta prueba requiere un alto nivel de experiencia técnica y el mantenimiento de un gran panel de cultivos estándar vivos de *Leptospira* spp. patógena (Niloofa et al., 2015).

**Tabla 1.** Serovares de referencia usados como antígenos para la prueba de aglutinación microscópica (MAT).

N°	Especie	Serogrupo	Serovar	Cepa
1	<i>L. biflexa</i>	Andamana	Andamana	CH 11
2	<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
3	<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	Jez Bratislava
4	<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
5	<i>L. borgepetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus 125
6	<i>L. borgepetersenii</i>	Ballum	Ballum	S 102
7	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Van Tienen
8	<i>L. weilli</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
9	<i>L. interrogans</i>	Canícola	Canícola	Hond Utrecht IV

10	<i>L. interrogans</i>	Canícola	Canícola	Ruebush
11	<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
12	<i>L. interrogans</i>	Diasiman	Diasiman	Diasiman
13	<i>L. interrogans</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
14	<i>L. santarosai</i>	Hebdomadis	Borincana	HS 622
15	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
16	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M20
17	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Mankarso	Mankarso
18	<i>L. borgepetersenii</i>	Javanica	Javanica	Veldrat Batavia 46
19	<i>L. santarosai</i>	Mini	Georgia	LT117
20	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
21	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Saalinem
22	<i>L. santarosai</i>	Pyrogenes	Aleix	HS 616
23	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi	3705
24	<i>L. biflexa</i>	Semaranga	Patoc	Patoc 1
25	<i>L. borgepetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelicin

**Fuente:** Céspedes (2005), Leptospirosis : Enfermedad Zoonótica Reemergente

#### 4.8.2. Prueba ELISA

La prueba de ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) permite la detección de IgM e IgG específicos de *Leptospira* a partir de preparados de alguna especie patógena, mediante una reacción antígeno-anticuerpo de 5 a 7 días después del inicio de los síntomas, al final de la fase aguda y los resultados son generalmente rápidos (1 a 2 h) (Aranzazu et al., 2020).

Los ELISA que funcionan con IgM son útiles en el diagnóstico de la infección aguda. Un ELISA que funcione con todas las Ig es útil para identificar animales totalmente susceptibles, que serán adecuados para las pruebas de exposición experimental. También se han desarrollado ELISA para utilizarlos en leche de vacas concretas o en leche de tanque, con el fin de detectar anticuerpos contra el serotipo Hardjo. Esta es una prueba imperfecta y tiene una sensibilidad inferior al 50% en algunas infecciones crónicas (OIE, 2021).

Recientemente se ha desarrollado un protocolo de ELISA para la detección de anticuerpos anti-leptospira en sueros caninos, utilizando extractos proteicos de *Leptospira fainei* serovar Hurstbridge dando muy buenos resultados (Penna et al., 2017).

### 4.8.3. Prueba PCR

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), es una técnica versátil en cuanto a sus diseños y a las muestras que se pueden emplear, ha permitido el desarrollo de protocolos de diagnóstico para diversos patógenos, entre ellos, las leptospirosis; su mayor ventaja radica en que es posible detectar el ADN incluso cuando las bacterias no son viables. El éxito de esta técnica depende del paso previo de extracción y purificación de ADN, eliminando posibles contaminantes e inhibidores de la reacción, para mantener una calidad e integridad de la secuencia diana a amplificar, y poder trabajar con ADN parcialmente degradado o desnaturalizado (Hamer et al., 2019).

**Tabla 2.** Ventajas y desventajas de los principales métodos diagnósticos de la leptospirosis.

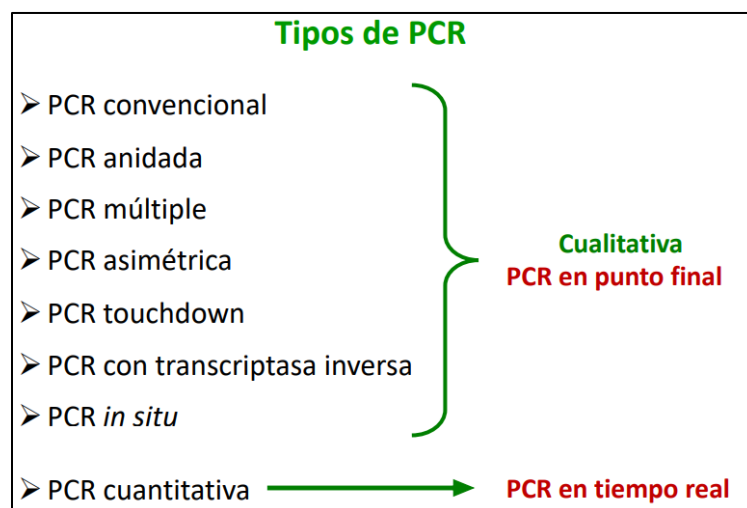
Método	Propósito	Ventajas	Desventajas
	Identificación del agente		
Aislamiento e identificación	+++	Capacidad de visualización de leptospirosis en sangre y orina y rara vez en LCR. Permite detectar ACN de <i>Leptospira</i> en orina durante las primeras semanas de infección y en tejidos <i>post-mortem</i>	Carencia de sensibilidad y especificidad
PCR	++		Incapaz de detectar el serovar infectante.
	Detección de la respuesta inmune		
MAT	++	Es “gold standard” tiene alta sensibilidad y detecta todo el grupo de anticuerpos posibles.	Es complejo y requiere del mantenimiento de las cepas para la preparación de antígenos vivos.
ELISA	+++	Detecta antígenos muy rápido, variando de 30 segundos a 4 horas.	Al ser tan específico se limita a un solo serotipo.

Clave: +++: Método recomendado. ++: Método adecuado

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, MAT: Test de aglutinación microscópica, ELISA: Enzimoimmunoanálisis de adsorción.

**Fuente:** Mora (2017), Leptospirosis: Técnicas diagnósticas y su tratamiento

Actualmente, los ensayos serológicos tienen un desempeño inconsistente y son menos útiles para el diagnóstico temprano de leptospirosis. Como alternativa, la PCR es más sensible, específica y capaz de detectar la presencia de ADN leptospiral durante la fase aguda de la infección (Mohd Ali et al., 2018).



**Figura 8.** Tipos de pruebas PCR

**Fuente:** Yuste (2019), Diagnóstico genético mediante PCR

**Tabla 3.** Cebadores, muestra, sensibilidad, especificidad y técnicas de PCR para el diagnóstico de la leptospirosis por diferentes autores.

Cebadores utilizados	Tipo de muestra	Sensibilidad	Especificidad	Técnica de PCR	Referencia
Secuencia del clon pLBEc23s derivado de una librería genómica de <i>L. interrogans</i> serovar Hardjo, tipo Hardjo-Bovis, cepa HB013.	Orina de bovinos.	10- 20 <i>Leptospira</i> por reacción. Muestras de orina y medio añadidas	No observó amplificación con otros serogrupos, bacterias (n=10) ni ADN de eucariotas.	Punto final	Van Eys et al., 1989
Elemento repetitivo del genoma del <i>L. interrogans</i> serovar Hardjo tipo Hardjo Bovis	Cepas puras	Sin datos	30 aislamientos de Hardjo-Bovis fueron positivos. 12 aislamientos de Hardjoprajitn o y Saxkoebing fueron negativos	Punto final	Woodward and Sullivan, 1991
Secuencia de inserción 1533	Orina de bovinos	Sin datos	Sin datos	Punto final	Zuerner et al., 1995
Gen rrs de la subunidad ribosomal 16S.	Cultivo, LCR, orina y sangre con agregado de cepas puras. Orina de ratones infectados experimentalmente	Limite más bajo de detección fue 1 pg de ADN. Sensibilidad analítica 10 <sup>2</sup> microorganismos.	20 serotipos de <i>Leptospira</i> fueron positivos. Otras bacterias	Punto final	Merien et al., 1992

	. Orina, LCR y sangre de humanos.		fueron negativas (n=13)		
Gen rrl, rrs y hap1	Orina de bovinos	100% S. clínica comparada con el cultivo	99% E. clínica comparada con el cultivo	Punto final	Rodriguez et al., 2001 (según Leon et al., 2012) (Branger et al., 2005)
Gen rrs de la subunidad ribosomal 16 S	Muestra de sangre de camélidos	Sin datos	Sin datos	Punto final	Doosti et al. 2012
Gen rrs de la subunidad ribosomal 16 S	Cepas puras. Muestras de sangre y orina de humanos	S. analítica: dos células de suero y 10 células en orina.	E. analítica: resultado positivo con 29 cepas de <i>Leptospira</i> y negativo con 22 de otros organismos.	Tiempo real con sonda TapMan	Smythe et al., 2002
Gen gyrB codificante de la subunidad B de la enzima ADN girasa	Suero y sangre con EDTA de paciente humanos	S. analítica: 10 copias del genoma por reacción. S. clínica 9,4%	E. clínica 99,5%	Tiempo real con sonda TaqMan	Slack et al., 2006
Gen secY	Cepas puras, suero, sangre con anticoagulante y tejidos de pacientes humanos	S. analítica: 1-1,5 copias de genoma una copia por reacción para cultivos. De 10-50 copias para muestras de sangre, suero y tejido renal.	E. analítica: todas las especies patógenas del género dieron un resultado positivo. No observaron reacción cruzada con especies saprófitas ni con otros géneros bacterianos	Tiempo real con química S Y B R green	Ahmed et al., 2009
Gen lipL32	Cepas puras. Sangre y orina de pacientes humanos	S. analítica 3 copias en sangre 10 en orina	Sin datos	Tiempo real son S Y B R green	Levett et al., 2005
Gen lipL32	Cepas puras. Sangre con anticoagulante, suero, plasma y orina de pacientes humanos	S. analítica: $1 \times 10^1$ <i>Leptospira</i> spp/ml de sangre; $1 \times 10^3$ <i>Leptospira</i> spp/ml de suero; $1 \times 10^2$ <i>Leptospira</i> spp/ml	E. analítica 100%	Tiempo real con sonda TaqMan	Stoddard et al., 2009
Gen liga ligB		S. analítica 6 <i>Leptospira</i> spp/ml con PCR punto final y 10 genomas/reacción con PCR tiempo real	E. analítica se observó amplificación con todos los serovares de <i>Leptospira</i>	Tiempo real con sonda TaqMan	Pala-niappan et al., 2005

			spp. no se observó amplificación con serovares de especies no patógenas ni con otros géneros		
Gen lig	Sangre y orina de caninos	20 copias de gen <i>lig</i> /ml sangre y 10 copias/ 3.-4 ml de orina	100%	Tiempo real con sondas FRET	Xu et al., 2014
G1-G2 (Secuencia del plasmido recombinant e pLIPs60) B64I-B64II (Secuencia del plasmido recombinant e pBIM64)	Cepas puras, muestras de suero humano	1-10 <i>Leptospira</i> spp/ml de suero con agregado artificial de <i>Leptospira</i> . La PCR (50%) más sensible que el cultivo (35%)	Utilizando ambos cebadores amplificaron todas las especies patógenas	Punto final	Gravekamp et al., 1994

**Fuente:** Martin et al., (2015), Leptospirosis mediante técnicas moleculares

#### 4. 9. Tratamiento

El objetivo primario de la terapéutica para las infecciones por leptospirosis consiste en controlar la infección antes de que ocurran daños irreversibles en hígado y riñones. Esto se puede lograr aplicando el tratamiento cuando se presentan los primeros signos, sin embargo, los primeros signos generalmente pasan desapercibidos y los animales se someten al tratamiento cuando ha desaparecido la septicemia. El objetivo secundario de la terapéutica es controlar la leptospiruria (excreción de leptospiras por la orina) de los animales “portadores”, pero no se garantiza que el animal no se reinfecte si las leptospiras se encuentran en su medio ambiente (Caputo et al., 2018).

Los antimicrobianos más utilizados son la dihidroestreptomicina, penicilina, estreptomicina, ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de tercera generación, tetraciclina, oxitetraciclina o clortetraciclina (Spickler & Leedom, 2015). El antibiótico de elección para el tratamiento del cuadro agudo es la combinación de penicilina y estreptomicina.

En un estudio experimental, utilizando jerbos, se identificó que un extracto de proteína leptospiral puede conferir protección cruzada de *Leptospira interrogans* mediante vacunación mediada por adenovirus a dichos animales; para esta investigación se usó: la proteína 1 asociada a la hemólisis (*hap1*) y la proteína 1 de la membrana externa



de *Leptospira* (OmpL1). La vacuna *hap1* mediada por adenovirus induce una protección significativa contra una *Leptospira* spp. heteróloga virulenta en jerbos, mientras que una construcción OmpL1 similar no pudo proteger a los animales. Estos datos indican que *hap1* podría ser un buen candidato para desarrollar una nueva generación de vacunas capaces de inducir una amplia protección contra la leptospirosis. Los resultados muestran que el efecto de protección cruzada dentro de las cepas patógenas de *Leptospira* spp. es compartido por la proteína *hap1* mediada por un vector de adenovirus. Este hallazgo debería facilitar el diseño y desarrollo de nuevas generaciones de vacunas (Branger et al., 2001).

#### **4.10. Resistencia a Antibióticos**

La resistencia que se ha registrado en la mayoría de serovares de *Leptospira* spp. es frente a los antibióticos usados comúnmente en los cultivos: 5-fluorouracil, fosfomicina y vancomicina (Chakraborty et al., 2010). Otros estudios informaron que algunos serovares son resistentes a antibióticos de uso clínico como neomicina, trimetoprima/sulfametoxazol y sulfadimetoxina (Wuthiekanun et al., 2015; Moreno et al., 2016). La resistencia a los aminoglucósidos es variable en serogrupos de *Leptospira* principalmente a neomicina y estreptomina (Correia et al., 2019).

#### **4.11. Prevención**

##### **4.11.1. Vacunación**

La vacunación protege y reduce/previene la colonización renal de leptospirosis y, a su vez, reduce la excreción de leptospirosis en la orina, que es una fuente importante de contaminación ambiental (Senthilkumar et al., 2021).

Según OIE (2021), “las vacunas contra la leptospirosis para uso veterinario son suspensiones de una o más cepas patógenas de *Leptospira* inactivadas de tal manera que se conserva la actividad inmunógena. La inmunidad inducida mediante la vacunación es en gran medida específica del serotipo. Una vacuna debe formularse para su uso en una especie concreta de animal y de una región geográfica concreta. Solo debe contener los serotipos y genotipos que causen problemas en la especie animal, o que se transmitan de una especie animal a otra en la región”.

Hay vacunas disponibles para bovinos, perros y cerdos. Estas vacunas están basadas en leptospirosis enteras, consisten en un panel limitado de serovares locales y

brindan una protección específica de serovariedad a corto plazo. Ha habido un alejamiento de las vacunas polivalentes baratas que producían una protección muy limitada a productos monovalentes más caros, lo que ha llevado al desarrollo de vacunas que pueden proporcionar al menos 12 meses de protección microbiológica en el ganado. Las vacunas para uso en otros animales domésticos están sujetas a una evaluación más crítica de la protección brindada que en el pasado (Hartskeerl et al., 2011).

En vacunas contra *L. interrogans* (Serovares: Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Pomona), el Código Federal de Regulaciones de Estados Unidos (CFR), aplica para estas vacunas el test de inocuidad en cobayos. Para ello, se realizó un estudio en USA, donde la Farmacopea Británica de 2013 (BP13) propone vacunar a 2 animales de la misma especie, los cuales son inyectados con el doble de la dosis máxima recomendada para dicha especie. En el caso del ensayo en cobayos, se deben vacunar 2 animales (entre 350 y 450 gramos cada uno). Cada cobayo de prueba se inyecta, vía subcutánea o intramuscular, con 2,0 mL de vacuna y posteriormente se observan por 7 días. Si no se observa alteración, signos de enfermedad o la muerte de los animales debido a la vacuna, la misma se considera inocua. En caso contrario se rechaza el lote. (ICATM, 2012).

#### **4. 11. 2. Control De Residuos en la Producción de Cobayos**

Se debe extraer las heces y restos de materia orgánica de las pozas por completo. Adicional se puede flamear el piso y paredes de las pozas vacías con un soplete por un lapso de 3 a 5 minutos, esto ayudará a eliminar todo tipo de bacterias (Huamán et al., 2019). Además, otras fuentes de infección y que deben ser eliminadas se incluyen los fetos abortados y placentas (SENASA, 2016).

#### **4. 11.3. Evitar Exposición a Factores De Riesgo**

Los programas de prevención y control se enfocan en reducir la infección en poblaciones animales reservorio (caninos y/o bovinos), limitar contacto de animales sanos con animales infectados y silvestres, implementar campañas de desratización, inmunizar y hacer uso de quimioprofilaxis en explotaciones productivas (Pacheco, 2015).

Evitar que las personas entren en contacto con agua o tierra que contenga patógenos leptospiras. Las personas que trabajan con aguas residuales deben usar ropa protectora. El uso de guantes y protección facial reducirá significativamente la incidencia

de leptospirosis entre veterinarios, trabajadores de mataderos y otras personas que trabajan en un entorno en el que la leptospirosis podría ser transmitida (Brightman, 2018).

Respecto a las fuentes de agua y las inundaciones o cualquier tipo de aguas estancadas son predisponentes para la infección por *Leptospira* spp. (Kawaguchi et al., 2008), pues la orina de animales infectados y los suelos contaminados con ella tiene contacto permanente con animales domésticos y silvestres.

La ausencia de instalaciones adecuadas en granjas productora de cobayos representa otro factor de riesgo para la transmisión, ya que no impiden el ingreso de roedores silvestres u otras especies de animales permitiendo en contacto directo con los cuyes y contaminación del agua y comida con orina y heces, permitiendo la diseminación del agente en esta población (Rodríguez et al., 2014) . Adicionalmente, las condiciones ambientales generadas por el manejo de los animales (camas con material orgánico y alimentación en el suelo), crean ambientes cálidos y húmedos, ideales para la supervivencia de la bacteria (Hurd et al., 2017).

#### **4.12. Epidemiología**

La leptospirosis es una enfermedad reemergente en el mundo con altas prevalencias en diferentes especies y con alto riesgo de infección, por eso se clasifica entre las 35 principales causas de muertes a nivel mundial, resaltando su importancia en la salud pública, ya que si este problema no se controla puede generar mortalidades humanas y animales, junto a pérdidas económicas por el incremento de la incidencia de esta enfermedad, tanto en países desarrollados como en los subdesarrollados (Valverde et al., 2021).

En humanos se estima que al año ocurren 1 030 000 casos de leptospirosis y se producen 58 900 muertes al año en todo el mundo. La incidencia de leptospirosis en América se ha estimado en 12,5 casos por 100.000 habitantes; según estudios poblacionales, cada año se presentan más de 350 000 casos nuevos de leptospirosis, sin embargo, se notifican menos de los que en realidad ocurren (Carranza et al., 2020).

Entre los últimos brotes de mayor importancia, destacan el de 1995 en Nicaragua, que tuvo una alta mortalidad y los detectados entre 1997 y 1998 en India, Singapur, Tailandia y Kazajistán. En el año 2000, destaca el brote de leptospirosis entre los participantes en el “Desafío Eco” (Eco-Challenge) en Sabah, Borneo, en el que los

eventos incluyeron vela, natación, kayak y canoa en los ríos tras una temporada de fuertes lluvias. En 2012 las inundaciones causaron importantes brotes de leptospirosis en Tailandia, Filipinas y Perú (región de Loreto) (A.M.S.E., 2016).

En Ecuador la leptospirosis, se ha estimado una media anual de 1 caso por 100.000 habitantes, entre los años 2016 al 2018 se han confirmado 363 casos, con mayor predominio en las provincias de la costa (Manabí, Esmeraldas y Los Ríos) con un porcentaje de 43% del total de provincias donde se presentaron casos. Comparando los casos presentados en el año 2019 se notificaron 137 casos, en el año 2020 se notificaron 75 casos. En el año 2021 se notificaron 69 casos a nivel nacional. Hasta la semana 51 del año 2022 se notificaron 134 casos de *Leptospira* confirmados a nivel nacional. En lo que va del año 2023 se han reportado 65 diagnósticos de leptospirosis, y presentándose dos personas fallecidas por la enfermedad en todo el país (MSP, 2023).

Se han obtenido mayores prevalencias en el serovar icterohaemorrhagiae, que tiene a los roedores como hospederos definitivos. Diferentes estudios han encontrado que las prevalencias en las diferentes poblaciones estudiadas son muy variables, en el hombre van del 6% al 47%, en perros del 12% al 41%, en roedores del 12.5 % al 82%, en bovinos del 41 al 60 %, en cerdos del 10.3% al 25.7% y en animales silvestres como los primates no humanos se encontró una prevalencia del 23% (Alarcón et al., 2014).

En perros y cerdos alrededor del mundo las frecuencias de infección son determinadas por métodos moleculares variando según la especie, así por ejemplo en caninos existen reportes desde 3.7% en Colombia (Romero et al., 2013), 7% en Irlanda (Rojas et al., 2010), 8.2% en Estados Unidos (Harkin et al., 2003), hasta 10.6% en Brasil (Miotto et al., 2018); mientras que en cerdos, se posee información proveniente de una comunidad rural del Ecuador, donde mediante la PCR del gen 16S se logró identificar excreción de leptospirosis patógenas en un 21.1% de cerdos (Barragan et al., 2016).

Otro estudio realizado en Ecuador, en la ciudad de Manabí (2015); se tomaron muestras de orina de 30 cerdos y 26 vacas del matadero, todas analizadas por PCR convencional y a tiempo real. El 82% de las muestras (46/56) presentó una señal de amplificación en la PCR en tiempo real con los cebadores AB/CD. Solo el 38% (21/56) de las muestras mostró bandas correspondientes en la reamplificación en PCR convencional. Una vez secuenciados los amplicones de estas 21 muestras, el 17.9% (10/56) tuvo homología con *L. borgpetersenii* (7 muestras), *L. wolffii* (2 muestras), *L.*

*interrogans* (1 muestra). Además, se procesaron 80 muestras de riñones de rata capturadas dentro del cantón Portoviejo, de éstas, el 46% de las muestras (37/80) presentaron una señal de amplificación en la PCR en tiempo real con los cebadores AB/CD. Solo el 23% (18/80) de las muestras presentaron bandas correspondientes en la reamplificación con PCR convencional. Una vez secuenciados los amplicones, únicamente el 8.8% (7/80) mostraron secuencias homólogas a *Leptospira*. La secuenciación permitió identificar a *L. borgpetersenii* (4 muestras), *L. noguchii* (2 muestras) y *L. wolffii* (1 muestra) (Sosa, 2015).

Dentro de la amazonia peruana solo se posee evidencia, basada en la PCR, de la presencia de *Leptospira* en orina o riñones de roedores (20%), marsupiales (39%) y murciélagos (35%) (Bunnell et al., 2000).

Las prevalencias de *Leptospira* spp. en cuyes de crianza comercial en Lima y Junín es de 30.6 y 38.4%, respectivamente (Gutiérrez & Morales, 2020); en Ecuador no existen reportes acerca de las poblaciones de cobayos afectados por la infección a causa de *Leptospira* spp. patógena.

## 5. Metodología

### 5.1. Lugar de estudio

La parroquia rural de Chantaco perteneciente al cantón Loja, está ubicada a 30 Km de la ciudad de Loja, entre los cerros Huaynapamba al Norte, Cutishapa al occidente, Matanerro (San Juan) al Nor oriente y al Sur Loma Blanca, por lo que se la considera una de las parroquias con una topografía muy accidentada y de difícil acceso. Está comprometida en la parte alta de la hoya del Jubones y la cuenca del Catamayo, su población es en su mayoría mestiza. Limita al Norte con la parroquia Chuquiribamba; al Sur con la parroquia Taquil; al Este con la parroquia Santiago; y, al Oeste con el Cantón Catamayo. La Parroquia Chantaco tiene una extensión de 138 km<sup>2</sup> y se encuentra a una altura de 2.120 m.s.n.m., posee un clima templado sub-húmedo con una temperatura media de 15°C y una precipitación de 680 mm (Ogoño, 2010).



**Figura 9.** Localización de estudio: parroquia Chantaco.

**Fuente:** Google Maps.

La producción de cuyes en esta zona es de importancia para la reactivación de la economía de la parroquia y así mejorar los sistemas de producción tradicionales por sistemas de producción más tecnificados orientados a mejorar la calidad de vida. Esta actividad es desarrollada por varios moradores de la parroquia y esta consiste en que después de dos meses y medio a tres meses de alimentación, desparasitación y cuidado, el cuy está listo para el faenamiento, se lo limpia, se empaca y sale a la venta (Diaz, 2021).

## 5.2. Diseño de la investigación

La presente investigación se realizó en el periodo marzo-septiembre del 2022 bajo un diseño de estudio de tipo observacional descriptivo y de corte transversal en el que a través del análisis de muestras de orina y sangre de animales mediante PCR convencional y serología se estimó la frecuencia de eliminación de leptospiras, así como los serovares presentes en animales eliminadores, respectivamente.

## 5.3. Tipo de muestreo y tamaño de la muestra

El tipo de muestreo que se aplicó para esta investigación es de tipo no probabilístico, es decir por conveniencia, ya que no hubo un marco muestral disponible por parte de las autoridades sanitarias de la zona. La investigación se desarrolló en dos fases: una de campo y otra de laboratorio.

En la fase de campo se recorrió los diferentes sectores de la parroquia Chantaco para identificar los distintos predios, cuyos puntos geográficos fueron georreferenciados; y en los cuales se dispuso a la compra de los animales, adquiriendo de entre 1 a 4 cuyes por predio, de acuerdo al tamaño del mismo. Se incluyeron en el estudio animales de edades entre 8 a 16 semanas, con pesos por debajo de los 1 Kg, sin distinción de sexo ni linaje. Al finalizar se obtuvo una cantidad de 82 cuyes de 50 predios diferentes, tal como se detalla en la tabla 4.

**Tabla 4.** Tamaño muestral. Parroquia Chantaco

<b>Tamaño de la UPA</b>	<b>Predios</b>	<b>Cantidad de cuyes</b>
<b>1 – 50 cuyes</b>	25	23
<b>51 – 100 cuyes</b>	14	27
<b>101 – 200 cuyes</b>	5	14
<b>201 – 300 cuyes</b>	4	10
<b>301-400 cuyes</b>	2	8
<b>Total</b>	50	82

## 5.4. Traslado e identificación de los animales

Los animales adquiridos fueron trasladados desde la parroquia Chantaco hasta la sala de necropsias de la Carrera de Medicina Veterinaria de la UNL en la ciudad de Loja, se dejó alimento (forraje) en cada una de las cajas, y se esperó al siguiente día para realizar la necropsia correspondiente y extraer las muestras de sangre y orina.

Una vez que los cuyes ingresaron a la sala de necropsias, se realizó la identificación del animal mediante la asignación de un número o código.

### **5.5. Registro de información**

Se realizó un registro para ordenar la información de cada animal muestreado, en donde se anotó datos como el sexo, peso y edad.

### **5.6. Eutanasia**

La eutanasia fue por concusión. Con una mano se sujetó al animal de las patas y con la otra se generó un golpe firme y certero en el cráneo con un objeto alargado, sin filo y macizo, después se confirmó la muerte de cada animal. Esta técnica se realiza en roedores considerando que el peso de los animales sea menos de 1kg (1000g), por encima de este peso se requiere una habilidad considerable y a veces una gran fuerza para realizarlo de manera eficaz (Close et al., 1997).

Luego se realizó la toma de muestras de sangre y seguidamente la exanguinación del animal.

### **5.7. Necropsia**

Para la necropsia, se colocó al animal en decúbito dorsal y se siguió el procedimiento recomendado por Gagea & Craig (2012), una vez expuesta la vejiga se procedió a la toma de muestras correspondiente.

### **5.8. Toma y conservación de muestras**

#### **5.8.1. Muestras de orina**

Se utilizó una jeringa de 3 ml para tomar las muestras de orina por cistocentesis, y se colocaron las muestras en tubos eppendorf previamente autoclavados y se rotuló con el número correspondiente de cada animal para luego ser ubicadas en gradillas dentro de una nevera térmica portátil con un gel refrigerante. Al finalizar, las muestras se almacenaron a una temperatura de -20°C hasta que fueron procesadas para el diagnóstico por PCR convencional.

#### **5.8.2. Muestras de sangre**

La toma de muestras de sangre para serología se realizó por punción cardiaca con una jeringa una vez que el animal se encontraba inconsciente, obteniendo un promedio de 3 a 5 ml de sangre en tubos vacutainer sin anticoagulante, estos fueron rotulados con el código de animal correspondiente, en el laboratorio se centrifugaron las muestras



sanguíneas durante 10 min a 1.500 g. Luego con ayuda de una pipeta se recolectó el suero sanguíneo y se depositó en tubos eppendorf. Los sueros obtenidos se congelaron a -20°C hasta su procesamiento para el diagnóstico de serología MAT.

### 5.9. Detección de *Leptospira* patógena PCR convencional a partir de muestras de orina

En el laboratorio las muestras fueron sometidas a un proceso de estabilización y concentración siguiendo el protocolo establecido por Stoddard (2013) que consistió en lavado con tampón fosfato salino (PBS), una vez estabilizadas las muestras fueron conservadas a -20°C.

Las muestras de orina, estabilizadas en PBS fueron sometidas a un protocolo de extracción descrito por Matamala (2018) el cual consistió en utilizar 500 µl de buffer de lisis que contiene EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), SDS (sodio dodecil sulfato), TRIS (hidroximetil amino metano) y ClNa (cloruro de sodio) y 5 µl de proteinasa K y sometidas a una incubación por una hora a 56°C con la ayuda de un termobloque, después de ese tiempo se aplicó etanol al 100% para provocar precipitación del ADN.

El material genético obtenido a partir de las muestras de orina fue analizado mediante PCR convencional para determinar la presencia o ausencia del gen *hap1* de 262 pb, perteneciente a *Leptospira* patógena (reverse primer “TGTTGGGGAAATCATACGAAC”; forward primer “GCAAGCATTACCGCTTGTGG” (Branger et al., 2005). Los reactivos para cada reacción de PCR se detallan en la siguiente tabla:

**Tabla 5.** Reactivos y volumen utilizados en PCR

<b>Reactivo</b>	<b>Volumen 1x</b>
Buffer	2,50
Primers	1,25
Reverse	1,25
Cloruro de magnesio	1,00
DNTPs	0,50
Agua de PCR	16,40
Taq polimerasa	0,10
ADN	2,00
<b>Volumen final</b>	<b>25,00</b>

### **5.9.1. Replicación del ADN**

La amplificación de PCR consistió en un ciclo inicial de 5 min a 95°C seguida de 45 ciclos de 15 seg a 94°C, 35 seg a 56°C y 40 seg a 72°C; la extensión final fue realizada durante 10 min a 72°C.

### **5.9.2. Electroforesis y lectura en gel de agarosa**

Los productos de PCR fueron cargados en gel de agarosa al 1,5% teñido con SYBR Safe y cargados con Buffer de carga 6X y sometidos a 100 Voltios por 40 minutos.

Así pues, las 82 muestras de ADN se colocaron en cada pocillo del gel, en este se agregó una muestra de control positiva con ADN de *Leptospira*, además de un patrón de peso molecular (262 pares de bases). Seguidamente se conectó la electroforesis a la corriente eléctrica hasta que el colorante del buffer de siembra migró lo suficiente del polo negativo al polo positivo. Se apagó la fuente y se colocó el gel sobre un transiluminador de luz UV para calcular la altura a la que corrieron las bandas de ADN.

Para la lectura se comparó la banda del patrón de peso molecular con las bandas amplificadas de las muestras.

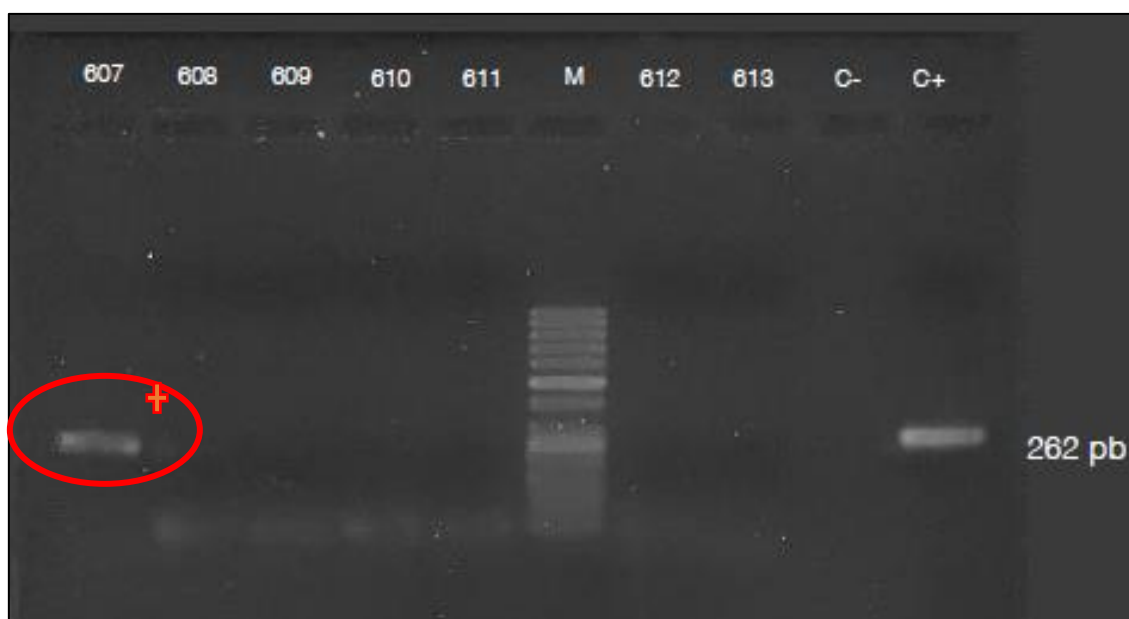
### **5.10. Diagnóstico serológico mediante MAT (aglutinación microscópica)**

Los animales con resultado PCR positivos fueron seleccionados para registrar el resultado de la serología mediante la prueba de referencia para diagnóstico (MAT).

Para el análisis de laboratorio mediante aglutinación microscópica (MAT), se usó un panel de siete serovares de *Leptospira interrogans* (Sejroe, Canicola, Hardjo, Bataviac, Wolffii, Pomona) y *Leptospira borgpetersenii* (Tarassovi). Se consideraron muestras positivas aquellas que presentaron aglutinación en un punto de corte de 1/50 y se realizaron diluciones dobles hasta una titulación de 1/1600. La observación de la reacción de aglutinación se realizó en microscopio de campo oscuro y en caso de coaglutinaciones se había considerado tomar como positivo el serovar con la titulación más alta (OIE, 2021).

## 6. Resultados

Luego del análisis mediante PCR convencional de las 82 muestras de orina obtenidas, se obtuvo los siguientes resultados:



**Figura 10.** Resultado de electroforesis de detección molecular de *Leptospira* a partir de muestras de orina.

Se muestra un gel de agarosa con la amplificación de 1 cobayo infectado con *Leptospira* spp. (círculo rojo). La banda corresponde a un fragmento del gen *hap 1* (262 pares de bases). Se utilizó marcador de peso molecular de 262 pares de bases. Adicionalmente, se utilizó un control positivo (C+) y un control negativo (C-) para todas las reacciones.

Se obtuvo solamente un animal positivo frente al diagnóstico por PCR; se trata de un cobayo macho de 12 semanas de edad, con un peso de 729.5g, asignado con el código n° 10 para la realización de este estudio. Dicho animal se obtuvo del galpón G-09, visitado en el sector Cañaro Alto de la parroquia Chantaco, cuyo sistema de crianza se basa en familiar-comercial, el predio del que procede el animal tenía antecedentes de abortos, las instalaciones de los cuyes consistían de pozas y jaulas, y la alimentación era mixta y les suministraban agua potable, tenían cercanía con otros animales como perros y roedores. Dentro del predio se realizaba el control de roedores usando el producto químico Ratifin.

### 6.1. Resultados del diagnóstico serológico

Frente al diagnóstico de serología (MAT) del suero sanguíneo, no se obtuvieron resultados positivos en ninguna de las muestras a los 7 serovares de: *Leptospira interrogans* (Sejroe, Canicola, Hardjo, Bataviac, Wolffii, Pomona) y *Leptospira borgpetersenii* (Tarassovi) que fueron usados en este estudio, de igual manera en el

animal con resultado positivo a PCR convencional, no se pudieron encontrar anticuerpos presentes a ninguno de los serovares.

## 7. Discusión

El resultado positivo a PCR, producto de esta investigación, sugiere que el individuo tenía la capacidad de eliminar *Leptospira* patógena en la orina al medio.

Sin embargo, en la muestra de suero sanguíneo de este animal no se pudo detectar anticuerpos específicos; esto puede deberse a que el individuo se encontraba en fase terminal de una infección por *Leptospira* o que el serogrupo de la cepa infectante no se encontraba representado en el panel de referencia usado en la prueba MAT (Tamara et al., 2018). Quizás, si se aumentaba el panel podría aumentar la posibilidad de resultados positivos en serología.

En casos agudos, los anticuerpos van a estar elevados, pero ya en casos crónicos los anticuerpos tienden a disminuir a niveles basales (Medrano et al., 2011).

En este estudio no fue posible determinar si se trató de una infección aguda o crónica, que mediante serología podría interpretarse gracias a la toma de muestras de sueros pareados. Los animales portadores con infecciones crónicas tienen la capacidad de eliminar leptospiros en la orina por periodos prolongados y a menudo son asintomáticos (Heredia & Chambers, 2005).

Diversos estudios evidencian altas prevalencias de infección por *Leptospira* spp. en animales domésticos y en roedores, incluyendo al cobayo. Esta y otras especies domésticas (gatos, perros, cerdos, bovinos y equinos) son consideradas como una fuente importante de infección y transmisión de esta infección a los humanos, el mantenimiento de los ciclos de infección en huéspedes y la contaminación del ambiente. (Monroy et al., 2020).

En el presente estudio se pudo detectar la presencia de *Leptospira* spp. en un 1,21% (1/82) de los animales. En Brasil, Gressler (2010) y colaboradores, llevaron a cabo un estudio serológico en 5 cuyes (*Cavia aperea*) capturados en el campus de la Universidad Federal de Santa Maria; los serovares de *Leptospira interrogans* estudiados fueron: Bratislava, Butembo, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona, y Wolffi. Como resultado se obtuvo que 4 de los 5 cuyes evaluados presentaban infección mixta por los serovares de *L. interrogans* con títulos de 1/100. Dos roedores eran positivos serológicamente a Hardjo y Butembo y los otros a Hardjo y Bratislava. Sin embargo, los animales no presentaban signos clínicos de la enfermedad (Gressler et al., 2010).

En 2020, un estudio realizado en Cajabamba-Perú, reportó una seroprevalencia de 40,50% de anticuerpos contra *Leptospira* spp. mediante la prueba de microaglutinación (MAT), identificando los serovares Icterohaemorrhagiae 19,01%, Canicola 16,53%, y Pomona 8,68% (Gutiérrez & Morales, 2020)

En Colombia en 2021, en el municipio de Pasto Nariño, se reportó que el 1,5% de las muestras fueron positivas para PCR (Benavides et al., 2021), demostrando de esta manera la presencia del agente patógeno en esta especie.

Existen escasos estudios sobre leptospirosis en cuyes mediante PCR, y la mayoría de los reportes son de tipo experimental, en los que se ha usado esta especie como biomodelo para evaluar la conducta de leptospiras en el organismo, establecer rutas de entrada, lesiones causadas en órganos blanco (hígado, riñón y pulmón) y evaluación de la respuesta inmunitaria mediante la inoculación de la bacteria a diferentes dosis; encontrando distintos hallazgos dependiendo de la ruta de inoculaciones y leptospiremia que se haya causado; dichos estudios comprenden como una alternativa de investigar la patogenia de la enfermedad (Zhang et al., 2012; Benavides et al., 2021).

La importancia de las infecciones accidentales viene determinada por la posibilidad que proporcionen las condiciones sociales, la gestión, y factores ambientales para el contacto y transmisión de *Leptospira* entre especies. Al igual que en los seres humanos, las infecciones son más comunes en climas cálidos y húmedos, el mal control de roedores y los sistemas de producción de animales domésticos mixtos permiten la contaminación ambiental con una amplia gama de cepas de *Leptospira*. La transmisión sexual también es importante en la transmisión dentro de las especies (William, 2015).

La dificultad de eliminación de roedores en los distintos sectores de la parroquia Chantaco, se ha convertido probablemente en una de las causas principales para la propagación de la enfermedad, esto debido a las características del sistema de crianza e incorrectas instalaciones que favorecen el ingreso de roedores externos, el contacto con ellos aumenta el riesgo de mordeduras; además se permite la contaminación de agua y alimento.

El haber detectado un animal eliminador de *Leptospira*, resulta de importancia por el simple hecho de que esta tenía la capacidad de transmitir la enfermedad, convirtiéndose en un riesgo potencial de contagio para otros organismos debido a la cercanía que tenía con otros animales y el ser humano. Con esta revelación se puede evaluar al resto de

animales de donde se extrajo al individuo positivo a *Leptospira* y estudiarlos en busca de más casos positivos; y sienta precedentes para la búsqueda de casos en seres humanos relacionados con el manejo de la especie en la zona de estudio.

## 8. Conclusiones

- El diagnóstico de PCR basado en el gen *hap 1* permitió identificar un animal eliminador de *Leptospira* patógena (1,21%) en la parroquia Chantaco del cantón Loja.
- En la prueba MAT, no hubo seropositividad con los serovares utilizados para este estudio en las granjas de cuyes analizadas.
- La prueba de PCR resulta un excelente complemento de la prueba de MAT en la confirmación de casos sospechosos o probables y permite diagnosticar con mayor especificidad a los portadores de la bacteria.
- El hallazgo de este estudio contribuye al conocimiento de la epidemiología de leptospirosis en Ecuador al tratarse del primer reporte de infección por *Leptospira* en cobayos.



## **9. Recomendaciones**

- Se recomienda que la parroquia Chantaco mantenga una correcta sanidad dentro de sus producciones y en sus hogares como es el control intensivo de roedores, prevención del acceso a aguas contaminadas, prevención mediante vacunación a los animales, etc.
- Realizar más estudios sobre leptospirosis haciendo uso de métodos moleculares de detección en esta especie y en otras zonas geográficas para determinar la distribución de la enfermedad a nivel nacional.
- Debido a la importancia sobre el monitoreo de leptospirosis a nivel nacional, se recomienda realizar este tipo de investigaciones, enfocadas en prevenir la enfermedad en el ser humano en la región o país.

## 10. Bibliografía

- A.M.S.E. (2016). Leptospirosis - Epidemiología y situación mundial. In *Asociación de Médicos de Sanidad Exterior*. <https://www.amse.es/informacion-epidemiologica/167-leptospirosis-epidemiologia-y-situacion-mundial>
- Adler, B., & De la Peña, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3–4), 287–296. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2009.03.012>
- Adler, B., & De la Peña, A. (2015). History of leptospirosis and leptospira. In *Current Topics in Microbiology and Immunology* (Vol. 387). [https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_1)
- Agudelo, P., Restrepo, B., & Arboleda, M. (2007). Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. *Cadernos de Saúde Pública*, 23(9), 2094–2102. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2007000900017>
- Alarcón, J., Romani, F., Tejana, R., Wong, P., & Cespedes, M. (2014). *Leptospirosis seroprevalence and associated features in rice farmers of tropical region of Peru* (pp. 195–203). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25123855/>
- Aranzazu, A., Henao, L., & Ortiz, D. (2020). *Leptospirosis en pediatría, un diagnóstico a tener en cuenta*. 37(6), 728–738. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v37n6/0716-1018-rci-37-06-0728.pdf>
- Ballados-González, G. G., Sánchez-Montes, S., Romero-Salas, D., Colunga Salas, P., Gutiérrez-Molina, R., León-Paniagua, L., Becker, I., Méndez-Ojeda, M. L., Barrientos-Salcedo, C., Serna-Lagunes, R., & Cruz-Romero, A. (2018). Detection of pathogenic *Leptospira* species associated with phyllostomid bats (Mammalia: Chiroptera) from Veracruz, Mexico. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(3), 773–781. <https://doi.org/10.1111/tbed.12802>
- Ballard, S. A., Adler, B., Millar, B. D., Chappel, R. J., Jones, R. T., & Faine, S. (1984). The immunoglobulin response of swine following experimental infection with leptospira interrogans serovar pomona. *Zentralblatt Für Bakteriologie, Mikrobiologie Und Hygiene. 1. Abt. Originale. A, Medizinische Mikrobiologie, Infektionskrankheiten Und Parasitologie*, 256(4), 510–517. [https://doi.org/10.1016/S0174-3031\(84\)80027-X](https://doi.org/10.1016/S0174-3031(84)80027-X)

- Barragan, V., Chiriboga, J., Miller, E., Olivas, S., Birdsell, D., Hepp, C., Hornstra, H., Schupp, J. M., Morales, M., Gonzalez, M., Reyes, S., De La Cruz, C., Keim, P., Hartskeerl, R., Trueba, G., & Pearson, T. (2016). *High Leptospira Diversity in Animals and Humans Complicates the Search for Common Reservoirs of Human Disease in Rural Ecuador*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004990>
- Barragan, V., Nieto, N., Keim, P., & Pearson, T. (2017). Meta-analysis to estimate the load of *Leptospira* excreted in urine: Beyond rats as important sources of transmission in low-income rural communities. *BMC Research Notes*, *10*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2384-4>
- Bautista, T., Bulla, C., López, B., Díaz, A., & Pulido, M. (2019). Leptospirosis : enfermedad de importancia en salud pública Leptospirosis : a disease of importance in public health . Leptospirosis : enfermedad de importancia en salud pública Leptospirosis : a disease of importance in public health . *Revista Colombiana de Ciencia Animal RECIA*, *11*, 727. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=)
- Benavides, B., Cisneros-López, H. D., & Peláez-Sánchez, R. G. (2021, March). Evidencia molecular de *Leptospira interrogans sensu stricto* en *Cavia porcellus* (cuyes) destinados para el consumo humano en el municipio de Pasto, Nariño. *Universidad y Salud*, *24*(1), 55–64. <https://doi.org/10.22267/rus.222401.258>
- Branger, C., Blanchard, B., Fillonneau, C., Suard, I., Aviat, F., Chevallier, B., & André-Fontaine, G. (2005). Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic *Leptospira* based on the gene *hap1* encoding the hemolysis-associated protein-1. *FEMS Microbiology Letters*, *243*(2), 437–445. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.01.007>
- Branger, C., Sonrier, C., Chatrenet, B., Klonjowski, B., Ruvoen-Clouet, N., Aubert, A., André-Fontaine, G., & Eloit, M. (2001). Identification of the hemolysis-associated protein 1 as a cross-protective immunogen of *Leptospira interrogans* by adenovirus-mediated vaccination. *Infection and Immunity*, *69*(11), 6831–6838. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.11.6831-6838.2001>
- Brightman, C. (2018). Leptospirosis: a leisure and occupational hazard. *Trends in Urology & Men's Health*, *9*(1), 29–31. <https://doi.org/10.1002/tre.619>



- Clinics of North America. Food Animal Practice*, 10(3), 463–478.  
[https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30532-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30532-6)
- Espinoza, L. (2014). Leptospirosis. Una de las mayores zoonosis en el ambiente. *OIRSA Programa de Control y Erradicación de Enfermedades*, 21.  
<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2014/2013-CHA-Leptospirosis-HON-L-Espinoza-1.pdf>
- Feraud, D., & Abeledo, M. (2005). Primer reporte en Cuba de *Leptospira interrogans* serovar Tarassovi y caracterización clínica epizootiologica en focos de Leptospirosis porcina First reporter Cuba of leptospira interrogans serovar Tarassovi and clinical and. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, VI, 1–34.  
<https://www.redalyc.org/pdf/636/63612647002.pdf>
- Fouts, D. E., Matthias, M. A., Adhikarla, H., Adler, B., Amorim-Santos, L., Berg, D. E., Bulach, D., Buschiazzo, A., Chang, Y. F., Galloway, R. L., Haake, D. A., Haft, D. H., Hartskeerl, R., Ko, A. I., Levett, P. N., Matsunaga, J., Mechaly, A. E., Monk, J. M., Nascimento, A. L. T., ... Vinetz, J. M. (2016). What Makes a Bacterial Species Pathogenic?: Comparative Genomic Analysis of the Genus *Leptospira*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(2), 1–57.  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0004403>
- Gagea, Mihai & Craig, Suzanne (2012). Euthanasia and Necropsy. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. USA. 117-139.  
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00004-3>
- García, R., Reyes-Torres, A., Basilo-Hernandez, D., Rivas-Sanchez, B., & Ramirez-Perez, M. (2013, March). Leptospirosis; un problema de salud publica. *Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina (FM), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)*., 60, 57–70.  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2013/pt131g.pdf>
- Gilper, G., & Vélez, G. (2020). *DIAGNÓSTICO DE Leptospira spp. EN CERDOS DESTINADOS A FAENAMIENTO EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN PORTOVIEJO [ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ]*.  
<https://repositorio.esпам.edu.ec/bitstream/42000/1303/1/TTMV06D.pdf>

- Gressler, L., Da Silva, A., Tonin, A., Azevedo, M., Badke, M., & Monteiro, S. (2010). New serovars of *Leptospira interrogans* in cavy (*Cavia aperea*). *Comparative Clinical Pathology*, *19*(1), 119–120. <https://doi.org/10.1007/s00580-009-0924-6>
- Guernier, V., Lagadec, E., Cordonin, C., Le Minter, G., Gomard, Y., Pagès, F., Jaffar-Bandjee, M. C., Michault, A., Tortosa, P., & Dellagi, K. (2016). Human Leptospirosis on Reunion Island, Indian Ocean: Are Rodents the (Only) Ones to Blame? *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *10*(6), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004733>
- Gutiérrez, A., & Morales, S. (2020, December). Determinación de anticuerpos contra serovares de *Leptospira* spp en cuyes de crianza familiar-comercial en Cajabamba, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *31*(4), e19043. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i4.19043>
- Hamer, M., Saraullo, V., Brihuega, B., Watanave, O., Martinez, M., & Grune, S. (2019). Comparación de métodos de extracción de ADN simples y económicos para el diagnóstico molecular de leptospirosis animal. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, *18*(2), 68–73. <https://doi.org/10.14409/favecv.v18i2.8752>
- Harkin, K. R., Roshto, Y. M., Sullivan, J. T., Purvis, T. J., & Chengappa, M. M. (2003). Comparison of polymerase chain reaction assay, bacteriologic culture, and serologic testing in assessment of prevalence of urinary shedding of leptospires in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *222*(9), 1230–1233. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.222.1230>
- Hartskeerl, R. A., Collares-Pereira, M., & Ellis, W. A. (2011). Emergence, control and re-emerging leptospirosis: Dynamics of infection in the changing world. *Clinical Microbiology and Infection*, *17*(4), 494–501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03474.x>
- Hereda, D., & Chambers, K. (2005). Leptospirosis. *The Center for Food Security & Public Health*, *14*, 8. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/leptospirosis-es.pdf>
- Huamán, M., Killerby, M., & Chauca, L. (2019). Manual de bioseguridad y sanidad en cuyes. In I. N. de I. Agraria-INIA (Ed.), *Ministerio de Agricultura y Riego, Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA* (Proyecto 0). Vayu Advertising &

Hurd, J., Berke, O., Poljak, Z., & Runge, M. (2017). Spatial analysis of *Leptospira* infection in muskrats in Lower Saxony, Germany, and the association with human leptospirosis. *Research in Veterinary Science*, *114*, 351–354. <https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2017.06.015>

ICATM. (2012). *International Workshop on Alternative Methods for Leptospira Vaccine Potency Testing: State of the Science and the Way Forward Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods*. 1–13. <https://books.google.com.ec/books?id=6xkwDwAAQBAJ&pg=PA36&lpg=PA36&dq=Cada+cobayo+de+prueba+se+inyecta,+vía+subcutánea+o+intramuscular,+con+2,0+mL+de+vacuna+y+posteriormente+se+observan+por+7+días.+Si+no+se+observa+alteración,+signos+de+enfermedad+o+la+mu>

Kawaguchi, L., Sengkeopraseuth, B., Tsuyuoka, R., Koizumi, N., Akashi, H., Vongphrachanh, P., Watanabe, H., & Aoyama, A. (2008). Seroprevalence of Leptospirosis and Risk Factor Analysis in Flood-prone Rural Areas in Lao PDR. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *78*(6), 957–961. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.2008.78.957>

Kenneth, R., & C, G. (2017). CAPÍTULO 37: Espiroquetas. In *MSherris. Microbiología Medica* (pp. 1–26). <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169&sectionid=162984623>

L., C. (2005). *Recent Advances in Canine Infectious Diseases / IVIS*. <https://www.ivis.org/library/recent-advances-canine-infectious-diseases>

Lemus, J., Cabezas, A., Zaldívar, I., Gonzáles, E., & Ramos, Y. (2017). *Observaciones clínico patológicas en ratas Wistar gestadas infectadas experimentalmente con leptospiras Clinical and pathological observations in experimentally infected pregnant wistar rats with leptospiras*. *21*(3), 354–361. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-31942017000300009&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942017000300009&lng=es)

Lilenbaum, W., & Martins, G. (2014). Leptospirosis in cattle: a challenging scenario for

the understanding of the epidemiology. *Transboundary and Emerging Diseases*, 61 Suppl 1(SUPPL1.), 63–68. <https://doi.org/10.1111/TBED.12233>

Luna, S. (2019). “*DETERMINACIÓN SEROLÓGICA DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA *Leptospira interrogans* EN CUYES (*Cavia porcellus*) CON HISTORIAL DE ABORTOS EN CRIANZA INTENSIVA DEL DISTRITO DE CONCEPCIÓN, JUNÍN*” [Universidad Científica del Sur]. <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/781/TL-Luna S.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Martin, P., Arauz, M., & Stanchi, N. (2015). Leptospirosis mediante técnicas moleculares. *Analecta Vet*, 3(1), 26–38. [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/enfermedades\\_reproduccion/186-Martin.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/186-Martin.pdf)

Matamala, Alberto (2018). EVALUACIÓN DE LA PRUEBA MAT Y PCR EN SANGRE Y ORINA PARA DETERMINAR EL ESTATUS DE INFECCIÓN DE VACAS LECHERAS ABORTADAS DENTRO DE LOS SIETE DÍAS POST ABORTO. UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. 1-13. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2018/fvm971e/doc/fvm971e.pdf>

Medrano, C., Díaz Rojas, C. A., & Dalmau Barros, E. A. (2011). Diagnóstico de leptospirosis canina por medio de las técnicas Dot-ELISA y MAT en perros con enfermedad renal en Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria*, 21, 133–145. <https://doi.org/10.19052/mv.568>

MINSA. (2011). Norma técnica de salud para la atención integral de la persona afectada con leptospirosis humana. *Ministerio de Salud*, 23. <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2358.pdf>

Miotto, B. A., Guilloux, A. G. A., Tozzi, B. F., Moreno, L. Z., Da Hora, A. S., Dias, R. A., Heinemann, M. B., Moreno, A. M., de Souza Filho, A. F., Lilenbaum, W., & Hagiwara, M. K. (2018). Prospective study of canine leptospirosis in shelter and stray dog populations: Identification of chronic carriers and different *Leptospira* species infecting dogs. *PLoS ONE*, 13(7), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200384>

Mohd Ali, M. R., Mohd Safee, A. W., Ismail, N. H., Abu Sopian, R., Mat Hussin, H.,



- Ismail, N., & Yean Yean, C. (2018). Development and validation of pan-*Leptospira* Taqman qPCR for the detection of *Leptospira* spp. in clinical specimens. *Molecular and Cellular Probes*, *38*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.MCP.2018.03.001>
- Monroy, Á., Vargas, J., Iriarte, G., & Ramírez, J. (2020). Leptospirosis en reservorios animales: Una revisión de tema. *Revista Lasallista de Investigacion*, *17*(2), 267–279. <https://doi.org/10.22507/rli.v17n2a23>
- Monzón, M. de J., Peterssen, M., Pérez, J., González, X., & González, S. (2019). Morfometría de corazón y pulmón en ratas Wistar infectadas con leptospira canícola durante la preñez. *Rev Ciencias Médicas*, *23*(4), 542–552. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-31942019000400542&lang=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942019000400542&lang=pt)
- Mora, R. A. (2017). Leptospirosis en Costa Rica . Técnicas diagnósticas y su tratamiento. *Rev Enf Emerg*, *16*(1), 23–29. [http://www.enfermedadesemergentes.com/articulos/a662/ENF2017-16-01\\_revision-alfaro.pdf](http://www.enfermedadesemergentes.com/articulos/a662/ENF2017-16-01_revision-alfaro.pdf)
- Morales, S. (2017). *Patógenos bacterianos y parasitarios más frecuentes en cuyes de crianza familiar - comercial en tres distritos de la Provincia de Bolognesi, Departamento de Ancash en época de seca* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6875/Morales\\_cs.pdf?sequence=2&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6875/Morales_cs.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Moreno, L. Z., Miraglia, F., Lilenbaum, W., Neto, J. S. F., Freitas, J. C., Morais, Z. M., Hartskeerl, R. A., Da Costa, B. L. P., Vasconcellos, S. A., & Moreno, A. M. (2016). Profiling of *Leptospira interrogans*, *L. santarosai*, *L. meyeri* and *L. borgpetersenii* by SE-AFLP, PFGE and susceptibility testing--a continuous attempt at species and serovar differentiation. *Emerging Microbes & Infections*, *5*(3). <https://doi.org/10.1038/EMI.2016.16>
- Mori, M., Bourhy, P., Guyader, M. Le, van Esbroeck, M., Djelouadji, Z., Septfons, A., Kodjo, A., & Picardeau, M. (2017). Pet rodents as possible risk for leptospirosis, Belgium and France, 2009 to 2016. *Eurosurveillance*, *22*(43), 1. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.43.16-00792>

- MSP, M. de S. P. (2023). *ENFERMEDADES ZOONOTICAS LEPTOSPIRA: SE 21 ECUADOR 202*.
- Nakamura, S. (2020). Spirochete flagella and motility. *Biomolecules*, *10*(4).  
<https://doi.org/10.3390/biom10040550>
- Nally, J. E., Chow, E., Fishbein, M. C., Blanco, D. R., & Lovett, M. A. (2005). Changes in lipopolysaccharide O antigen distinguish acute versus chronic *Leptospira interrogans* infections. *Infection and Immunity*, *73*(6), 3251–3260.  
<https://doi.org/10.1128/IAI.73.6.3251-3260.2005>
- Niloofo, R., Narmada, F., De Silva, N., Karunanayake, L., Wickramasinghe, H., Dikmadugoda, N., Premawansa, G., Wickramasinghe, R., De Silva, H. J., Premawansa, S., Rajapakse, S., & Handunnetti, S. (2015). Diagnosis of leptospirosis: Comparison between microscopic agglutination test, IgM-ELISA and IgM rapid immunochromatography test. *PLoS ONE*, *10*(6).  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0129236>
- Ogoño, J. (2010). Chantaco Municipio de Loja.  
<https://www.loja.gob.ec/contenido/chantaco>
- OMSA. (2021). LEPTOSPIROSIS. In *Manual Terrestre de la OIE 2021* (p. 14).  
[https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.01.12\\_Leptospirosis.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.12_Leptospirosis.pdf)
- Pacheco, G. (2015). Una visión general de la leptospirosis. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, *4*(1), 46–63.  
<http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1369/1/820-2296-1-PB.pdf>
- Penna, B., Marassi, C. D., Libonati, H., Narduche, L., Lilenbaum, W., & Bourhy, P. (2017). Diagnostic accuracy of an in-house ELISA using the intermediate species *Leptospira fainei* as antigen for diagnosis of acute leptospirosis in dogs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *50*, 13–15.  
<https://doi.org/10.1016/J.CIMID.2016.11.004>
- Picardeau, M. (2017). Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still terra incognita? *Nature Reviews Microbiology*, *15*(5), 297–307.  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.5>

- Rodríguez, R., González, A., & Palacios, A. (2014). Leptospirosis en el entorno actual. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, 39(12), 1–6. <http://revzoilomarinaldo.sld.cu/index.php/zmv/article/view/127/220>
- Rojas, P., Monahan, A. M., Schuller, S., Miller, I. S., Markey, B. K., & Nally, J. E. (2010). Detection and quantification of leptospires in urine of dogs: A maintenance host for the zoonotic disease leptospirosis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 29(10), 1305–1309. <https://doi.org/10.1007/s10096-010-0991-2>
- Romero, C., Cuello, M., Agudelo, P., Thiry, D., Levett, P. N., & Falconar, A. K. I. (2013). Cross-sectional study of *Leptospira* seroprevalence in humans, rats, mice, and dogs in a main tropical sea-port city. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(1), 178–183. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0232>
- Sanchez, E. J. T., Chong, C. E. C., López, R. G., Hernández, P. R. M., Olán, F., & Serrano, N. V. (2022). Leptospirosis Y Enfermedad De Weil. *International Journal of Health Science*, 2(13), 2–5. <https://doi.org/10.22533/at.ed.1592132203039>
- Sandow, K., & Ramírez, W. (2005). Leptospirosis (Leptospirosis) K. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 1(6), 1–61. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612649001.pdf>
- Saul. (2019). *3 Enfermedades Que Pueden Transmitir Las Cobayas A Los Humanos*. Mascota Fiel. <https://mascotafiel.com/enfermedades-que-pueden-transmitir-las-cobayas/>
- SENASA. (2016). *Síntomas y tratamiento de la Leptospirosis en animales*. SENASA. <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/sintomas-y-tratamiento-de-la-leptospirosis-en-animales/>
- Senthilkumar, K., Aravindhbabu, R. P., & Ravikumar, G. (2021). Prototype Pentavalent Bovine *Leptospira* Vaccines Blended with Oil Adjuvant Provides Protection and Prevents Renal Colonization in Guinea Pig Model. *Indian Journal of Animal Research*, Of. <https://doi.org/10.18805/IJAR.B-4269>
- Serrano, E., César Burga, C., Elizabeth Hinostroza, M., & Renato Zúñiga, F. (2020). Influence of climatic seasons in the presence of canine leptospirosis in northern and central Lima, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 31(4), 1–9.

<https://doi.org/10.15381/RIVEP.V31I4.19018>

- Sosa, A. R. (2015). Estudio Piloto: Detección de *Leptospira* en el cantón Portoviejo (Manabí). [Universidad San Fransisco De Quito]. In *Estudio Piloto: Detección de Leptospira en el cantón Portoviejo (Manabí)*. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/4887/1/120361.pdf>
- Spickler, A., & Leedom, K. (2015). Equine Leptospirosis : Disease Overview and the Risks and Economic Ramifications of *Leptospira*-Associated Recurrent Uveitis and Leptospiral Abortion. *Zoetis, August*, 1–12. [https://www.zoetisus.com/products/horses/lepto-eq-innovator/docs/technicalbulletin1\\_equineleptospirosis.pdf](https://www.zoetisus.com/products/horses/lepto-eq-innovator/docs/technicalbulletin1_equineleptospirosis.pdf)
- Stoddard, Robyn Anne (2013). Detection of pathogenic leptospira spp. through real-time PCR (qPCR) targeting the lipL32 gene. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 943. 257-266. [https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-60327-353-4\\_17](https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-60327-353-4_17)
- Tamara, R., Monje, L. D., Landolt, N., Chiani, Y. T., Schmeling, F. M., Beldoménico, P. M., Vanasco, B. N., & Previtali, A. M. (2018). Primer informe de *Leptospira interrogans* en el roedor sigmodontino *Scapteromys aquaticus*. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 42, 5. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2018.83>
- Thibeaux, R., Iraola, G., Ferrés, I., Bierque, E., Girault, D., Soupé-Gilbert, M. E., Picardeau, M., & Goarant, C. (2018). Deciphering the unexplored *Leptospira* diversity from soils uncovers genomic evolution to virulence. *Microbial Genomics*, 4(1). <https://doi.org/10.1099/MGEN.0.000144>
- Uribe, D. (2016). Leptospirosis en Bull terrier. Reporte de caso. *Veterinaria y Zootecnia*, 10(1), 104–114. <https://doi.org/10.17151/vetzo.2016.10.1.8>
- Valverde, F., Ortega, V., Yunga, A., & Zamora, A. (2021). Incidencia, prevalencia e identificación de factores de riesgo asociados a la infección por leptospira. *Revista Científica Dominio de Las Ciencias*, 7, 152–172. [https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1685/Caputo %2C Juan Alfredo.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1685/Caputo%20Juan%20Alfredo.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Waktol, Y., Bashahun, M., & Nejash, A. (2016). (PDF) Leptospirosis en animales y sus implicaciones para la salud pública: una revisión. *Jimma University*, 6(845–853). [https://www.researchgate.net/publication/308764446\\_Leptospirosis\\_in\\_Animal\\_an](https://www.researchgate.net/publication/308764446_Leptospirosis_in_Animal_an)

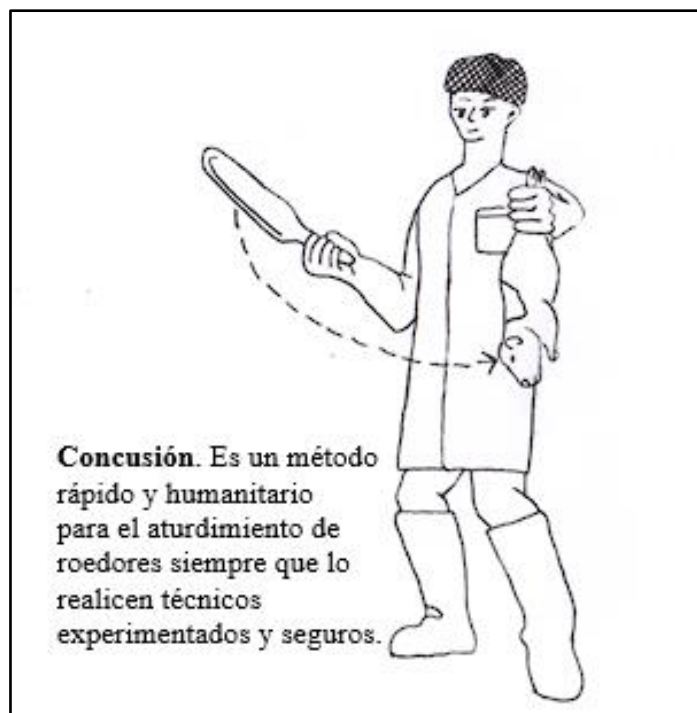
- William, A. E. (2015). *Leptospira and Leptospirosis* (B. Adler (ed.); Vol. 387). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8>
- Wunder, E. A., Figueira, C. P., Santos, G. R., Lourdault, K., Matthias, M. A., Vinetz, J. M., Ramos, E., Haake, D. A., Picardeau, M., dos Reis, M. G., & Ko, A. I. (2016, June). Real-time PCR reveals rapid dissemination of *Leptospira interrogans* after intraperitoneal and conjunctival inoculation of hamsters. *Infection and Immunity*, *84*(7), 2105–2115. <https://doi.org/10.1128/IAI.00094-16>
- Wuthiekanun, V., Amornchai, P., Langla, S., White, N. J., Day, N. P. J., Limmathurotsakul, D., & Peacock, S. J. (2015). Antimicrobial disk susceptibility testing of leptospira spp. Using leptospira vanaporn wuthiekanun (LVW) agar. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *93*(2), 241–243. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.15-0180/-/DC2/SD2.PDF>
- Yuste, F. J. (2019). Diagnóstico genético mediante PCR. *Sociedad Española de Genética*, *39*. <http://www.segenetica.es/CNMGP2019/CNMGP2019-Tema-4-Diagnostico-genetico-mediante-PCR.pdf>
- Zhang, Y., Lou, X. L., Yang, H. L., Guo, X. K., Zhang, X. Y., He, P., & Jiang, X. C. (2012, January). Establishment of a leptospirosis model in guinea pigs using an epicutaneous inoculations route. *BMC Infectious Diseases*, *12*, 1–10. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-20>

## 11. Anexos

### Anexo 1. Compra de los animales



### Anexo 2. Técnica de concusión



### Anexo 3. Toma de muestras de sangre



### Anexo 4. Toma de muestras de orina



**Anexo 5.** Muestras obtenidas de sangre y orina

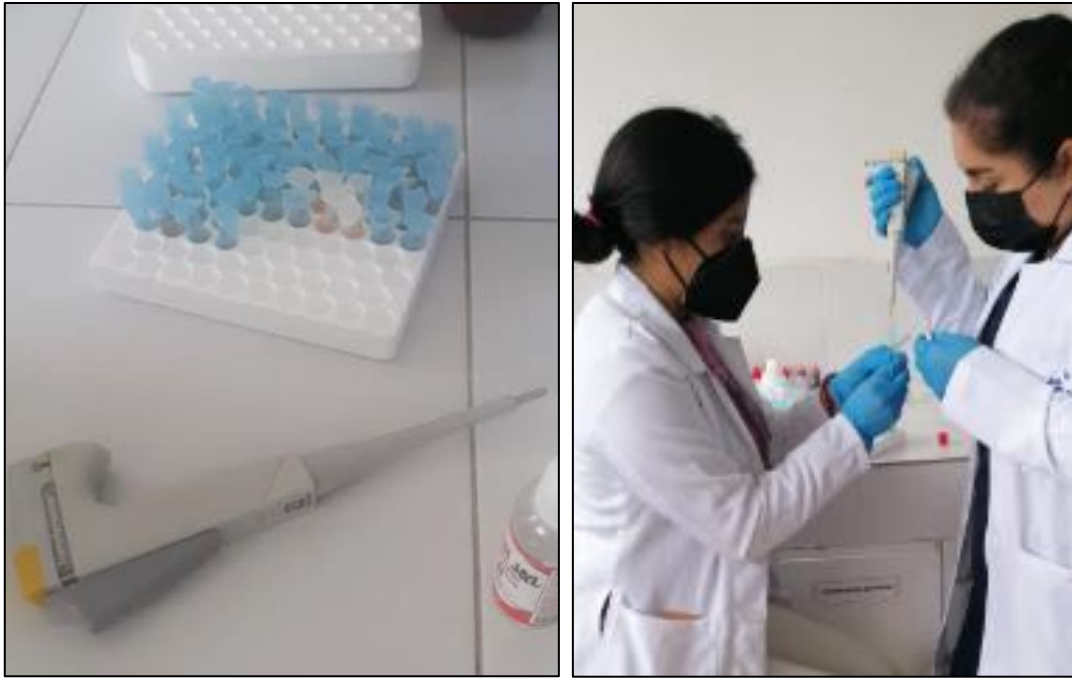


**Anexo 6.** Centrifugación de las muestras de sangre

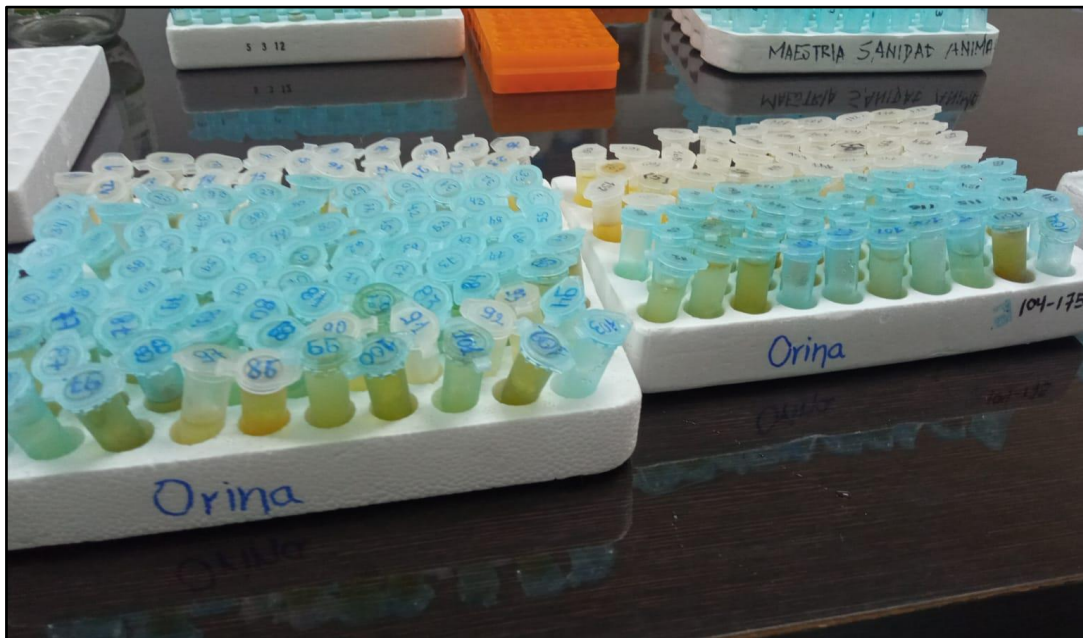




### Anexo 7. Obtencion de suero sanguineo



### Anexo 8. Muestras de orina para ser procesadas



### Anexo 9. Muestras de orina en termociclador

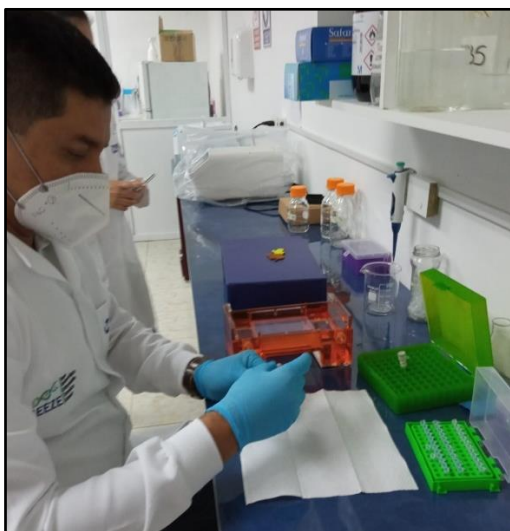


### Anexo 10. Proceso de PCR convencional





**Anexo 11.** Proceso de Electroforesis y resultado



## Anexo 12. Certificado de Traducción del Resumen

Mgs. Priscila Tinoco Carrión

Docente. De la Unidad Educativa Huertas

### CERTIFICA

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de la tesis titulada Detección de *Leptospira* spp. en cuyes de la parroquia Chantaco del cantón Loja autoría de Jhuliana Yaritza Pineda Romero con cédula 1105209850 egresada de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifico en honor de la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 19 de enero de 2023



Mgs. Priscila Tinoco Carrión

C.I. 0705653020

Docente De la Unidad Educativa Huertas