






Comunicación Breve

Evidencia de *Leptospira* spp. en sangre de perros de una comunidad rural de Yucatán, México

Marco Torres-Castro^{1*}  Ph.D; Darío Díaz-Aceves²  Lic; Alejandro Suárez-Galaz¹  Lic;
Enrique Reyes-Novelo³  Ph.D; Roger I. Rodríguez-Vivas⁴  Ph.D.

¹Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes, Mérida, México.

²Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Conkal, Conkal, México.

³Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Zoonosis, Mérida, México.

⁴Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Laboratorio de Parasitología, X'matkuil, México.

Correspondencia: antonio.torres@correo.uady.mx

Recibido: Julio 2020; Aceptado: Diciembre 2020; Publicado: Marzo 2021.

RESUMEN

Objetivo. Evidenciar la circulación de *Leptospira* spp. en sangre de perros de una comunidad rural del estado de Yucatán, México. **Materiales y métodos.** Se recolectaron muestras sanguíneas en 120 perros de Maxcanu, Yucatán. Además, se registraron características como sexo, edad, raza y se preguntó a los dueños sobre el historial de vacunas. Las muestras se transportaron al laboratorio y mediante la prueba diagnóstica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se identificó la amplificación de dos fragmentos del gen 16S ribosomal perteneciente a *Leptospira* spp. **Resultados.** La frecuencia de *Leptospira* spp. encontrada fue de 1.7% (2/120; IC95%= 0.2 – 5.9%). Ambos perros positivos fueron machos, cachorros, mestizos (mezcla de razas) y sin historial de vacunación. **Conclusiones.** Se describe una frecuencia baja de *Leptospira* spp. en sangre de los perros estudiados. Es necesaria más investigación epidemiológica para conocer las especies de *Leptospira* involucradas en la infección e identificar el riesgo de transmisión a los habitantes u otros animales domésticos del sitio de estudio.

Palabras clave: Bacterias; epidemiología; leptospirosis; mascotas; mamíferos; zoonosis (*Fuente: DeCS*).

ABSTRACT

Objective. To evidence the frequency of *Leptospira* spp. in blood of dogs in a rural community in the state of Yucatan, Mexico. **Materials and methods.** Blood samples were collected from 120 dogs from Maxcanu, Yucatan. Characteristics such as sex, age, and breed were recorded, and owners were asked about the vaccination history. The samples were transported to the laboratory and a polymerase chain reaction diagnostic test was conducted to amplify two fragments of the 16S ribosomal gene

Como citar (Vancouver).

Torres-Castro M, Díaz-Aceves D, Suárez-Galaz A, Reyes-Novelo E, Rodríguez-Vivas RI. Evidencia de *Leptospira* spp. en sangre de perros de una comunidad rural de Yucatán, México. Rev MVZ Córdoba. 2021; 26(2):e2098. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2098>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2021. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

belonging to *Leptospira* spp. **Results.** The frequency of *Leptospira* spp. was 1.7% (2/120; 95%CI= 0.2–5.9%). Both positive dogs were male mongrel puppies (mix of breeds) with no vaccination history. **Conclusions.** There was a low frequency of *Leptospira* spp. in the blood of the studied dogs. More epidemiological research is needed to identify the *Leptospira* species involved in the infection and the risk of transmission to the inhabitants or other domestic animals at the study site.

Keywords: Bacteria; epidemiology; leptospirosis; mammals; pets; zoonoses (*Source: DeCS*).

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis desatendida y reemergente, por lo que tiene tasas de morbilidad y mortalidad muy variables en las regiones endémicas. Es ocasionada por bacterias espiroquetas que pertenecen al subgrupo patógeno del género *Leptospira* (1,2). En México es un problema de salud pública; sin embargo, se registran pocos casos, los cuales están asociados a factores ambientales como la temperatura, humedad y alta precipitación pluvial (1).

Los seres humanos contraen la infección con *Leptospira* spp., principalmente a través del contacto directo con orina de animales reservorios naturales u hospederos accidentales (domésticos o silvestres) como ganado vacuno, cerdos, caballos, zarigüeyas, murciélagos y roedores, o de forma indirecta por el contacto con medios contaminados con orina como alimentos, fuentes artificiales o naturales de agua y suelo (2).

En el 2015, alrededor del mundo se estimaron poco más de un millón de casos con aproximadamente 60 mil muertes, la mayor parte de ellas en áreas con climas tropicales y subtropicales de países en vías de desarrollo (2). En el estado de Yucatán (sureste de México) la leptospirosis es endémica con reportes de seroprevalencia en seres humanos de hasta 88.2% (3).

Aunque los roedores son los reservorios naturales más importantes de *Leptospira* spp. y la vía principal de transmisión en los ambientes donde circulan (1,2), los perros son portadores crónicos de numerosas especies y serovares patógenas. De hecho, son considerados los reservorios naturales de *L. interrogans* serovar canicola, debido a la adaptación de la bacteria al ambiente renal de estos animales (4). En la segunda fase de la infección (conocida como inmunológica) las leptospirosis patógenas invaden el tejido renal de los perros; por lo tanto, la excreción por la orina de bacterias infectantes puede durar hasta

cuatro años, generando la transmisión a otros animales domésticos y personas susceptibles, principalmente las que conviven con ellos (4,5).

La información de la leptospirosis canina en México es limitada. Aun cuando la vacunación produce falsos positivos por la generación de anticuerpos, la mayor parte de los estudios con perros se han realizado con pruebas serológicas, principalmente microaglutinación (MAT), reportándose reacción contra numerosos serovares pertenecientes a especies patógenas, sobre todo *L. interrogans* (4). En este contexto, el uso de herramientas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite la detección de ADN de *Leptospira* spp. en fluidos (sangre) y tejidos con una sensibilidad y especificidad altas, incluso cuando los hospederos no presentan signología clínica (6).

El objetivo del presente trabajo es evidenciar la presencia de *Leptospira* spp. (leptospiremia) en sangre de perros domiciliados de una comunidad rural del estado de Yucatán, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sitio de estudio. El sitio de estudio fue la comunidad rural de Maxcanú, Yucatán, México, ubicada en el municipio del mismo nombre (20°33"-20°46"N y 89°53"-90°24"W). El clima del municipio es cálido subhúmedo con lluvias en verano con temperatura media de 29°C y precipitación pluvial anual de hasta 1.100mm (7). Su vegetación es selva tropical decidua con fragmentos de vegetación secundaria intercalados con pasto para corte y forraje para rumiantes.

Población de estudio. Esta investigación fue aprobada por el Comité de Ética en Investigación del Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi" (CIR) de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), Mérida, México (registro: CEI-007-2018).

La visita a las viviendas de Maxcanú y la observación de los perros estudiados se realizaron de enero a abril de 2019. Únicamente se incluyeron perros cuyos dueños (previa invitación) participaron en el estudio y otorgaron su autorización con la firma del consentimiento informado.

De cada perro se registraron sexo (macho o hembra), edad (cachorro: menores de un año, adulto: mayores de un año a menores de seis años y geriátrico: mayores de seis años) y raza (pura o mezcla de razas, conocidas en la región como mestizos). Adicionalmente, los dueños informaron sobre el historial de vacunación (número y tipo de vacuna).

Toma de muestras biológicas y extracción de ADN total. Después de la observación realizada a cada perro, se recolectó una muestra de sangre completa (máximo 7 ml) de la vena safena con ayuda de una jeringa y se depositó en un tubo estéril para centrifuga (BD Vacutainer™; Estados Unidos [EUA]). Durante el trabajo de campo, las muestras se conservaron en neveras portátiles con refrigerantes (aproximadamente 4°C), después se trasladaron al laboratorio y se centrifugaron a 3.500 rpm (2.000 g) a temperatura ambiente (24°C) durante 10 min. Una fracción de la capa de leucocitos y del plasma se retiraron y colectaron en un vial para microcentrifuga estéril de 1.8 ml (Eppendorf®; Alemania) para su conservación a -80°C, hasta su uso en la extracción de ADN total.

La extracción de ADN total se realizó con el kit comercial QIAamp DNA Mini Kit® (QIAGEN; Alemania), protocolo "DNA Purification from liquids and fluids", siguiendo las especificaciones del fabricante y se conservó a 4°C. La cuantificación y medición de la pureza del producto extraído se determinó con un espectrofotómetro NanoDrop-2000® (Thermo Scientific®; EUA). Todas las extracciones tuvieron concentraciones dentro de un rango de 50-100 ng/ml.

Detección de *Leptospira* spp. en sangre Se realizó a través de la amplificación por PCR punto final de dos fragmentos distintos del gen 16S ribosomal (*16S-rRNA*), según lo descrito en Torres-Castro et al (8).

Los cebadores, las concentraciones de los reactivos, condiciones empleadas en el termociclador y los controles positivo (ADN de *Leptospira* tipificada como *L. interrogans*) y negativo (todos los reactivos del *master mix*, pero sin ADN templado)

para ambas reacciones fueron los mismos que las descritas previamente (8).

La electroforesis de los productos se realizó en geles de poliacrilamida al 8%, teñidos con nitrato de plata. Los resultados se registraron en un transiluminador (Hoefer Inc®; EUA) y por fotografías.

RESULTADOS

Se estudiaron 120 perros de Maxcanú. De estos, 66 fueron machos (55%) y 54 hembras (45%). Con respecto a la edad, 48 fueron cachorros (40%), 49 adultos (40.8%) y 23 geriátricos (19.2%). Tres de ellos fueron de raza pura (2.5%) y el resto (98.5%) mestizos (mezcla de razas), 48 recibieron la aplicación de alguna vacuna (40%), generalmente contra el virus de la rabia.

La presencia de *Leptospira* spp. en sangre se identificó en dos perros (1.7%; IC95%= 0.2%-5.9%) (Figura 1). Ambos fueron machos, cachorros, mestizos y no recibieron aplicación de vacunas.

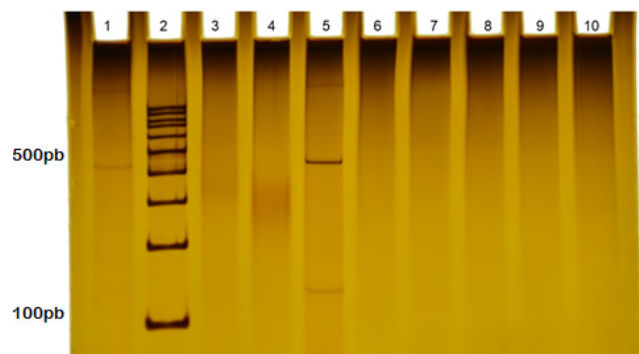


Figura 1. Gel de poliacrilamida al 8%, teñido con nitrato de plata, mostrando un producto positivo (440 pares de bases [pb]) al gen 16S ribosomal de *Leptospira* sp. en perros domiciliados de Maxcanú, Yucatán, México. 1: control positivo; 2: marcador de peso molecular de 100 pb; 3, 4: productos negativos; 5: producto positivo; 6-9: productos negativos; 10: control negativo.

DISCUSIÓN

La infección con *Leptospira* spp. en perros de Yucatán ha sido demostrada con la detección de anticuerpos contra serovares de distintas especies patógenas (9,10), hallazgos que, junto con la evidencia generada en este estudio, indican que la infección con estas bacterias en perros de la región tiene un patrón endémico. La

circulación de perros infectados con *Leptospira* spp. ha sido definida como un factor relevante para la contaminación ambiental con la bacteria, lo cual aumenta el riesgo de transmisión a las personas susceptibles que habitualmente conviven con estos animales (11).

Si bien no se identificó a la (s) especie (s) infectante (s) de *Leptospira* en los perros positivos por PCR de Maxcanú, es probable que esta (s) pertenezca (n) al subgrupo patógeno, debido a que en los trabajos previos realizados en Yucatán (9,10), se han descrito reacciones contra las serovares grippotyphosa, canicola, icterohaemorrhagiae, panama, australis, pyrogenes y bratislava, las cuales corresponden a serogrupos de especies patógenas (9,10). Asimismo, estudios realizados con roedores capturados en Yucatán como *Mus musculus* (sinantrópico), *Rattus rattus* (sinantrópico) y *Heteromys gaumeri* (silvestre), han reportado con empleo de pruebas moleculares y análisis bioinformáticos, las especies patógenas *L. kirschneri* y *L. interrogans* (12,13), esta última incluye la serovar canicola (5). Estos roedores (sobre todo *M. musculus* y *R. rattus*) pueden transmitir leptospirosis patógenas a los perros de manera indirecta por la exposición accidental a medios contaminados con orina como suelo húmedo y agua estancada, o también por el consumo de alimento (croquetas) guardado de manera deficiente al cual pueden acceder los roedores y contaminarlo (14).

Durante las visitas para la observación y estudio de los perros, se notó que la mayor parte de ellos vivían en condiciones de descuido, similares a las descritas por Cortez-Aguirre et al (15) en perros de una ciudad del sureste de México. Asimismo, pocos dueños mencionaron que sus animales cuentan con vacunas adicionales a la aplicada contra el virus de la rabia por los servicios de salud pública de Yucatán, por lo que la aplicación de la vacuna contra la infección con *Leptospira* serovares canicola e icterohaemorrhagiae, prácticamente es nula. También pudo observarse que muchos perros no tenían un lugar de descanso o para dormir dentro del predio donde habitan, por lo que es frecuente que deambulen o pernocten en predios aledaños e incluso en la vía pública, parques y mercados. Este comportamiento genera contacto directo con hospederos accidentales de *Leptospira*, así como con aguas residuales, bebederos u otras fuentes artificiales de agua, las cuales pueden actuar como focos comunes de infección, ya que frecuentemente están contaminados con leptospirosis viables (16). De igual manera, este tránsito errante contribuye con el contacto directo con otros perros infectados de la misma región (11).

A pesar de la baja frecuencia de infección encontrada en el grupo estudiado de perros, se ha descrito que los ambientes urbanizados son escenarios importantes para la transmisión de *Leptospira* a la población canina, no únicamente por el número elevado de roedores (reservorios naturales) que suelen circular, sino también por la presencia de otros mamíferos pequeños (hospederos accidentales) que eventualmente tienen contacto con los perros (9,11,17).

Por otro lado, se ha identificado predisposición a la infección con *Leptospira* en perros machos, debido probablemente a su mayor movilidad y rastreo en áreas más extensas en comparación con las hembras (18). Esta predisposición también ha sido descrita en perros mestizos (18); no obstante, aunque los únicos animales positivos a la infección encontrados en el presente trabajo comparten estas características, es necesario un abordaje epidemiológico para comprender el riesgo de infección asociado con estas y otras características de los perros de Maxcanú y de Yucatán.

Se ha descrito que la detección de ADN de *Leptospira* spp. en perros, incluso cuando son asintomáticos (como sucedió en los perros identificados por PCR en el grupo estudiado) o la enfermedad es subclínica, es motivo suficiente para considerarlos como posibles diseminadores de bacterias infectivas (5). En este sentido, es importante señalar que la severidad de la leptospirosis canina depende de características tanto del individuo afectado (edad y respuesta inmune) como del patógeno (especie infectante y virulencia) (5,18), por lo tanto, es relevante realizar muestreos nuevos y análisis moleculares con el objetivo de identificar la (s) especie (s) de *Leptospira* circulante (s) en la población canina de Yucatán.

Conflicto de intereses

Todos los autores señalan no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

A las y los estudiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UADY que participaron en el trabajo de campo. El trabajo de laboratorio fue financiado con recursos internos del Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes del Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi" de la UADY, Mérida, México.

REFERENCIAS

1. Sánchez-Montes S, Espinosa-Martínez DV, Ríos-Muñoz CA, Berzunza-Cruz M, Becker I. Leptospirosis in Mexico: epidemiology and potential distribution of human cases. *PLoS One*. 2015; 10(7):e0133720. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133720>
2. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(9):e0003898. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003898>
3. Navarrete-Espinosa J, Moreno-Muñoz M, Rivas-Sánchez B, Velasco-Castrejón O. Leptospirosis prevalence in a population of Yucatan, Mexico. *J Pathog*. 2011; 2011:408604. <https://doi.org/10.4061/2011/408604>
4. Luna AMA, Moles CLP, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar GF. La leptospirosis canina y su problemática en México. *Rev Salud Anim*. 2008; 30(1):1-11. <https://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v30n1/rsa01108.pdf>
5. Goldstein RE. Canine leptospirosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2010; 40(6):1091-1101. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.07.008>
6. White AM, Zambrana-Torrelío C, Allen T, Rostal MK, Wright AK, Ball EC, et al. Hotspots of canine leptospirosis in the United States of America. *Vet J*. 2017; 222(1):29-35. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.02.009>
7. Panti-May JA, Zonta ML, Cociancic P, Barrientos-Medina RC, Machain-Williams C, Robles MR, et al. Occurrence of intestinal parasites in Mayan children from Yucatán, Mexico. *Acta Trop*. 2019; 195(1):58-61. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.04.023>
8. Torres-Castro M, Febles-Solís V, Hernández-Betancourt S, Noh-Pech H, Estrella E, Peláez-Sánchez R, et al. *Leptospira* patógena en murciélagos de Campeche y Yucatán, México. *Rev MVZ Córdoba* 2020; 25(2):e1815. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1815>
9. Cárdenas-Marrufo MF, Vado-Solís I, Pérez-Osorio CE, Segura Correa JC. Seropositivity to Leptospirosis in domestic reservoirs and detection of *Leptospira* spp. from water sources, in farms of Yucatan, Mexico. *Trop Subtrop Agroecosystems*. 2011; 14(1):185-189. <http://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/698/507>
10. Ortega-Pacheco A, Guzmán-Marín E, Acosta-Viana KY, Vado-Solís I, Jiménez-Delgadillo B, Cárdenas-Marrufo M, et al. Serological survey of *Leptospira interrogans*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi* in free roaming domestic dogs and cats from a marginated rural area of Yucatan Mexico. *Vet Med Sci*. 2017; 3(1):40-47. <https://doi.org/10.1002/vms3.55>
11. Ortega-González CN, Martínez-Herrera DI, Ortiz-Ceballos GC, Pardío-Sedas VT, Villagómez-Cortés JA, Flores-Primo A, et al. Asociación entre leptospirosis en perros domiciliados y en sus propietarios en Veracruz-Boca del Río, México. *Agrociencia*. 2018; 52(Extraordinario 1):67-79. <https://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2018/dic-especial/art-8.pdf>
12. Torres-Castro MA, Gutiérrez-Ruiz E, Hernández-Betancourt S, Peláez-Sánchez R, Agudelo-Flórez P, Guillermo-Cordero L, et al. First molecular evidence of *Leptospira* spp. in synanthropic rodents captured in Yucatan, Mexico. *Revue Méd Vét*. 2014; 165(7-8):213-218. https://www.revmedvet.com/2014/RMV165_213_218.pdf
13. Torres-Castro M, Cruz-Camargo B, Medina-Pinto R, Reyes-Hernández B, Moguel-Lehmer C, Medina R, et al. Detección molecular de leptospirosis patógenas en roedores sinantrópicos y silvestres capturados en Yucatán, México. *Biomedica*. 2018; 38(Suplemento 2):51-58. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3938>
14. Romero-Vivas CM, Cuello-Pérez M, Agudelo-Flórez P, Thiry D, Levett PN, Falconar AK. Cross-sectional study of *Leptospira* seroprevalence in humans, rats, mice, and dogs in a main tropical sea-port city. *Am J Trop Med Hyg*. 2013; 88(1):178-183. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0232>

15. Cortez-Aguirre GR, Jiménez-Coello M, Gutiérrez-Blanco E, Ortega-Pacheco A. Stray dog population in a city of Southern Mexico and its impact on the contamination of public areas. *Vet Med International*. 2018; 2018:2381583. <https://doi.org/10.1155/2018/2381583>
16. Hernández-Ramírez CV, Gaxiola-Camacho SM, Osuna-Ramírez I, Enríquez-Verdugo I, Castro-del Campo N, López-Moreno HS. Prevalence and risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs from Culiacan, Sinaloa. *Vet Mex OA*. 2017; 4(2):32-43. <http://dx.doi.org/10.21753/vmoa.4.2.369>
17. Blum-Domínguez Sdel C, Chi-Dzib MY, Maldonado-Velázquez MG, Nuñez-Oresa LA, Gómez-Solano M, Caballero-Poot RI, et al. Detection of reactive canines to *Leptospira* in Campeche City, Mexico. *Rev Argent Microbiol*. 2013; 45(1):34–38. <http://pubmed.aam.org.ar/PMID/23560786.pdf>
18. Ward P, Glickman T, Guptill E. Prevalence of and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970-1998). *J Am Vet Med Assoc*. 2002; 220(1):53-58. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.220.53>