



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TESIS DE GRADO

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

MODALIDAD:

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**“SEROPREVALENCIA A LEPTOSPIRA PATÓGENAS EN CANINOS
DOMÉSTICOS DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO ASOCIADA A LAS
CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES REACCIONANTES AL
MAT”**

AUTORES:

**VELÁSQUEZ VILLAQUIRÁN, JOHN HENRY
GARZÓN CHICA, MAITTE NICOLE**

TUTOR:

Dr. VÍCTOR ALFONSO MONTES ZAMBRANO PhD.

SANTA ANA-MANABÍ- ECUADOR

2020

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios, por conducirme a través de sus sendas y bendecirme con fortaleza y sabiduría para continuar en momentos difíciles a lo largo de mi vida, por ser el inspirador para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseado.

A mis padres porque han sabido formarme con buenos sentimientos, valores y hábitos, lo cual me han ayudado a salir adelante. Los cuales me han dado su cariño, amor, comprensión y apoyo. Por su sacrificio diario para poder estar donde estamos y poder convertirme en lo que hoy soy.

A mi querida esposa e hija, por ser el motor que me impulsa cada día a ser mejor persona, e instruirme para ser un excelente profesional, por el apoyo que me dan cada día, la paciencia, los cuidados, sin ellas este logro carecería de sentido.

A los compañeros y amigos, que de una forma u otra fueron parte de este proyecto, con su apoyo esto no hubiese sido posible.

A todas las personas que nos apoyaron y han hecho que el trabajo se realice con éxito, en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

JOHN H. VELÁSQUEZ VILLAQUIRÁN

DEDICATORIA.

Al padre todo; Dios por brindarme luz, guía, paciencia, conocimiento, y fuerzas para continuar ante las diversas situaciones presentes a lo largo del camino de la vida, guiándome por el sendero de lo sensato, ofreciéndome la oportunidad de concluir mi carrera bajo su protección y divino amor.

A mi Padre Ramón; por creer en mi desde el inicio y enseñarme que podía y debía llegar a la meta trazada, por sus valiosos consejos. A mi madre, porque en cada batalla estuvo presta apoyarme, demostrándome que, aunque el camino sea dificultoso sabría cómo enfrentarlo y siempre tendría una sonrisa y palabra de aliento de parte de ella, por el eterno amor de mis padres, por sus valores y principios inculcados. A mis hermanos, abuela y tías, familia en general que me alentaron en cada paso y brindaron soporte emocional.

A mis docentes; por compartir sus conocimientos, enseñarme a desarrollar destrezas, formarme académicamente hasta llegar a ser una correcta profesional poniendo siempre como principio la ética.

A mis amigos; porque sin ellos esta pericia no hubiese llegado a ser extraordinaria, por compartir su apoyo, afecto y emociones agradables.

MAITTE NICOLE GARZÓN CHICA

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por bendecirnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a nuestros padres: Henry Velásquez y Miryam Villaquirán; Ramón Garzón y Mairita Chica, por ser los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nuestras expectativas, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado.

A nuestros docentes de la Universidad Técnica de Manabí, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra profesión, de manera especial, al Doctor Víctor Montes Zambrano. tutor de nuestro proyecto de investigación quien nos ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente, y a los habitantes de la ciudad de Portoviejo por su valioso aporte para nuestra investigación.

Agradecemos a Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD), por haber colaborado con la donación de un cepario al área de leptospira de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UTM, permitiendo montar la técnica diagnóstica necesaria para esta investigación. de igual forma a la Dra Mercy Falconi responsable del área de leptospira en Agrocalidad Tumbaco.

A las clínicas y centros veterinarios que permitieron hacer uso de las mascotas que acudieron por los servicios, las mismas que permitieron cumplir con nuestros objetivos

JOHN VELÁSQUEZ Y MAITTE GARZÓN

CERTIFICACIÓN

Dr. Víctor Montes Zambrano, Certifica que la tesis en la Modalidad Investigativa titulada: **“SEROPREVALENCIA A LEPTOSPIRA PATÓGENAS EN CANINOS DOMÉSTICOS DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO ASOCIADA A LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES REACCIONANTES AL MAT”**, es trabajo original de los Señores JOHN H. VELÁSQUEZ VILLAQUIRÁN, MAITTE NICOLE GARZÓN CHICA, el que ha sido realizado bajo mi supervisión.

Dr. Víctor Montes Zambrano PhD
TUTOR DE TESIS

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA:

**“SEROPREVALENCIA A LEPTOSPIRA PATÓGENAS EN CANINOS
DOMÉSTICOS DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO ASOCIADA A LAS
CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES REACCIONANTES AL
MAT”**

TESIS DE GRADO

Sometida a consideración del tribunal de Sustentación y legalización por el H. Consejo
Directivo como requisito previo a la obtención del título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL TRIBUNAL

Dr. Edis Macías Rodríguez PhD
DECANO-PRESIDENTE

Dr. Víctor Montes Zambrano PhD
TUTOR DE TESIS

Dr.-----
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. -----
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. -----
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Tabla de contenido

RESUMEN	9
SUMMARY	10
1.-INTRODUCCIÓN	11
2.-ANTECEDENTES	12
4.-JUSTIFICACIÓN	14
5.-OBJETIVOS	16
5.1 GENERAL	16
5.2 ESPECÍFICOS	16
6.-MARCO REFERENCIAL	17
6.1 Leptospiriosis	17
6.2 Leptospira	17
6.3 Métodos de cultivo	19
6.4 Mecanismos de transmisión	19
6.5 Patogenia	20
6.6 Epidemiología	21
6.7 Patogénesis	22
6.7.1 Forma anictérica	23
6.7.2 Forma ictérica (síndrome de weil)	24
6.8 Producción de toxina	24
6.8.1 Adhesión	25
6.9 Mecanismos inmunológicos	25
6.10 Leptospiriosis Animal	26
6.10.1 Signos clínicos	26
6.10.2 Patología	26
6.10.3 Patología clínica	27
6.10.4 Inmunidad y vacunación	27
6.11 Diagnóstico de la leptospiriosis en el laboratorio	28
7.-DISEÑO METODOLÓGICO	31
7.1 Cálculo del tamaño muestral	31
7.2 Tipo de muestreo y tamaño muestral	32
7.3 Procesamiento de muestras	32

7.4. Prueba de laboratorio.....	33
7.4.1. Prueba de Aglutinación Microscópica.....	33
7.5 Análisis estadístico	34
8. RESULTADOS	35
8.1. Características de los animales muestreados de acuerdo a la procedencia y sexo del cantón Portoviejo	35
8.2. Serorreacción de los animales muestreados de acuerdo a la procedencia en el Cantón Portoviejo	36
8.3. Características de los animales muestreados según el sexo	37
8.4. Características de los Caninos domésticos positivos al MAT agrupados por edad	38
8.5. Serovares reaccionantes en los caninos domésticos del cantón Portoviejo.....	38
8.6 Títulos alcanzados en los animales seroreactivo al MAT contra leptospira en muestras de caninos de las parroquias urbanas del cantón Portoviejo	39
8.7 Características de los animales reaccionantes al MAT de acuerdo a los datos obtenidos de la encuesta epidemiológica.....	40
8.7.1. Características de los Caninos domésticos positivos al MAT agrupados según su permanencia	40
8.7.2 Características de los animales reaccionantes al MAT de acuerdo al contacto con roedores	41
8.7.3 Características de los animales reaccionantes al MAT de acuerdo al contacto aguas estancadas.....	41
8.7.4 Características de los animales reaccionantes al MAT que comparten hábitat con otras especies de animales domésticos.....	42
10.- CONCLUSIONES	47
11.-RECOMENDACIONES	48
13.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
14.-ANEXOS.....	55
14.1 Anexo 1.....	55
14.2 Anexo 2.....	58
14.4 Anexo 4.....	59

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad producida por una bacteria del género *Leptospira*, que ataca al hombre, animales domésticos y silvestres, es una patología catalogada como una enfermedad ocupacional, por estar vinculada a algunas labores como por ejemplo agricultores, personal de mataderos, etc. Esta bacteria se transmite principalmente por la orina, puede vivir y reproducirse en el agua de diferentes fuentes. Los caninos expuestos son una fuente de infección para el hombre. El género *Leptospira* está formado por varias especies, estas a su vez, se dividen en serogrupos y serovares. En el presente estudio se determinó la seroprevalencia de leptospira patógenas en caninos domésticos procedentes de las parroquias urbanas de la ciudad de Portoviejo, durante el periodo de febrero a noviembre del año 2019. Trecientas ochenta muestras fueron analizadas mediante la técnica de aglutinación microscópica (MAT) a partir de los caninos sanos que acudían a los centros veterinarios. Las muestras fueron enfrentadas a un batería diagnóstica comprendida por tres serovares de leptospira (Canicola, Tarassovi y Hardjo). Los resultados obtenidos en la investigación establecieron una prevalencia a leptospira canina del 12,6%, IC95% (9,3-16,0) de los cuales el serovar Canicola y Hardjo se presentaron con mayor frecuencia 6,3 y 5,0% respectivamente, seguido por el serovar Tarassovi con un 2,6%. El 92% de los caninos domésticos muestreados en este estudio conviven o cohabitan con roedores, los cuales son los más propensos a seroconvertir al MAT contra *Leptospira*. Estos resultados sugieren una exposición leptospira por parte de los caninos domésticos y a su vez abre la posibilidad de un riesgo a la población humana de la ciudad de Portoviejo que se encuentra al contacto con estos animales domésticos.

SUMMARY

Leptospirosis is a disease caused by a bacterium of the genus *Leptospira*, which attacks man, domestic and wild animals, it is a pathology classified as an occupational disease, because it is linked to some work such as farmers, slaughterhouse personnel, etc. This bacterium is transmitted mainly through urine, it can also live and reproduce in water from different sources. Exposed canines are a source of infection for man. The genus *Leptospira* is formed by several species, these in turn, are divided into serogroups and serovars. In the present study, the seroprevalence of pathogenic leptospira was determined in domestic canines from the urban parishes of the city of Portoviejo, during the period from February to November of the year 2019. Three hundred and eighty samples analyzed by the Microscopic Agglutination Test (MAT) were taken from the healthy canines that came to the veterinary centers. The samples was evaluated by diagnostic battery comprised of three serovars of leptospira (Canicola, Hardjo and Tarassovi). The results obtained in the investigation established a prevalence of canine leptospira of 12.6% CI95% (9.3-16.0), of which the serovar Canicola and Hardjo with 6.3% and 5% were more frequent, followed by Tarassovi with 2.6%. Ninety-two percent of the domestic canines sampled in this study, coexist or cohabit with rodents, which are the most likely to convert the MAT against *Leptospira*. These results suggest exposure leptospira by domestic canines and increase possibility of a risk to the human population of Portoviejo city that in contact with these domestic animals.

1.-INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial, se presenta con más frecuencia en los países de clima subtropical o tropical húmedo (Chávez, 2012), a menudo esta enfermedad es considerada estacional y vinculada a ciertas labores u ocupaciones (Cañarte, 2013), presentándose en ciertos casos en forma de brotes. Una gran variedad de animales salvajes y domésticos pueden ser fuentes de infección de una o de las muchas serovariedades de leptospira existente (Minsal, 2007; Acha & Szyfres, 2001).

La infección se trasmite a los seres humanos por contacto directo con la orina de animales infectados o un ambiente contaminado por orina, principalmente aguas superficiales, suelo y plantas. El curso de la enfermedad en humanos varía de leve a letal (Chavarin, 2015).

El género *Leptospira* contiene dos especies, *L. interrogans* (patógena) y *L. biflexa* (saprófita) que se subclasifican en varios serotipos (serovares) en base a diferencias antigénicas (Camino 2007). Se han identificado aproximadamente 200 serotipos. Existen serovares universales en caninos los mismos que están relacionados con *L. interrogans*, serovares Canícola e Icterohaemorrhagiae (Acha & Szyfres 2001). Las leptospiras patógenas tienen un tiempo de sobrevivencia en el agua y en el suelo que varían según la temperatura, pH, salinidad o el grado de contaminación (Carneiro & Costa, 2004). Su multiplicación es óptima en un pH comprendido entre 7,2 a 7,4. Experimentalmente, se ha descrito la persistencia de leptospira en agua hasta por 180 días (Carneiro & Costa, 2004).

2.-ANTECEDENTES

El perro evidencia la popularidad de los animales de compañía en la población humana. Esta relación comenzó con su domesticación en tiempos del Mesolítico (Méndez 2018), esto trajo muchas ventajas, pero también coloca al ser humano en un mayor riesgo de exposición a los parásitos y patógenos del perro (Chavarin, 2015). Varias bacterias, parásitos, hongos, virus, y otros agentes infecciosos pueden transmitirse de los perros a los seres humanos (Vinetz, 2003).

Por lo general, los niños están en mayor riesgo que los adultos, debido a su contacto físico cercano con perros domésticos y debido a su propio comportamiento, incluyendo el poner objetos en su boca o comer artículos no alimentarios, así como la exploración al medio ambiente. La nueva tendencia de compartir la cama es también motivo de preocupación por el potencial zoonótico que pueden tener estos patógenos (Chavarin, 2015).

El perro sigue siendo el principal reservorio y vector de la rabia y leptospira a los seres humanos en todo el mundo (Haake & Levett, 2015). En 1898, la leptospirosis se propagó epizooticamente en Alemania denominándola “Enfermedad de Stuttgart”, en donde se comprobó que el agente etiológico era *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae (Soto, 2007).

El perro es considerado reservorio adaptado del serovar Canicola (Adler & De la Peña Moctezuma, 2010). En el año 2011, en la ciudad de Antioquia Colombia, se reportó un caso de leptospirosis en una hembra canina de raza Husky Siberian de 6 años, castrada, la cual presentaba signos típicos de leptospirosis, tales como decaimiento, vómito, ictericia, estómago distendido con heces líquidas y oscuras (Cano, 2012).

En el año 2017, en la sierra norte de Ecuador se realizó un estudio con la finalidad de conocer la prevalencia de leptospira en bovinos y caninos que habitan en zonas aledañas al camal municipal de Latacunga, en donde se detectó la presencia de *Leptospira interrogans* serovar Pomona a partir de una muestra de 252 caninos evaluados por medio de la técnica de Aglutinación Microscópica (MAT), por otra parte, se encontraron seroreacciones a

serovares tales como Tarrasovi, Canicola e Icterohaemorrhagiae, este estudio determinó que la ingesta de desechos de faenamiento influye en la presencia de leptospirosis en caninos (Lascano, 2017).

En Manabí, en el año 2013 en un estudio realizado en caninos de la parroquia Calderón perteneciente al cantón Portoviejo, se reportó que el 39% (99/253) de los animales fueron positivos al MAT, esta prueba estuvo integrada por un panel de 9 serovares, siendo el serovar Canicola el más frecuente con el 28% (Carreño & Cedeño, 2013).

Según información digital disponible en la página de Agrocalidad, existen alrededor de 30 clínicas veterinarias concentradas en la ciudad de Portoviejo, en donde los propietarios acuden a estos centros en busca de prevención, tratamiento y control de enfermedades en las mascotas.

4.-JUSTIFICACIÓN

La vigilancia epidemiológica activa es importante porque tiene como objetivo básico explotar la información en salud para orientar la toma de decisiones y la planificación de estrategias de prevención y control. La descripción de los patrones de ocurrencias permite orientar las acciones preventivas de control de manera eficaz y eficiente (García & Aguilar, 2013).

La Provincia de Manabí enfrenta serios problemas de inestabilidad climática que ocasiona que se propaguen distintas enfermedades de importancia epidemiológica, entre ellas las enfermedades endémicas, como es el caso de la leptospirosis (Arteaga, 2013), sus períodos de lluvias o de verano se acortan o alargan por efecto de las corrientes marinas, esto en muchos casos logra un descontrol y desatención al medio ambiente de los animales del sector rural y urbano. Durante los últimos años la leptospirosis ha tenido un comportamiento reemergente y continuó con presencia de brotes en épocas de lluvia correspondiente a los meses de invierno (MSP, 2015), las ratas son el principal reservorio de la enfermedad, las cuales buscan lugares para esconderse de las lluvias, llegando a ocultarse en oficinas, casas, parques y demás lugares, sitios en donde acuden las mascotas y familias (Carneiro & Costa, 2004).

Una vez que el perro ha adquirido la enfermedad puede transmitirla al humano a través de la orina por vía oral, mucosa, heridas en la piel (Bencomo *et al.* 2010)

Los propietarios al observar irregularidad en la salud de sus mascotas acuden a las diferentes Clínicas Veterinarias para la exploración física necesaria seguido de exámenes complementarios para determinar el agente causal que ha provocado daños en la salud. Es así, que las Clínicas Veterinarias son una fuente de información necesaria para obtener datos del porcentaje de animales que presentan leptospira. El presente trabajo está encaminado a determinar la presencia de anticuerpos contra leptospira en caninos que acuden a las diferentes clínicas de la ciudad de Portoviejo. Al realizar este estudio, se

intenta aportar con datos actualizados sobre la epidemiología de la enfermedad en caninos, con estos antecedentes nos planteamos los siguientes objetivos.

5.-OBJETIVOS

5.1 GENERAL

- Seroprevalencia a leptospira patógenas en caninos domésticos de la ciudad de Portoviejo asociada a las características de los animales reaccionantes al MAT

5.2 ESPECÍFICOS

- 1.-Establecer la seroprevalencia de leptospira patógenas presente en caninos domésticos que acuden a las clínicas veterinarias de la ciudad de Portoviejo.
- 2.-Determinar los títulos al MAT obtenidos en los caninos muestreados de las clínicas veterinarias de la ciudad de Portoviejo.
- 3.-Identificar las características (sexo, edad, estado de vacunación, permanencia) asociadas a los animales que reaccionan positivo al MAT.

6.-MARCO REFERENCIAL

6.1 Leptospirosis

La leptospirosis es una afección contagiosa, zoonótica y en la actualidad se sabe que se encuentra alrededor del mundo, pero es más habitual en las áreas tropicales donde el ambiente para su transmisión es especialmente favorable. Los últimos brotes han permitido que aumente el interés como problema de salud pública, debido a que estos han producido formas letales y presentaciones clínicas poco frecuentes según (Bharti, *et al*, 2003), como los casos respiratorios.

Se considera a la leptospirosis una enfermedad ocupacional según (Carneiro, *et al*, 2004), relacionada con los trabajos que de forma directa o indirecta están en contacto con la orina animal, por ejemplo, veterinarios, personal de mataderos, limpiadores de desagüe, personas que trabajan en los arrozales, etc. Sin embargo, las migraciones tanto de las personas como de los animales hacia nuevos lugares, la globalización, el cambio climático han hecho de la leptospirosis un problema latente a nivel mundial y objetivo de muchos estudios.

El hombre es introducido en la cadena epidemiológica de modo accidental (hospedero transitorio), por contacto con el agua (importante medio de transmisión), suelo, o exposición directa a las excretas contaminadas de algunos roedores o animales domésticos y salvajes, infectados, adquiriendo la infección y enfermando algunas veces. Es rara la transmisión de persona para persona, pues el hombre representa el final de la cadena de transmisión (Carneiro, *et al*, 2004).

6.2 Leptospira

El agente etiológico de la leptospirosis pertenece al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*, que comprende dos especies:

a) *Leptospira interrogans*

Bacteria patógena para los animales y el hombre, siendo esta la de más importancia médica.

b) *Leptospira biflexa*

Es una bacteria de vida libre (Haake & Levett, 2015).

La *Leptospira interrogans* se divide en más de 200 serovares y 23 serogrupos de acuerdo con las aglutininas compartidas. Esta clasificación tiene importancia epidemiológica ya que el cuadro clínico y en general la virulencia no se relaciona con el serovar (Mohammed, y otros, 2011). En caninos, los serovares más comúnmente implicados en la leptospirosis son Canicola e Icterohaemorrhagiae, pero, en los últimos años, se han venido aislado con más frecuencia los serovares Pomona, Bratislava y Grippotyphosa como causantes de la enfermedad, debido a que las vacunas comerciales solo protegen contra los dos primeros (Medrano, *et al*, 2011).

La *Leptospira* es una bacteria muy fina, de 6 a 20 μm de largo y 0,1 a 0,2 μm de ancho, flexible, helicoidal, con las extremidades incurvadas en forma de gancho (figura 1), extraordinariamente móvil, aerobia estricta, que se cultiva con facilidad en medios artificiales. Puede sobrevivir largo tiempo en el agua o ambiente húmedo, templado, con pH neutro o alcalino (Ecuared, 2010).

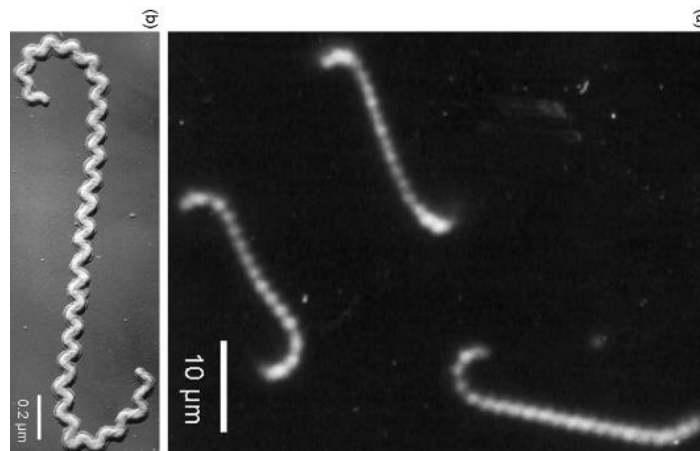


Figura 1: microfotografía de leptospira spp. Campo oscuro (a) microscopia electronia (b).
Extraída de (Adler & De la Peña Moctezuma, 2010)

6.3 Métodos de cultivo

Los medios de cultivo pueden presentarse de tres formas: líquido, semisólido y sólido. En medio de cultivo líquido, el movimiento de las Leptospiras es de rotación rápida sobre su eje longitudinal. En medios semisólidos, el movimiento es en serpentina y horadación y en medio sólidos reptan por la superficie. En condiciones de laboratorio crecen en medio cultivos simples a un pH de 7,2 – 7,6 y una temperatura de 15 -18 °C (Ginebra, 2001).

Al referirnos a la supervivencia en el medio ambiente necesita una humedad alta del suelo, una temperatura de 25 °C, con agua de un pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de materia orgánica, con todas estas condiciones y saturado, pueden vivir hasta 183 días y suelo seco 30 minutos (Ginebra, 2001).

En agua estéril pueden vivir hasta 3 meses o más, en aguas alcalinas en semanas, en lagunas varias semanas, en orina alcalina más de 16 días y en nitrógeno líquido 32 meses. En tejidos no contaminados y guardados a 4 °C pueden sobrevivir a varias semanas, en sangre no coagulada y defibrinada mantenida a temperatura ambiente (20–25 °C) sobreviven durante semanas. En las congelaciones rápida y a -70 °C pueden mantenerse más de 5 años en cultivos, así como en sangre y tejidos contaminados (Sandow & Ramírez, 2005).

Según Caminoa (2007), Se ha demostrado que las Leptospiras pueden sobrevivir: 9 días en músculo, 13 días en los riñones, 12 días en el hígado y 8 días en el bazo luego de la muerte del animal.

6.4 Mecanismos de transmisión

Para Caminoa (2007), Los animales infectados eliminan las leptospiras por la orina, contaminan el medio e infectan a los animales susceptibles. Ingresan al organismo a través de la piel y mucosas, en el canino por el comportamiento social de lamer los genitales de los congéneres, y olfatear los árboles. La mucosa oral y nasal es la puerta más frecuente de infección.

La transmisión puede presentarse de manera directa o indirecta. La transmisión directa generalmente origina casos aislados. Se produce por contacto con sangre, tejidos, órganos u orina de animales infectados y excepcionalmente por ingesta de agua o alimentos contaminados, en presencia de lesiones de la orofaringe o esofágicas. La transmisión indirecta es la más frecuente y generalmente ocasiona brotes epidémicos. Se produce por el contacto de las mucosas y/o piel con agua, lodo, terrenos o vegetación contaminada con orina de animales infectados (Moral, 2014).

6.5 Patogenia

Al referirnos a la patogenia de la enfermedad, las leptospiras pueden introducirse en el organismo a través de las heridas cutáneas o incluso a través de la mucosa intacta, ante todo la conjuntiva y la que tapiza la bucofaringe y nasofaringe. Una vez que penetran los microorganismos se produce una leptospiremia y el patógeno se extiende por todos los órganos (Campos, 2014).

La leptospira se multiplica en la sangre y en los tejidos, y puede aislarse tanto en la sangre como en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en los primeros cuatro a diez días de la enfermedad. Todos los tipos de leptospiras pueden lesionar la pared de los vasos sanguíneos de pequeño calibre; esta lesión da lugar a vasculitis con salida de elementos celulares y otros elementos intravasculares, incluyendo los eritrocitos. Las propiedades patógenas más importantes de las leptospiras son la adhesión a las superficies y la toxicidad celulares (Campos, 2014).

La vasculitis es la responsable de las manifestaciones más importantes de la enfermedad. Las leptospiras infectan fundamentalmente a los riñones y el hígado, pero pueden causar una lesión en cualquier órgano. En el riñón, los microorganismos emigran al intersticio, a los túbulos renales y a la luz tubular, y originan una nefritis intersticial y una necrosis tubular. La hipovolemia debida a la deshidratación y a los trastornos de la permeabilidad capilar contribuyen a la insuficiencia renal. En el hígado se observa necrosis centrolobulillar con proliferación de las células de Kupffer. La lesión pulmonar es consecuencia de la hemorragia y no de la inflamación (Camino, 2007).

Cuando las leptospiras invaden el músculo estriado provocan tumefacción, degeneración vacuolar de las miofibrillas y necrosis focal. En los casos graves, la vasculitis altera finalmente la microcirculación y aumenta la permeabilidad capilar con la consiguiente pérdida de líquidos e hipovolemia (Ginebra, 2001).

Cuando se forman anticuerpos las leptospiras se eliminan de todos los lugares del hospedador, excepto del ojo, los túbulos proximales renales y probablemente del cerebro, donde pueden persistir durante semanas o meses. La persistencia de las leptospiras en el humor acuoso da lugar ocasionalmente a uveítis crónica o recidivante. La respuesta inmunitaria generalizada ayuda a eliminar el microorganismo, pero también puede ocasionar una reacción inflamatoria sintomática. El incremento del título de anticuerpos coincide con la aparición de meningitis; esta relación sugiere un posible mecanismo inmunitario (Campos, 2014).

6.6 Epidemiología

Según Luna (2008), La infección provocada por la serovariedad Canícola se considera la más común, siendo la transmisión a través de la orina de perros infectados. Por otro lado, la leptospirosis canina debida a la serovariedad Icterohaemorrhagiae es menos frecuente y se asocia a la presencia de ratas al ser éstas las portadoras y transmisoras de esta. Debe considerarse que ambas pueden infectar al hombre, por lo que su presencia en la población canina resulta de importancia para la salud pública.

Los reservorios o huéspedes de mantenimiento de las leptospiras son aquellas especies animales infectadas crónicamente en los túbulos renales proximales, a las cuales les causan poco o ningún daño (Moral, 2014).

Las ratas han sido identificadas como huéspedes de mantenimiento de las serovariedades Icterohaemorrhagiae y Copenhageni; ratones de Arborea, Ballum y Bin; ganado vacuno de Pomona, Hardjo y Grippytyphosa; cerdos de Pomona, Tarassovi y Bratislava; perros de Canicola y marsupiales de Grippythyphosa (Cano, 2012).

La identificación de huéspedes de mantenimiento y su asociación con las especies animales cobra importancia al estudiar la epidemiología de la transmisión de la *Leptospira* spp. en una localidad, con el fin de direccionar las medidas de control (Caminoa, 2007).

Animales que actúan como huéspedes de mantenimiento de unas serovariedades pueden ser huéspedes accidentales de otras y sufrir la enfermedad. El humano es un huésped accidental y no se han reportado casos de infección de persona a persona; sin embargo, una excreción de la *Leptospira* spp. hasta seis semanas después de haberse recuperado de la infección fue reportada recientemente (Caminoa, 2007).

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica desatendida de origen bacteriano. Los factores de riesgo para la infección en humanos incluyen la exposición directa o indirecta a orina o ambientes contaminados con la bacteria, ya sea por actividades relacionadas con la ocupación (ganaderos, agricultores, granjeros, jardineros, carniceros), acuáticas recreacionales o por nivel socioeconómico (pobreza, deficiencia sanitaria (Cano, 2012).

El período de sobrevivencia de las leptospiras patógenas en el agua y en el suelo varía según la temperatura, el pH, la salinidad o el grado de contaminación: mueren con la desecación, toleran temperaturas bajas, pero no superiores a 40°C; el pH óptimo para su multiplicación es 7,2- 7,4 y son destruidas en medios ácidos o en alcalinidad superior a pH 8. En el agua salada no sobreviven, pero pueden permanecer semanas en agua dulce con condiciones físico químicas favorables. La radiación ultravioleta las inactiva (Luna, 2008).

6.7 Patogénesis

Los factores que influyen en el contagio de las leptospiras son poco entendidos. Algunos serovares tienden, en general, a causar una enfermedad leve, mientras otros ocasionan una enfermedad severa. Sin embargo, no existe una presentación específica de la infección para un serovar, cualquier serovar puede causar una enfermedad leve o severa dependiendo del huésped (Ginebra, 2001).

Para (Acosta , Moreno & Viáfara, 1994), La lesión histopatológica básica en la leptospirosis es una vasculitis con compromiso multisistémico, donde el riñón y el hígado

son los órganos que padecen más frecuencia. En los casos severos (síndrome de Weil) se encuentra hemorragia generalizada que compromete principalmente músculos esqueléticos, riñón, glándulas suprarrenales, pulmones, piel, tubo digestivo y bazo. Entre los factores que explican la tendencia hemorrágica están la vasculitis, la trombocitopenia y la hipotrombinemia

Después de un período de incubación de 7-12 días los síntomas aparecen bruscamente. Las manifestaciones van desde infección subclínica (común en veterinarios y cuidadores de animales), o un cuadro anictérico que ocurre en la mayoría (90% a 95%) hasta una forma ictérica severa llamada enfermedad de Weil, en 5% a 10% de los casos (Acosta, y otros 1994).

6.7.1 Forma anictérica

Según (Acosta, y otros 1994); La forma anictérica constituye de 90 a 95% de los casos y presenta 2 fases:

Fase 1 o infecciosa. - Dura de 4 a 9 días. Hay instalación abrupta de cefalea, fiebre alta, escalofríos y mialgias severas, sobre todo en los miembros inferiores, en ocasiones acompañadas de hiperestesias. La anorexia, las náuseas y el vómito ocurren en la mitad o más de los pacientes. Hay compromiso del sensorio (25%), inyección conjuntival, conjuntivitis y exantema que puede ser maculopapular, macular o urticarial. La hepatoesplenomegalia puede ocurrir, pero es más bien rara. Esta fase coincide con la presencia de la leptospira en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en la sangre (Dammert, 2005).

Fase 2 o inmune. - Aparece después de un período corto de 2 a 3 días de disminución importante de síntomas y fiebre (corresponde a la aparición de leptospira en la sangre y del LCR), y dura de 1 a 3 días. Las manifestaciones clínicas son más acentuadas que en la fase 1. Hay reaparición de fiebre, casi siempre más baja que la fase 1, o puede faltar, y se agrega delirio. Hay cefalea intensa persistente que no responde a analgésicos comunes. Se encuentran mialgias severas que comprometen en especial los gastronemios, la región paraespinal, el abdomen y el cuello. También hay adenopatías, hepatomegalia,

esplenomegalia en 15-25% de los casos y erupción. A nivel ocular y en forma característica se presenta fotofobia, dolor, hemorragia conjuntival e iridociclitis (Dammert, 2005).

6.7.2 Forma ictérica (síndrome de weil)

Esta forma representa de 5 a 10% de los casos y es considerada la más severa de la enfermedad. Por lo general su curso clínico es continuo y no bifásico como la forma anictérica. Los síntomas iniciales son similares a los de ésta, pero en el día tercero o sexto aparece ictericia progresiva con niveles de bilirrubina no mayores de 20 mg/dl y fosfatasa alcalina moderadamente elevada (Dammert, 2005).

Se presencia dolor en el hipocondrio derecho, hepatomegalia leve o moderada, y alza de aminotransferasas que raramente excede 5 veces los valores normales. Las hemorragias generalizadas constituyen una de las manifestaciones clínicas más notorias de esta forma de enfermedad, epistaxis, sangrado del tracto gastrointestinal, hemorragias pulmonares que dan infiltrados pulmonares hasta en 40% de los casos. Además, hay sangrado a nivel de las glándulas suprarrenales y el sistema nervioso central (Acosta, 1994).

Esta tendencia hemorrágica se puede explicar por la vasculitis generalizada, la trombocitopenia presente hasta en 50% de los casos y en menor grado por la hipotrombinemia. El colapso cardiovascular por lo general es la causa de muerte en estos pacientes. En el desarrollo de esta complicación se han implicado factores tipo endotoxinas aún no estudiados (Acosta, 1994).

6.8 Producción de toxina

Los hallazgos histopatológicos en los animales de laboratorio y en los seres humanos son lesiones muy similares a las del choque endotóxico. Sin embargo, en el hombre no se ha determinado claramente la posible participación de endotoxinas en esta enfermedad. Estas se consideraron como causas del cuadro el daño producido por la lisis del microorganismo más que su misma presencia, pero la naturaleza de estos agentes y sus efectos tóxicos todavía no se encuentran bien (Campos, 2014).

6.8.1 Adhesión

Entre los factores putativos de colonización del tejido del huésped están las adhesinas; se han identificado los genes *Lig* (*lig A* y *lig B*), que codifican proteínas de superficie que contienen dominios parecidos a las inmunoglobulinas, las cuales se unen a la elastina, tropoelastina, laminina y fibronectina. Genes que codifican proteínas de membrana parecidas a la endostatina humana (proteínas de la familia Len) se unen a la laminina, fibrinógeno y fibronectina y el gen *lipL32*, que codifica la lipoproteína, que fue considerada de superficie pero que se ha demostrado está ubicada en la superficie. *LipL32*; esta lipoproteína está altamente conservada en leptospirosas patógenas, se une al colágeno I, IV, V, laminina y a la fibronectina dependiente de calcio. Otras proteínas potencialmente involucradas en la patogénesis de esta bacteria están siendo continuamente caracterizadas (Cano, 2012).

6.9 Mecanismos inmunológicos

La vacunación contra la leptospirosis se limitaba a aquellos perros en situaciones de riesgo y no se incluía rutinariamente en los programas de vacunación básicos. Esto se debe a varios motivos: en principio, la inmunidad conferida por la mayoría de las vacunas disponibles sólo brinda protección contra la enfermedad clínica pero no previene el desarrollo del estado de portador renal. De hecho, se ha demostrado infección y leptospirosis en perros sanos vacunados y el desarrollo de enfermedad en humanos a partir de estos animales (Luna, 2008).

Por otro lado, una inmunización inicial adecuada utilizando muchos de los productos disponibles requiere 3 o 4 inyecciones con un intervalo de 2-3 semanas para conferir inmunidad por sólo 6 a 8 meses. Finalmente, la vacunación contra la leptospirosis ha sido asociada con una alta incidencia de reacciones post-vacunales. Esto se ve potenciado generalmente por los adyuvantes incluidos en estas vacunas (Zoetis, 2013).

6.10 Leptospirosis Animal

6.10.1 Signos clínicos

Los signos clínicos pueden estar ausente o sucederse en forma rápida. Los más frecuentes son hipertermia, conjuntivas y mucosas hiperémicas, debilidad, depresión, adinamia, anorexia, vómitos, hemorragias, oliguria, anuria, lumbalgia, dolor renal a la palpación, mialgias, diarrea, ictericia, convulsiones, glositis, estomatitis, disnea, poliuria, hipotermia y muerte. Puede cursar con distintos tipos: subclínico, septicémico agudo, infección ambulatoria o crónica (Caminoa, 2007).

Los síntomas pueden ser agudos o crónicos. En los casos agudos la leptospiremia másica da lugar a una vasculitis e incluso una CID. También se produce fallo renal agudo y necrosis hepática con colestasis. Destaca una orina oscura con presencia de hemoglobina, proteinuria, glucosuria y si se observa al microscopio óptico cilindros granulosos, eritrocitos y leucocitos. Analíticamente existe linfopenia con leucocitosis, trombocitopenia, azotemia, aumento de enzimas de necrosis y colestasis hepática hiponatremia e incluso CID (Ordeix, 2010).

6.10.2 Patología

La leptospirosis puede ser considerada como una enfermedad aguda y sistémica. La fisiopatología de la enfermedad estaría relacionada con varios mecanismos interrelacionados, como alteración de los endotelios de la microcirculación, formación de complejos inmunes, acción de toxinas, hipoxia tisular y fenómenos hemorrágicos (Zoetis, 2013).

6.10.3 Patología clínica

Según Moral (2014), Después de la infección, se produce una vasculitis sistémica, con compromiso del endotelio predominantemente capilar, extravasación de sangre, y anoxia local relativa que puede generar hemorragia pulmonar, nefritis intersticial y tubular, daño vascular de capilares hepáticos, presencia de colestasis intrahepática, inflamación meníngea y trombocitopenia, así como manifestaciones hemorrágicas secundarias a vasculitis y plaquetopenia.

6.10.4 Inmunidad y vacunación

La respuesta inmune inicial es de tipo celular reconociendo antígenos propios de la bacteria, como son los lipopolisacáridos (LPS) de las leptospiras, por medio de receptores tipo Toll (TLR), TLR2 y TLR4, los cuales activan los factores nucleares, como NF-kB, que inducen la producción de citoquinas inflamatorias (IL-1b, IL-6, IL-8) y el factor de necrosis tumoral (TNF). Esta respuesta celular es descrita en la leptospirosis a pesar de la capacidad de las leptospiras de evadir la fagocitosis y el complemento (Rao, y otros 2003).

La respuesta inmune en la leptospirosis es predominantemente humoral en humanos y en la mayoría de las especies animales. Muchos estudios demostraron que esta inmunidad puede ser transferida pasivamente por humanos convalecientes o suero animal, ya sea por antisuero producido experimentalmente o por anticuerpos monoclonales. El organismo consigue montar una respuesta específica contra el serovar infectante, mediante la producción de anticuerpos IgM e IgG, además de la producción de interferón gamma y la respuesta asociada a células T4 (CD4+) (Bernardi & Ctenas, 2012).

Las vacunas para humanos y animales han sido usadas desde 1920; casi todas eran preparadas con leptospiras inactivadas por una variedad de métodos como calor, formalina, fenol, irradiación (Rao, y otros 2003).

En la actualidad existen diversas vacunas contra la leptospirosis. Las más conocidas son las vacunas inactivadas, las cuales son emulsiones con mínimo 3 serovares. Tanto en los animales como en los humanos, las vacunas son serovar específicas, y protegen por un corto período de tiempo; por ello la revacunación en distintos intervalos es necesaria para mantener los títulos de anticuerpos protectores. Estas vacunas están enfocadas en la situación local de la enfermedad y no representan la realidad de otras áreas con otros serovares endémicos (Bernardi & Ctenas, 2012).

6.11 Diagnóstico de la leptospirosis en el laboratorio

La leptospirosis es una enfermedad de urgencia clínica, en la cual es necesario realizar análisis complementarios a los estudios serológicos para poder diferenciarla de otros trastornos que pudieran provocar ictericia o una signología similar (Luna, 2008).

Para el diagnóstico de laboratorio se debe intentar el aislamiento durante la primera semana de evolución de los síntomas enviando sangre total heparinizada estéril. La muestra debe tomarse sin antibiótico terapia previa y extraída preferentemente durante el período febril (estado de leptospiremia) y debe acompañarse con una muestra de suero refrigerado, para tener un primer título serológico de base (Luna, 2008).

La identificación del microorganismo en cultivo o en la seroconversión, o en el incremento en el título de anticuerpos en la prueba de aglutinación microscópica (MAT). En sujetos con datos clínicos claros de infección, se necesita un solo título de anticuerpos de 1:400 a 1:800 en la MAT (Campos, 2014).

Los anticuerpos por lo común no alcanzan niveles detectables hasta la segunda semana de la enfermedad y su respuesta puede ser modificada por el tratamiento temprano. La prueba de aglutinación microscópica (MAT), que emplea una batería de cepas de leptospiras vivas y la prueba de inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), que utiliza muy diversos antígenos reactivos, son los métodos serológicos por excelencia (Dammert, 2005).

La interpretación de resultados en la MAT: se define que un caso es positivo cuando existe una seroconversión con un aumento de cuatro veces o más en los títulos de anticuerpos para uno o varios serovares entre la fase aguda y la de convalecencia, por lo que se recomienda

testear al menos dos muestras del suero del paciente con un intervalo de unos 15 días entre ambas. Un suero reactivo en dilución 1/50 o mayor se considera positivo. Un título de al menos 1:200 para un solo serovar luego del establecimiento de los síntomas, o títulos de 1:100 para varios serovares son sugestivos de leptospirosis requiriéndose sucesivas muestras para su confirmación (Acosta , Moreno & Viáfara, 1994).

Títulos mayores de 1/200 para uno o más serovares, o la seroconversión ya mencionada constituyen diagnóstico confirmatorio. Una reacción negativa en una sola muestra no descarta una posible infección, ya que la muestra de suero puede haber sido tomada prematuramente, antes de cumplirse al menos una semana de evolución desde el inicio de la enfermedad o más raramente, el paciente puede estar infectado por un serovar ausente en la batería de antígenos utilizados y la respuesta inmune no ser suficientemente intensa todavía como para producir reacciones cruzadas detectables con otros serovares (Acosta , Moreno & Viáfara, 1994).

El diagnóstico de las infecciones con *Leptospira* spp. es usualmente realizado con pruebas serológicas y por aislamiento. La prueba serológica de oro es la microaglutinación (MAT), vista con un microscopio de campo oscuro, en el que los anticuerpos de los sueros de los pacientes aglutinan leptospirosas vivas de una batería de serovariedades de referencia (incluyendo idealmente serovariedades caracterizados de la localidad de donde provienen los pacientes) representantes de los principales serogrupos patógenos (Romero & Falconar, 2016).

Otra prueba de oro es el aislamiento de la *Leptospira* spp. de muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo o fluidos corporales durante los primeros 10 días de la enfermedad, o de muestras de orina en la fase inmune de la misma; estas muestras se inoculan en medio de cultivo (Romero & Falconar, 2016).

La vacunación de perros y otros animales previene la enfermedad, pero no previene la infección o transmisión. La vacuna hasta ahora, es específica solamente para las serovariedades utilizadas (Romero & Falconar, 2016).

7.-DISEÑO METODOLÓGICO

El presente trabajo de investigación fue un estudio descriptivo transversal, donde se describieron las características de caninos con respecto a la exposición a leptospiras patógenas en las parroquias urbanas de Portoviejo, ejecutado desde el mes de febrero hasta el mes de noviembre del año 2019.

La investigación se dividió en dos etapas: la primera etapa consistió en la recolección de muestras de suero sanguíneo y la aplicación de una encuesta epidemiológica, y en la segunda etapa se realizó el procesamiento de muestras en el área de leptospira del laboratorio de ciencias agropecuarias ubicado en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana,

7.1 Cálculo del tamaño muestral

Para el cálculo del tamaño muestral para seleccionar el número de clínicas o centros veterinarios, así como el número de animales, se utilizó la fórmula de proporción, asumiendo un nivel de significancia del 95%, una prevalencia esperada del 50% y un error del 5%, obteniendo un total de 14 clínicas por muestrear, las mismas que fueron seleccionadas a partir de los registros existentes en Agrocalidad perteneciente al Ministerio de Agricultura Ganadería Acuicultura y Pesca (MAGAP).

$$n = \frac{Z_a^2 \times p \times q}{d^2}$$

Donde

n= Tamaño de la muestra

Z= 1,96 para el 95% de confianza

p= Frecuencia esperada del factor a estudiar (0,5)

q= 1- p

d= Error esperado (0,05)

n= 378

7.2 Tipo de muestreo y tamaño muestral

Se realizó un muestreo aleatorio simple para la selección de las clínicas veterinarias y proporcional por estratos de acuerdo al tamaño, las cuales fueron clasificadas previamente en función al número de caninos que llegan a la consulta (Grandes, Medianas y Pequeñas). El número de muestras recolectadas por clínicas dentro del estratos se estableció en base a los mismos estimadores utilizados para el cálculo del tamaño muestral a través de la fórmula de proporciones para poblaciones desconocida, detallados en la tabla 1

Tabla 1. Numero de clínicas y animales por estrato a ser considerados en el muestreo

Estratos	N	n	Caninos
Grandes	5	4	63
Medianas	8	7	101
Pequeñas	17	15	214
Total	30	26	378

7.3 Procesamiento de muestras

Los animales seleccionados fueron los perros aparentemente sanos que acudían a las clínicas veterinarias para consultas, baños o peluquería, con consentimiento informado por parte del dueño

La muestra sanguínea fue recolectada de la vena cefálica por medio de técnica de venopunción 3 a 5ml de sangre fue extraído con ayuda de jeringas estériles, y posteriormente trasvasadas en tubos estériles (sin anticoagulante), cada tubo rotulado fue colocado en gradillas, conjuntamente a la toma de muestra se llevo a cabo la aplicación de una encuesta epidemiológica a los propietarios detallada en el Anexo 1.

Posterior a ello, se procedió a transportar las muestras al área de leptospira ubicado en los laboratorios Agropecuarios de la UTM ubicados en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana, donde se procedió a separar el suero sanguíneo y conservarlo a -20°C hasta su posterior procesamiento.

7.4. Prueba de laboratorio

7.4.1. Prueba de Aglutinación Microscópica

La prueba Mat se utilizó para detectar anticuerpos contra leptospira en el suero canino enfrentándolo a las serovariedades de leptospira como antígenos (Tabla 2). Se eligieron los cultivos con buen crecimiento y con una densidad aproximada de 2×10^8 Leptospira. La prueba MAT consistió en dos momentos,

Screening.

Se usó una microplaca, donde se agregó 50 μ l de suero fisiológico, 50 μ l de una dilución de suero a una concentración de 0,04 por cada μ l, y 50 μ l de antígeno (cultivo). Posterior a esto se lo llevó a incubación por 1 horas a 37°C, posterior a ello se procedió a su observación en microscopio de campo oscuro.

Titulación

Las muestras seroreaccionantes al screening fueron utilizadas en la titulación, donde cada pocillo de la microplaca fue diluido logarítmicamente de 1:100 a 1:6400.

Se declaro una muestra positiva al MAT tanto al screening como a la titulación aquella muestra donde el 50% del campo observado presentaba aglutinación.

Tabla 2: Especie de Leptospira, Serovar y Serogrupo utilizados en el MAT. Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

Especie	Serovar	Cepa	Serogrupo
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Hond Utrecht IV	Canicola
<i>L. interrogans</i>	Hardjo	Hardjoprattjino	Sejroe
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Perepelicin	Tarassovi

7.5 Análisis estadístico

Para el cálculo de la prevalencia será considerada la siguiente formula:

Prevalencia= (Nº de animales positivos al MAT/Total de animales muestreados) % 100

El análisis estadístico de asociación entre las características individuales (anexo1) y la positividad al MAT se realizará mediante la Prueba Exacta de Fisher tomando en cuenta un valor de p inferior a 0,05 y un intervalo de confianza (IC) del 95%, a partir de las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula (H_0): Las características de los animales y la positividad al MAT son independientes.

Hipótesis nula (H_A): Las características de los animales y la positividad al MAT no son independientes.

8. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el trabajo de investigación fueron:

8.1. Características de los animales muestreados de acuerdo a la procedencia y sexo del cantón Portoviejo

Los animales muestreados de las diferentes parroquias urbanas del cantón portoviejo estuvieron integrados por 380 animales provenientes de las 8 parroquias urbanas, los porcentajes son observados en la tabla 3. En relacion al sexo, los animales muestreados el 55% fueron machos y el 45% hembras.

Tabla 3: Parroquias urbanas de la ciudad de Portoviejo consideradas para la investigación

PARROQUIAS	HEMBRAS	MACHOS	MUESTRAS	PORCENTAJE
12 de Marzo	46	36	82	21,5
18 de Octubre	38	56	94	24,7
Andrés de Vera	15	19	34	8,9
Francisco Pacheco	10	14	24	6,3
Picoazá	22	30	52	13,6
Portoviejo	21	33	54	14,2
San Pablo	15	21	36	9,4
Simón Bolívar	4	0	4	1,0
Total	171	209	380	100,0

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.2. Serorreacción de los animales muestreados de acuerdo a la procedencia en el Cantón Portoviejo

El 12,6% del total de las muestras fueron positivas al MAT, en caninos domésticos de las parroquias urbanas del cantón Portoviejo (Tabla 3).

De entre las parroquias urbanas correspondientes a la ciudad de Portoviejo, se determinó que del total de las seroconversiones la parroquia 12 de Marzo presento el 3,16% de las muestras que seroconvirtieron, seguida por la parroquia 18 de Octubre con 2,89%; parroquia Portoviejo con 1,84%; parroquia Picoazá con 1,57%; parroquia San Pablo con 1,31%, parroquias Andrés de Vera y Francisco Pacheco con 0,78% para cada una y con la parroquia Simón Bolívar con un 0,26%. Las proporciones de positivos al MAT por parroquia urbana no son estadísticamente significativas, es decir, que las proporciones de seroconversión entre las parroquias se presentan en igual medida en todas ellas.

Tabla 4: Caninos positivos al MAT según la parroquia de procedencia.

PARROQUIAS	Clínicas	MAT		%
		Positivo	Negativo	
12 de Marzo	7	12	70	14,6
18 de Octubre	7	11	83	11,7
Andrés de Vera	5	3	31	8,8
Francisco Pacheco	1	3	21	12,5
Picoazá	3	6	42	12,5
Portoviejo	10	7	47	12,9
San Pablo	6	5	31	13,9
Simón Bolívar	1	1	3	25,0
Total		48	332	12,6

Valor P: 0,9608 Prueba Exacta de Fisher

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.3. Características de los animales muestreados según el sexo

Al evaluar las características de los animales muestreados de acuerdo al sexo se puede apreciar que del total de animales muestreados el 5,8% de las muestras seropositivas fueron de hembras y el 6% de las muestras fueron de machos. La seropositividad del sexo para MAT de acuerdo a las parroquias urbanas no resultó ser estadísticamente diferentes, es decir que el sexo de los caninos muestreados dentro de las parroquias urbanas del cantón Portoviejo, no influye en la seropositividad al MAT contra leptospira.

Tabla 5: Canino positivos al MAT según su sexo.

PARROQUIAS	HEMBRA		MACHOS		Valor p
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	
12 de Marzo	9	37	3	33	0,2126
18 de Octubre	5	33	6	50	0,7521
Andrés de Vera	2	13	1	18	0,5714
Francisco Pacheco	2	8	1	13	0,5504
Picoazá	2	20	4	26	1,0000
Portoviejo	3	18	4	29	1,0000
San Pablo	1	14	4	17	0,3761
Simón Bolívar	1	3	0	0	1,0000
Positivos	25	146	23	186	

Valor P: 0,352 Prueba Exacta de Fisher

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.4. Características de los Caninos domésticos positivos al MAT agrupados por edad

Al evaluar la edad del total de animales que seroreaccionaron positivos al MAT el 7,36% pertenecieron al grupo de 0 a 1 años de edad,; el 3,15% fueron del grupo etario de 2 a 4 años; el 1,31% fueron de 5 a 7 años y el 0,78% fueron mayores de 8 años, Cuando evaluamos las proporciones de seroconversión por estrato etario, las proporciones fueron similares entre los animales por lo que no se consideró como un factor determinante para la ocurrencia de la seropositividad a leptospira por la técnica del MAT.

Tabla 6: Caninos positivos agrupados por edad.

PARROQUIA URBANA	EDAD EN AÑOS			
	0 < 1	2 > 4	5 > 7	>8
12 de Marzo	8	4	0	0
18 de Octubre	5	4	1	1
Andrés de Vera	3	0	0	0
Francisco Pacheco	0	1	2	0
Picoazá	1	1	2	1
Portoviejo	7	0	0	0
San Pablo	3	2	0	1
Simón Bolívar	1	0	0	0
Positivos	28	12	5	3
Negativos	205	66	37	24
Prevalencia	13,7	18,2	13,5	12,5

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

Valor P: 0,8652 Prueba Exacta de Fisher

8.5. Serovares reaccionantes en los caninos domésticos del cantón Portoviejo

Al evaluar los serovares a los que reaccionaron las muestras analizadas, se observó que los serovares más frecuentes fueron Canicola y Tarassovi las seroconversiones individuales por parroquia son descritos en la tabla 7.

Tabla 7: Frecuencia de serovares e IC95% en Caninos de las parroquias Urbanas de Portoviejo

PARROQUIAS	POSITIVOS	SEROVARES		
		CANICOLA	HARDJO	TARASSOVI
12 de Marzo	12	9	2	4
18 de Octubre	11	4	3	5
Andrés de Vera	3	3	0	0
Francisco Pacheco	3	1	1	2
Picoazá	6	2	2	2
Portoviejo	7	3	1	3
San Pablo	5	2	1	2
Simón Bolívar	1	0	0	1
Positivos	48	24	10	19
Negativos	332	356	370	361
Porcentaje	12,6	6,3	2,6	5,0
IC95%	9,3-16,0	3,9-8,8	1,0-4,2	2,8-7,2

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.6 Títulos alcanzados en los animales seroreactivo al MAT contra leptospira en muestras de caninos de las parroquias urbanas del cantón Portoviejo

Al evaluar los títulos de anticuerpos observados en los diferentes serovares utilizados en el panel diagnóstico se identificó que el 71,6% reaccionaron a títulos de 1:100, el 24,5% a títulos de 1:200 y 3,7% a título de 1:400, en la tabla 8 se observan los diferentes títulos observados por serovar.

Tabla 8: Titulación de los serovares observados en los animales positivos al MAT.

Título	1:100	1:200	1:400	Total
Canicola	18	6	0	24
Hardjo	6	4	0	10
Tarassovi	14	3	2	19
Total	38	13	2	53

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.7 Características de los animales reaccionantes al MAT de acuerdo a los datos obtenidos de la encuesta epidemiológica

De un total de 380 pacientes muestreados de las parroquias urbanas del cantón Portoviejo, el 83,15% de los animales tenían hábito de pasear fuera de casa en compañía del propietario, y el 7,10% lo hacía sin el propietario; mientras que el 9,73% de los animales pertenecían todo el tiempo dentro de casa.

El 6% de los animales positivos al MAT pertenecieron al primer grupo (paseos con el propietario); el 0,5% de los animales positivos pertenecieron que salían solos de casa y el 2% de las muestras positivas provenía de perros que no salían de casa. Al comparar las proporciones de los animales positivos al MAT de acuerdo a su permanencia no se encontró diferencias significativas entre ellos.

8.7.1. Características de los Caninos domésticos positivos al MAT agrupados según su permanencia

Tabla 9: caninos muestreados agrupados según sus hábitos.

Características	Permanencia del perro			Total
	Sale con propietario	Sale sin propietario	No sale	
Positivos	38	2	8	48
Negativos	278	25	29	332
Porcentaje	12,0	7,4	21,6	12,6

Valor P: 0,1855 Prueba Exacta de Fisher

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.7.2 Características de los animales reaccionantes al MAT de acuerdo al contacto con roedores

El 88,68% de los caninos según los datos recogidos de las encuestas no tienen contacto con roedores; el 10% tienen un contacto transitorio y el 1,31% cohabitan con roedores de manera permanente. Cuando se relacionaron con la seropositividad al MAT se observó diferencias significativas entre las proporciones siendo los animales que conviven o cohabitan con los roedores más propensos a seroconvertir positivamente al MAT contra leptospira.

Tabla 10: Característica de los animales **reaccionantes** al MAT de acuerdo con el contacto existente con roedores.

Características	Observación Roedores			Total
	No	Transitoria	Permanente	
Positivos	38	8	2	48
Negativo	299	30	3	332
Porcentaje	11,3	21,0	40,0	12,6

Valor P: 0,04253 Prueba Exacta de Fisher

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.7.3 Características de los animales reaccionantes al MAT de acuerdo al contacto aguas estancadas

De las 380 caninos tomadas de las parroquias urbanas del cantón Portoviejo, el 89,47% de los propietarios alegan que no hay presencia de aguas estancadas en el entorno del canino, el 8,43% manifestó que hay aguas estancadas en su entorno y el 8,43% de los propietarios manifestaron que hay aguas estancadas permanentes en el entorno del canino.

Se estableció que el 11% de las muestras positivas al MAT, pertenecían a perros donde en su entorno no hay presencia de aguas estancadas, el 1% de las muestras reactivas pertenecían a perros donde hay presencia de aguas estancadas de forma transitoria y el 0,7% de las muestras reactivas pertenecían a perros donde en su entorno hay aguas estancadas de forma permanente. Los datos estadísticos de los caninos muestreados con presencia de aguas estancadas no son significativos, es decir, no hay una relación directa en este estudio sobre la presencia de aguas estancadas en el entorno de los caninos con la seroconversión a leptospira.

Tabla 11: característica de los que reaccionaron positivos al MAT y que en su entorno existía aguas estancadas.

Características	Aguas estancadas			Total
	No	Transitoria	Permanente	
Positivos	41	4	3	48
Negativo	299	28	5	332
Porcentaje	12,0	12,5	37,5	12,6

Valor P: 0,1324 Prueba Exacta de Fisher

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

8.7.4 Características de los animales reaccionantes al MAT que comparten hábitat con otras especies de animales domésticos

Cuando se evaluó la seropositividad de acuerdo con el compartimiento de su habitad con otras especies de animales domésticos el 6% de los animales comparten habitad con otros perros, el 6% lo comparten con gatos.

Tabla 12: Caninos positivos al MAT, que comparten habitat.

Características	Comparte habitat		
	No	Perros	Gatos
Positivos	9	23	23
Negativos	171	147	33
Porcentaje	5,0	13,5	41,1

Valor P: 2,427e-10 Prueba Exacta de Fisher

Fuente: (Velásquez & Garzón, 2019)

9.- DISCUSIÓN

La leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial altamente prevalente en zonas con alto rango de temperatura y pluviosidad. La localización de Ecuador en el trópico, especialmente la zona costera, provee condiciones ambientales que favorecen la multiplicación y dispersión de las especies del género *Leptospira*. Esto convierte a la leptospirosis en una de las enfermedades más comunes en esta zona (Adler & De la Peña Moctezuma, 2010; Manock, y otros, 2009; Caminoa, 2007; Everard & Everard, 1993). Por ello, Portoviejo, ciudad con clima semiárido, con una temperatura que oscila entre 23 y 31 °C, reúne las condiciones idóneas para que la leptospira pueda reproducirse y diseminarse entre las distintas especies animales que habitan la ciudad, inclusive al ser humano (MSP, 2015).

Datos de seroprevalencia a leptospiras patógenas en caninos domésticos de la ciudad de Portoviejo fueron reportados por Carreño y Cedeño (2013) donde observaron una prevalencia del 39% para caninos domésticos de la parroquia Calderón, a partir de una muestra de 253 sueros caninos sometidos a un panel diagnóstico del MAT integrado por 11 serovares, resultados estos, superiores a las reportadas en este estudio (12,6%); por otra parte Sosa, (2015), determinó una prevalencia del 17,9% de *Leptospira* en la ciudad de Portoviejo, con una batería diagnóstica de 7 serovares, Vaca (2017), obtuvo una prevalencia a leptospira a nivel de la provincia de Manabí de 23,5%, muestreando 534 sueros caninos con una batería diagnóstica de 5 serovares.

Las cepas de leptospira correspondientes a los serovares Canicola, Hardjo y Tarassovi, utilizadas en la batería diagnóstica en este estudio, dieron como resultado el 6,3% de positividad para el serovar Canicola, 5% para Tarassovi y 3% para Hardjo. En el trabajo de Carreño y Cedeño (2013) observaron que, de las muestras positivas, el 28% lo eran para Canicola, y no encontraron seropositividad para Tarassovi y Hardjo, coincidiendo con otros estudios elaborados por Sanchez (2010), donde la seropositividad de Canicola fue de 7% y no encontraron seroactividad para Hardjo y Tarassovi.

Al contrario que Navarrete et al. (1981); Rodríguez et al. (2004); Romero y Sanchez (2009); Pulido, y otros (2009), donde si hubo seropositividad a *Canicola*, *Tarassovi* y *Hardjo*. Estas diferencias podrían ser dadas por el contacto que tienen los caninos con otras especies de importancia zoonótica, y por ello, en el presente estudio algunas muestras de suero canino seroreaccionan a anticuerpos antes no encontrados.

Rubel, et al. (1997); Ward, et al. (2002) determinaron una mayor seroprevalencia en machos, afirmando que las costumbres sexuales de los machos, como el olfateo, lengüeteo y el cortejo al reunirse con varios miembros de su especie, posiblemente favorece la transmisión intraespecies de leptospira. Sin embargo, en el presente estudio no se encontró diferencias en la ocurrencia de la seroconversión en relación con el sexo, lo que da a pensar que hembras y machos tienen la misma probabilidad de exposición a leptospira en el ecosistema que se encuentran.

Al calcular la prevalencia según estrato etario, no se encontraron resultados estadísticamente significativos, coincidentes con lo reportado por Carreño y Cedeño (2013), los cuales, establecieron una prevalencia para caninos menores de un año en 12,6%, y el 26,4% en caninos mayores a un año, similares resultados obtuvieron en los estudios de Rubel, y otros (1997); Sánchez et al. (2010) donde la seropositividad fue mayor en caninos mayores de un año; a diferencia del trabajo Ward, y otros (2002) de donde se estableció una mayor prevalencia en caninos menores de un año. La mayor probabilidad a que los perros mayores de un año estén más expuestos a leptospira, se debe a que, en este grupo de edad, están más en contacto con la calle, ya sea por paseo o por descuido del propietario, al contrario que los perros más jóvenes, que pasan más en casa.

Los problemas del sistema de alcantarillado son comunes en las parroquias urbanas de la ciudad de Portoviejo. Existen zonas que no tienen este servicio básico, incrementando así, el riesgo de exposición a aguas contaminadas con orina de animales infectados (Levett, 2001) y la diseminación de leptospira. En el presente estudio se estableció que esta variable no es un factor primordial para la exposición a leptospira para los caninos de la ciudad de Portoviejo, la probabilidad de que los caninos domésticos, estén en constante contacto con aguas estancadas, es muy baja, al contrario que el estudio de Sosa (2015), que establece el

agua estancada como un factor clave para la exposición a leptospira por el hecho de que los caninos están en contacto con el agua y pueden beber de ella.

Un estudio realizado por el Municipio de Portoviejo y la Dirección Provincial de Salud (2002), pudieron determinar que, en las parroquias urbanas de la ciudad de Portoviejo, no se realizan campañas para exterminar a los roedores, y no se ejecutan planes de control para la multiplicación de los roedores, que redundan en enfermedades para el ser humano, tales como la leptospirosis, ya que han sido reportados como los reservorios más importantes de la leptospira. (Faine, et al. 2000; Vijayachari, 2008). En este estudio se halló que existe una asociación entre la seroconversión al MAT con el contacto con roedores, similares resultados fueron encontrados por Carreño y Cedeño (2013) donde observaron que el 92% de los caninos positivos estaban en contacto con roedores.

10.- CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio reportan un 12,6% de seroprevalencia a leptospira patógenas en caninos domésticos de la ciudad de Portoviejo, a su vez, los serovares encontrados en el estudio sugieran la importancia que desempeñan el contacto con otras especies de animales, como porcinos, bovinos y roedores, en la epidemiología de la leptospirosis canina.

Las variables evaluadas en el estudio (edad, sexo, permanencia, contacto con aguas estancadas) no presentaron diferencias significativas con la seropositividad a leptospira.

Los caninos domésticos con contacto con roedores tienen una alta probabilidad de exposición a leptospira.

La presencia de seroconversión a serovares como Hardjo y Tarassovi, demuestra la exposición a la bacteria proveniente de otros reservorios animales donde estos serovares se encuentran de una manera adaptadas a especie animales como el bovino, cerdos y equinos.

11.-RECOMENDACIONES

Al término del presente estudio, podemos recomendar a las autoridades de salud competentes, realizar planes de control y erradicación de roedores en la ciudad de Portoviejo, para controlar la exposición a leptospira en los caninos domésticos.

Recopilar información local acerca de los serovares que se encuentran circulando en la ciudad de Portoviejo, dado que los mismos afectan a otras especies domésticas productivas y son potenciales responsables de la enfermedad en el ser humano.

Aumentar la batería diagnóstica en el área de Leptospira de la Universidad Técnica de Manabí permitiendo de esta manera evaluar otros serovares que no fueron identificados en este estudio.

Establecer jornadas de capacitación a los propietarios de las mascotas, para que tengan en cuenta el riesgo potencial que tienen al estar en contacto con animales infectados a leptospirosis patógenas y el riesgo de infectarse a través del contacto con la orina de animales infectados.

12.-PRESUPUESTO

Rubro	Cantidad	Precio Unit.	Total, USD
	unidades		
Materiales de laboratorio			
Jeringas	400	\$0,15	\$30,00
Torundas de algodón	2	\$0,10	\$20,00
Mascarillas	3	\$0,30	\$90,00
Guantes de manejo	3	\$0,50	\$175,00
Tubo sin EDTA	400	\$0,50	\$75,00
Tubos Ependorf	1000	\$7,60	\$7,60
Tubos Falcon Estériles	200	\$50,40	\$100,80
Puntas amarillas Grad. Renonlab	1000	\$3,00	\$3,00
Portaobjetos	150	\$4,50	\$675,00
Cloruro de Potasio	1	\$68,00	\$68,00
Leptospira Medium Base EMJH	1	\$64,00	\$64,00
Leptospira Enrichment EMJH	6	\$58,33	\$350,00
Cloruro de Sodio	1	\$26,00	\$26,00
Subtotal			\$1.684,40
Materiales de oficina			
Resmas de papel	2	\$5,00	\$10,00
Impresiones	1000	\$0.05	\$50,00
CD	5	\$1,00	\$5,00
Empastados	5	\$6,00	\$30,00
Movilización	70	\$8,20	\$574,00
Imprevistos	10	\$30	\$300,00
Subtotal			\$969,00
Total			\$3.622,40

13.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acha, & Szyfres. (2001). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. Washington: OPS.
2. Acosta , Moreno & Viáfara. (1994). Leptospirosis Revisión de tema. *Colombia Medica Vol. 25 no1*.
3. Adler, B., & De la Peña Moctezuma, A. (2010). Leptospira and leptospirosis. *Vet microbiology*, 287 - 296.
4. Agrocalidad. (2018). *MANUAL PARA EL REGISTRO DE EMPRESAS Y PRODUCTOS DE USO VETERINARIO*. Quito, Ecuador: AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO .
5. Alvarez, L., Calderon, A., Rodriguez, V., & Arrieta, G. (2011). Seroprevalencia de leptospirosis canina en una comunidad rural del municipio de ciénaga de oro, Córdoba (Colombia). *U.D.C.A Actualidad & divulgación científica*, 75-81.
6. Arteaga, G. (2013). *LEPTOSPIROSIS Y EL ENTORNO SOCIOCULTURAL, EN USUARIOS QUE ASISTEN AL SUBCENTRO DE SALUD HONORATO VASQUEZ DE LA COMUNIDAD LA LAGUNA CANTÓN SANTA ANA MANABÍ, PERÍODO DE 2013*. Obtenido de <http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/483/3/TESINA.pdf>
7. Bencomo, L. F., Alcalde, E. F., Fonte, N., & Ramirez , T. (2010). Manual de Zoonosis de aniamles de Laboratorios. *RedVet*.
8. Bernardi & Ctenas. (2012). *Receptores inmunes y moléculas de adhesión en la leptospirosis pulmonar humana*. São Paulo.
9. Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., . . . Vinetz, J. M. (Diciembre de 2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet*, 3, 757 - 771.
10. Birnbaum, N., Barr, S., Center, S., Schemerhorn, T., Randolph, J., & Simpson, K. (2008). Naturally acquired leptospirosis in 36 dog: serological and clinicopathological features. *J. Small Anim*, 231-236.
11. Caminoa, R. (2007). *MSD*. Recuperado el septiembre de 2019, de Leptospirosis canina: http://www.msd-salud-animal.com.ar/binaries/Informe_leptospirosis_tcm55-33327.pdf.
12. Campos, N. (2014). Leptospirosis. *Med. leg. Costa Rica vol.31 n.2 Heredia* .
13. Cano, C. (2012). *CASO CLINICO* . Obtenido de Leptospirosis en un canino: http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/689/1/CASO_CLINICO_LEPTOSPIROSIS_CANINO.pdf

14. Cañarte, M. (2013). *Leptospirosis*. Recuperado el septiembre de 2019, de PAHO: <https://www.paho.org/hq/index.php?opa%20menudo%20estacionalmente%20y%20vinculado%20a%20ciertas%20ocupaciones,%20a%20veces%20en%20forma%20de%20brotesal-leptospirosis&Itemid=0&lang=es>
15. Cañarte, M. (2013). *Paho*. Obtenido de Paho: <https://www.paho.org/hq/index.php?opa%20menudo%20estacionalmente%20y%20vinculado%20a%20ciertas%20ocupaciones,%20a%20veces%20en%20forma%20de%20brotesal-leptospirosis&Itemid=0&lang=es>
16. Carneiro, M., Giacomini, M., & Costa, J. (2004). Leptospirosis asociada a la exposición ocupacional: Estudio clínico y epidemiológico. *Chil infect*, 339 - 344.
17. Carreño Arteaga, M. A., & Cedeño Bravo, G. M. (2013). *Determinar la infección por leptospira SPP. en perro de la parroquia Calderón de la provincia de Manabí en el año 2013*. Portoviejo, Manabí, Ecuador: Universidad Técnica de Manabí.
18. Chavarin, A. (2015). *Detección de anticuerpos anti-Leptospira en perros callejeros de la ciudad de Barcelona*. Barcelona .
19. Chavez, O. (2012). *Información general: Leptospirosis*. Recuperado el septiembre de 2019, de PAHO: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=7821:2012-informacion-general-leptospirosis&Itemid=0&lang=es
20. Dammert, N. (2005). *LEPTOSPIROSIS: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA*. San Marcos.
21. Destoumieux-Garzon, D., Mavingui, P., Boetsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, P., . . . Voituron, Y. (2018). The One Health Concept: 10 Years Old and a Long Road Ahead. *Vet. Sci.*, 14.
22. Desvars, A., Naze, F., Vourc'h, G., Cardinale, E., Picardeau, M., Michault, A., & Bourhy, P. (2012). Similarities in *Leptospira* serogroup and species distribution in animals and humans in the indian ocean island of mayotte. *Trop. Med. Hyg*, 134-140.
23. Ecuared. (2010). *Leptospirosis*. Obtenido de <https://www.ecured.cu/Leptospirosis>
24. Ellis, W. (2014). Animal Leptospirosis. En W. Ellis, *Leptospira and leptospirosis*. Springer.
25. Everard, J., & Everard , C. (1993). Leptospirosis in the Caribbean. *Med. Microbiol*(4), 114-122.
26. Faine, S., Adler, B., Bolin, C., & Perolat, P. (2000). *Leptospira and leptospirosis* . *MediSci*(30), 93-111.

27. Ginebra, O. (2001). *Microorganismos espirilares*. Habana, Cuba: Microbiología y Parasitología Médicas Tomo 1.
28. Haake, & Levett. (25 de mayo de 2015). Leptospirosis in Humans. (A. manuscript, Ed.) *HHS* , 65 - 97. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4442676/pdf/nihms690013.pdf>
29. Lascano Armas, P. J., Arcos Alvarez, C., Lopez Crespo, G., Mendez Alvarez, M. S., Soria Parra, M., & Vallecillo Maza, A. (2017). Incidencia de leptospirosis en perros que habitan en zonas cercanas a la industria Animal en Ecuador. *Ciencia Animal*.
30. Lascano, P. (2017). Incidencia de leptospirosis en perros que habitan en zonas cercanas a la Industria Animal en Ecuador. *Ciencia Animal (Vol 1)*.
31. Levett, P. (2001). Leptospirosis. *Microbiol*, 296-326.
32. Luna, A., Moles, C., Gavaldon, R., Nava, V., Arrutia, V., & Salazar, G. (2008). La leptospirosis canina y su problemática en México. *Salud Anim.*, 1, 1-11.
33. Manock, S., Jacobsen, R., de Bravo, N., Russel, K., Negrete, M., Olson, J., & Kochel, T. (2009). Etiology of acute undifferentiated febrile illness in the Amazon basin of Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.*, 146-151.
34. Mendez, A. (2018). *Lebrija Digital*. Recuperado el octubre de 2019, de Lebrija Digital: <http://www.lebrijadigital.com/web/secciones/29-historia/2242-historia-la-domesticacion-animal-durante-el-neolitico>
35. Miller, M., Annis, K., Lappin, M., & Lunn, K. (2011). Variability in Results of the Microscopic Agglutination Test in Dogs with Clinical Leptospirosis and Dogs Vaccinated against Leptospirosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.
36. Ministerio de salud de Chile. (2007). *Epi.minsal*. Obtenido de Epi.minsal: <http://www.epi.minsal.cl/epi/html/enfer/leptospirosis.html>
37. MSP. (2015). *GACETA EPIDEMIOLOGICA SEMANAL No. 9*. Ministerio de Salud Publica del Ecuador, Subsecretaria de Vigilancia de la Salud Pública. Quito: Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Recuperado el 02 de junio de 2018, de <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2013/02/Gaceta-9-def.pdf>
38. Navarrete, M., Sejin, R., & Velez, P. (1981). Estudio preliminar de leptospirosis en caninos en la ciudad de Montería. *ICA*, 165-172.
39. OPS. (03 de abril de 2013). *Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud*. Obtenido de Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud: <http://epi.minsal.cl/epi/html/public/leptospirosis.htm>
40. Ordeix, L. (2010). *Leptospirosis canina: revisión de la enfermedad*. Obtenido de Affinity Petcare: <https://www.affinity-petcare.com/vetsandclinics/es/leptospirosis-canina-revision-de-la-enfermedad>

41. Panta, G. (2014). *calidad de aplicación del protocolo de atención de la leptospira según normas del ministerio de salud pública en el centro de salud 24 horas André de Vera, Noviembre 2013-2014*. Obtenido de <http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/286/1/TESISCALIDAD%20DE%20LA%20APLICACION%20DEL%20PROTOCOLO%20ATENCION%20LIPTOSPIROSIS.pdf>
42. Pino-Rodriguez, D., Márquez-Álvarez, M., & Rojas-Hoyos, N. A. (mayo-agosto de 2017). Aspectos demográficos de la población de perros con dueños del municipio Boyeros, Cuba. *Scielo*, 32(2).
43. Pinto, S., Libonati, H., Penna, B., & Lilenbaum, W. (2016). A Systematic review on the microscopic agglutination test seroepidemiology of bovine leptospirosis in Latin America. *Animal Health*, 239-348.
44. Pulido, M., Andrade, B., & Bermudez, C. (2009). Estudio epidemiológico de *Leptospira* spp en la población humana y canina de barrios marginales en la ciudad de Tunja, Boyacá. *Colomb Cienc Pecu*, 422.
45. Rao; Naveen; & Agarwal. (2003). Leptospirosis en India y el resto del mundo. *Revista Brasileña de Enfermedades infecciosas*.
46. Roacha, B., Van Vuurena, M., & Picard, J. (2010). A serological survey of antibodies to leptospira species in dogs in South Africa. *S Afr. Vet. Ver.*, 156-159.
47. Rodriguez, A., Ferro, B., Varona, M., & Santafe, M. (2004). Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali. *Biomedica*, 291-295.
48. Romero, C. M., & Falconar, A. A. (2016). *Leptospira* spp. y leptospirosis humana. *Scielo*, 32, 123- 143.
49. Romero, C., Cuello, P., Agudelo, F., Thiry, D., Levett, P., & Falconar, A. (2013). Cross-sectional study of leptospira seroprevalence in humans, rats, mice, and dogs in a main tropical sea-port city. *Trop. Med. Hyg*, 178-183.
50. Romero, P., & Sanchez, V. (2009). Seroprevalencia de la leptospirosis canina de tres municipios del departamento del Tolima Colombia. *MVZ Cordova*, 1684-1689.
51. Sanchez, A., Ballut, J., Calderon, A., & Rodriguez, V. (2010). Leptospirosis: Enfermedad Endémica en Caninos de Áreas Rurales de Montería (Córdoba). *Orinoquia*, 160-167.
52. Sandinismo. (16 de Octubre de 2010). *¿Qué es la leptospirosis?* Obtenido de <http://www.lavozdelsandinismo.com/ciencia-tecnica/2010-10-16/que-es-la-leptospirosis/>
53. Sandow, K., & Ramirez, W. (2007). Leptospirosis. *Scielo*, 44-50.

54. Segura, et al. (2005). *Clinical Spectrum of Pulmonary Involvement in Leptospirosis in a Region of Endemicity, with Quantification of Leptospiral Burden*. California.
55. Silva, R. F., & Riedemann, S. (2007). eroprevalencia de leptospirosis canina en caninos atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. *Med. Vet. Valdivia*, 269-274.
56. Siuce, J., Calle, S., Pinto, C., Pacheco, G., & Salvatierra, G. (2015). Identificación de serogrupos patógenos de *Leptospira* en canes domésticos. *Scielo*, 26(4).
57. Soman, M., Jayaprakasan, V., & Mini, M. (2014). Epidemiological study on human and canine leptospirosis in Central and North Kerala. *Veterinary Wolrd*, 759-764.
58. Sosa, A. R. (mayo de 2015). *Semanticscholar*. Recuperado el 2019, de <https://pdfs.semanticscholar.org/72c0/f577c410fcc0a52c3c87691c38ad16f7e06.pdf>
59. Sosa, I., Lugo, S., & Peña, J. (2008). *Poder Patógeno de los serogrupos de Leptospira de mayor importancia*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172015000400014
60. Soto, R. (Diciembre de 2007). *UAAAN.MX*. Obtenido de Repositorio Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro Unidad LAguna: [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2808/1278_RI CARDO%20HEBERTO%20SOTO%20MU%C3%91OZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2808/1278_RI%20CARDO%20HEBERTO%20SOTO%20MU%C3%91OZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
61. Vijayachari, P. (2008). Leptospirosis: an emerging global public health problem. *Biosci*, 557-569.
62. Vinetz, J. (2003). *A Mountain out of a Molehill: Do We Treat Acute Leptospirosis, and If So, with What?* Texas: Commentary.

14.-ANEXOS

14.1 Anexo 1 encuesta epidemiológica

Paciente:.....

Fecha:.....

Reseña

Especie:.....Raza:.....Sexo.....Edad.....

Motivo de la consulta:.....

Anamnesis:

Uso de mascota:

Guardia Compañía

Hábitos:

No sale Sale con el propietario Sale sin el propietario

Contacto con desechos:

Ninguna Esporádico Frecuente

Caza roedores:

Sí No

Presencia de aguas estancadas cerca de la vivienda:

No Transitoria Permanente

Observación de roedores:

No Transitoria Permanente

Vacunados contra leptospira:

Sí No Desconoce

Desparasitado:

Sí No Desconoce

Lugar de eliminación de excretas:

Calle Domicilio Ambas

Hábitos alimenticios:

Balanceado Casero Ambos

Examen Físico:

Peso:..... Mucosas:..... TLC:..... Hidratación:.....
Pulso:.....FR:..... Temperatura:.....

Presencia de signos clínicos en el momento:

Si No

Desde cuándo:

¿Comparte habitad con otras especies animales?

14.2 Anexo 2

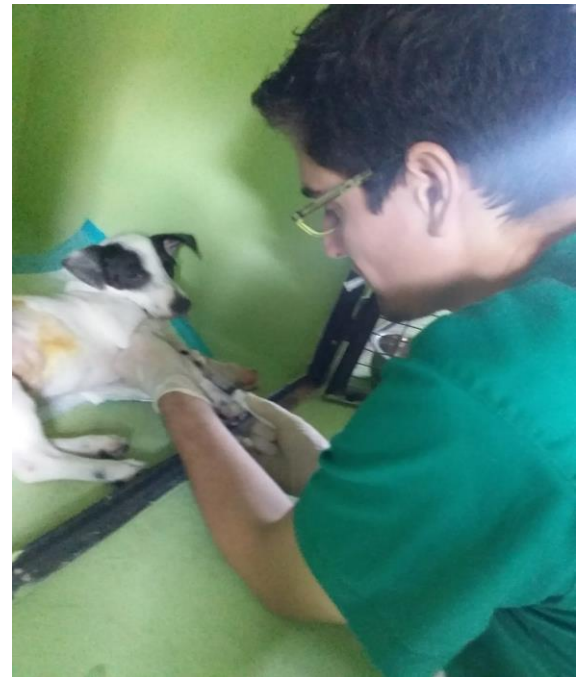
Códigos de las clínicas veterinarias

Código	CLINICAS VETERINARIAS
1	Animal Care
2	Chacón
3	Guillem
4	Morán
5	Conan
6	Felican
7	Gabriel Manzo Quiñónez
8	Integralvet
9	La Mascota
10	Malú Pets
11	Mascotas con Estilo
12	Mundo Animal
13	Pet Center
14	Chang

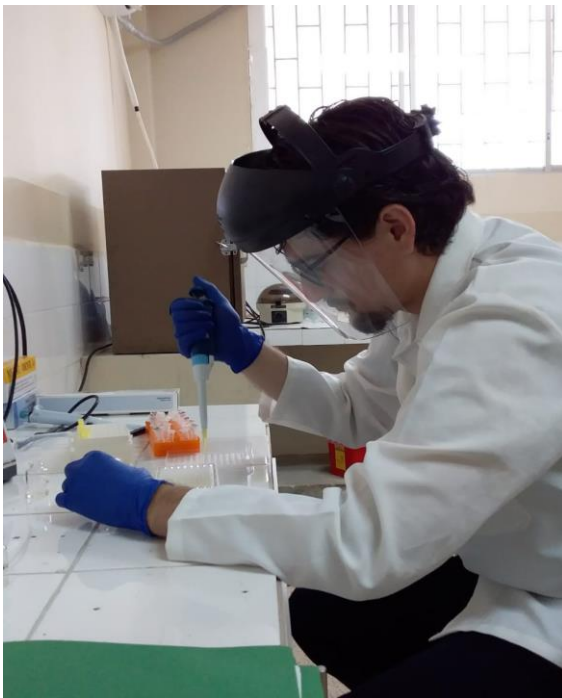
14.4 Anexo 4



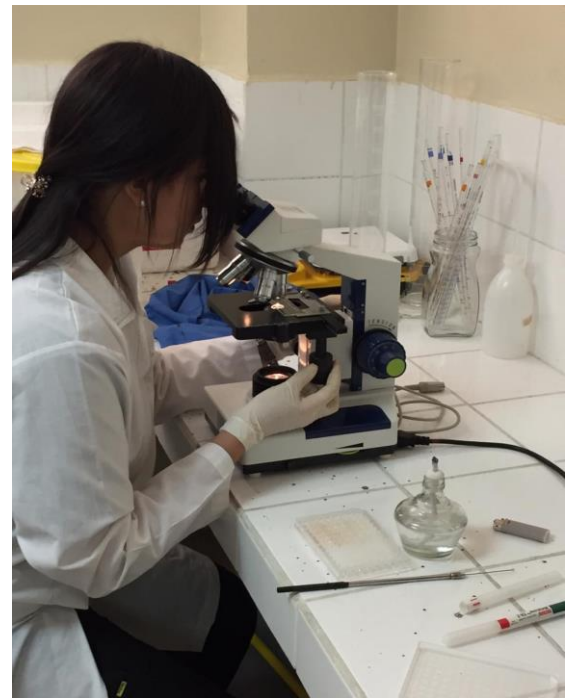
Recolección de muestra de la vena cefálica



Recolección de muestra



Colocación de los serovares en la micro placa para screening y titulación de las muestras



**Visualización en Microscopio
Campo oscuro**