

Identificación de Serogrupos Patógenos de *Leptospira* en Canes Domésticos

Identification of Pathogenic *Leptospira* Serogroups in Domestic Dogs

Juan Siuce M.¹, Sonia Calle E.^{1,2}, Chris E. Pinto J.¹, Gabriela Pacheco S.¹,
Guillermo Salvatierra R.¹

RESUMEN

La leptospirosis es una zoonosis bacteriana de gran impacto. Los perros y otros animales pueden infectarse, constituyendo un factor importante en la diseminación de la bacteria al humano. La infección es causada por cualquiera de los serovares patógenos de los 25 serogrupos de *Leptospira* spp. El estudio tuvo como objetivo identificar serogrupos de *Leptospira* spp presentes en perros con diagnóstico clínico presuntivo de leptospirosis de la ciudad de Lima. Se obtuvieron 305 muestras de suero sanguíneo de perros de 31 distritos de Lima Metropolitana. Se realizó la prueba de microaglutinación (MAT), estableciéndose títulos $\geq 1/100$ de serorreactividad como seropositivos. Se utilizaron cepas de referencia de los 25 serogrupos, incluyendo al nuevo serogrupo Iquitos, serovar varillal, cepa VAR10, aislado y reportado en casos humanos en Perú. Se detectaron 177 seropositivos (58.0%), 31 (10.2%) de los cuales fueron coaglutinaciones. Los serogrupos reaccionaron contra 18 serogrupos siendo los de mayor frecuencia: Iquitos (15.1%), Tarassovi (12.1%), Canicola (12.1%), Australis (4.6%), Icterohaemorrhagiae (4.3%), Pomona (3.9%), Mini (3.3%) y Ballum (2.6%). No se identificaron serorreactivos en los serogrupos Bataviae, Celledoni, Hebdomadis, Louisiana, Panama, Ranarum y Sarmin.

Palabras clave: leptospirosis, *Leptospira*, MAT, serovar, serogrupo

¹ Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² E-mail: calleson@gmail.com

Recibido: 23 de febrero de 2015

Aceptado para publicación: 17 de julio de 2015

ABSTRACT

Leptospirosis is an important bacterial zoonosis worldwide. Dogs and other animals can be infected, constituting an important role in the spread of the bacteria to humans. The infection is caused by any of the pathogenic serovars of the 25 serogroups of *Leptospira* spp. The aim of this study was to identify serogroups of *Leptospira* spp in dogs that had presumptive diagnosis of leptospirosis. A total of 305 serum samples were obtained from dogs in 31 districts of Lima. The microagglutination test (MAT) was performed, establishing $\geq 1/100$ seroreactivity titre as seropositive using reference strains of the 25 serogroups, including the new Iquitos serogroup, Varillal serovar, strain Var10, isolated and reported in human cases in Peru. The frequency of seropositive samples was 58.0% and 10.2% were co-agglutinations. The seropositive reacted against 18 serogroups and the most frequent were: Iquitos (15.1%), Tarassovi (12.1%), Canicola (12.1%), Australis (4.6%), Icterohaemorrhagiae (4.3%), Pomona (3.9%), Mini (3.3%) and Ballum (2.6%). There were no seroreactors to serogroups Bataviae, Celledoni, Hebdomadis, Louisiana, Panama, Ranarum, and Sarmin.

Key words: dog, leptospirosis, *Leptospira*, MAT, serovar, serogroup

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis de impacto global en la salud pública, con cerca de 500 000 casos anuales y un rango de mortalidad de 5 a 20% (Dupouey *et al.*, 2013). La enfermedad se encuentra asociada a poblaciones con deficiencias sanitarias, especialmente en regiones tropicales (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; Evangelista y Cobum, 2010; Picardeu, 2013). Además, factores ambientales y naturales incrementan la presentación de la enfermedad en el verano o con el incremento de lluvias, así como con el fenómeno de El Niño e inundaciones (Levett, 2001; Pappas *et al.*, 2008).

La enfermedad es causada por espiroquetas patógenas del género *Leptospira*, que produce en el humano fiebre alta, insuficiencia renal y hepática, que en casos graves conlleva la muerte dentro de una sintomatología conocida como el Síndrome de Weil (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010). Los animales de producción, como el bovino,

ovino, caprino, porcino y equino, padecen principalmente de problemas reproductivos y merma en su productividad (Ko *et al.*, 2009). El perro presenta una alta sensibilidad a la enfermedad, con lesiones severas en riñones e hígado, y donde se han evidenciado cuatro formas de presentación o síndromes: icterica, hemorrágica, urémica (enfermedad de Stuttgart) y reproductiva (Bolin, 1996), mientras que en gatos solo se han reportado casos leves o a través de infecciones experimentales (Hartmann *et al.*, 2013).

El humano y los animales se infectan a través de las mucosas y superficies lesionadas o heridas y, en menor medida, por vía oral al exponerse directamente con orina de animales infectados o con fuentes de agua (acequias, riachuelos, lagunas, ríos). Los roedores son los principales diseminadores de la enfermedad, debido a su condición de portadores asintomáticos (Lau *et al.*, 2010; Nakamura *et al.*, 2013); sin embargo, los perros y otros animales pueden permanecer como portadores y eliminar continuamente la bacteria a través de la orina (Martins *et al.*, 2012).

Las leptospirosas poseen un lento crecimiento en los medios de cultivo, requiriendo cerca de dos meses para el diagnóstico (Oliveira, 1999). Además, poseen más de 250 serovariedades patógenas, que por su similitud antigénica están agrupadas en 25 serogrupos. Protocolos actuales de PCR no definen el serovar/serogrupo infectante, a pesar de distinguir entre especies patógenas y saprófitas (Stoddard *et al.*, 2009; Picardeau, 2013). Así, la prueba de Microaglutinación (MAT) es la herramienta diagnóstica de referencia internacional con mejor capacidad de distinguir y cuantificar anticuerpos contra determinado serogrupo (patógeno y saprófito). MAT emplea leptospirosas vivas como antígeno, correspondientes a serovares de referencia, o mejor aún, serovares autóctonos o más frecuentes. A pesar de ello, MAT requiere determinar títulos de anticuerpos, signos clínicos del paciente y análisis bioquímicos para definir una posible exposición, infección reciente o enfermedad (Picardeau, 2013; OIE, 2014).

En el país se ha estudiado la leptospirosis en humanos y especies animales, con resultados positivos en todas las especies estudiadas (Céspedes *et al.*, 2006). La leptospirosis canina es un hallazgo, o al menos un diagnóstico presuntivo, frecuente en las diversas clínicas veterinarias de Lima; de allí la importancia, tanto para el diagnóstico como para la producción de vacunas, de determinar los serovares/serogrupos circulantes de *Leptospira* spp en cada especie y zona geográfica. Además, la evaluación de la leptospirosis canina puede estimar el riesgo de la enfermedad para el humano, teniendo gran impacto en la salud pública (Martins *et al.*, 2012). Por ello, el propósito del presente trabajo fue determinar los serogrupos de *Leptospira* spp presentes en perros de la zona de Lima con diagnóstico presuntivo de leptospirosis.

Muestras

Se obtuvieron muestras de sangre o suero de perros (*Canis lupus familiares*) con diagnóstico presuntivo de leptospirosis, remitidos por médicos veterinarios de clínicas veterinarias de Lima Metropolitana al Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima, Perú. En la historia clínica se describieron signos clínicos como fiebre, vómitos, hemorragias, oliguria, anuria, lumbalgia, dolor renal a la palpación, mialgias, diarrea, ictericia, convulsiones, poliuria, incremento de transaminasas y uremia.

El criterio de selección o inclusión de las muestras fue de animales mayores de seis meses de edad y sin vacunación contra leptospirosis o con más de seis meses desde la última vacunación. Se obtuvieron 305 muestras remitidas durante los años 2012 (n=107), 2013 (n=176) y 2014 (n=22), procedentes de 31 distritos de la ciudad de Lima. Los distritos pertenecen a cuatro zonas geográficas: Lima Centro (n=164), Lima Este (n=89), Lima Norte (n=20) y Lima Sur (n=32). Las muestras correspondieron a 193 machos y 112 hembras con edades de 0.5 a 3 años (n=87), 4 a 7 años (n=91), 8 a 11 años (n=78) y mayores de 11 años (n=49).

Muestras y Serología

Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 5 minutos. El suero resultante fue almacenado en microviales a -20 °C. La detección de anticuerpos contra leptospirosis se realizó con la prueba estándar de microaglutinación o aglutinación microscópica (MAT), según lo describe Faine (1982), y con las recomendaciones de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2014).

Cuadro 1. Serovares de *Leptospira* spp utilizados en la prueba de microaglutinación (MAT)

N°	Especie	Serogrupo	Serovar	Cepa
1	<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	Jez-bratislava
2	<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
3	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis	Castellon 3
4	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Van Tienen
5	<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
6	<i>L. weilii</i>	Celledoni	ND ¹	2011/01963
7	<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522 c
8	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	Djasiman
9	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moska V
10	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
11	<i>L. fainei</i>	Hurstbridge	Hurstbridge	BUT6
12	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Verdun
13	<i>L. licerasiae</i>	Iquitos	Varillal	VAR10
14	<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Poi
15	<i>L. noguchii</i>	Louisiana	Louisiana	LUC1945
16	<i>L. interrogans</i>	Manhao	Lincang	L14
17	<i>L. santarosai</i>	Mini	Georgia	LT117
18	<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214K
19	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
20	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	pyrogenes	Salinem
21	<i>L. meyeri</i>	Ranarum	Ranarum	ICF
22	<i>L. weilii</i>	Sarmin	Sarmin	Sarmin
23	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjobovis	Sponselee
24	<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342 K
25	<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin

¹ No determinado

Se seleccionaron serovares de referencia internacional de cada uno de los 25 serogrupos patógenos establecidos (Cuadro 1). Los serovares fueron obtenidos de la Unidad de Espiroquetas del Instituto Pasteur, Francia. El criterio de selección fue tomado del manual de leptospirosis (OMS, 2008), incluyéndose en el presente estudio el nuevo serogrupo Iquitos, serovar Varillal cepa Var10 (Matthias *et al.*, 2008).

Las leptospiras se cultivaron en tubos con 5 ml del medio de cultivo líquido específico para leptospiras, el Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), a 28 °C

durante 4-8 días. Se evaluó el crecimiento de cada serovar hasta obtener una cantidad de 1 a 2 x10⁸ leptospiras/ml, equivalente a una transmitancia de 60-70% utilizando un filtro de 400 nm (Espectofotómetro UNICO™, Modelo UV/VIS S2100). Luego se evaluó la viabilidad celular (movilidad) y la ausencia de contaminación, utilizando un microscopio de campo oscuro (OMS, 2008; OIE, 2014). Los tubos con un adecuado crecimiento se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su uso en la prueba de MAT. Los serovares disponibles se utilizaron el mismo día de comprobarse su crecimiento óptimo.

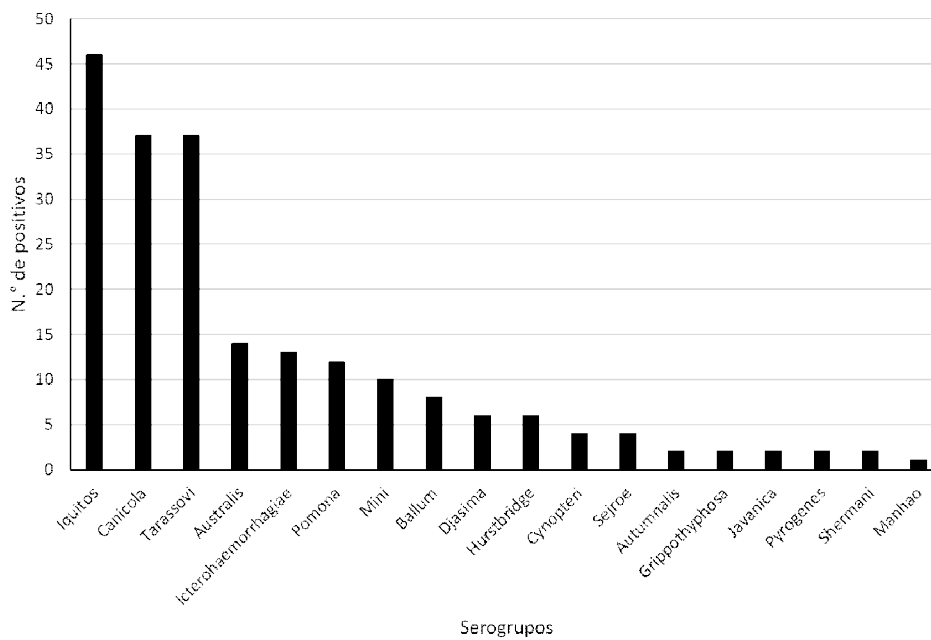


Figura 1. Seropositividad a *Leptospira* spp con la prueba de microaglutinación (MAT). Las barras muestra la frecuencia numérica de serogrupos patógenos de *Leptospira* spp (208 en 177 muestras positivas) en suero de perros con diagnóstico presuntivo de leptospirosis en Lima, Perú (2012-2014)

Las muestras se diluyeron en microplacas con solución salina fisiológica (CINa 0.85%) para evaluar títulos de 1/100, 1/200, 1/400, 1/800 y 1/1600 frente a antígenos vivos de leptospiras. Posterior a la incubación a 28 °C en oscuridad por 2 h, los sueros con aglutinación no menor del 50% de las leptospiras (comparadas con el antígeno control) fueron considerados seropositivos o serorreactivos al respectivo título o dilución (INS, 2002; OIE, 2014).

Las muestras reactivas a un título igual o mayor de 1/100 a determinado serovar y de su respectivo serogrupo de *Leptospira* se consideraron como positivas (Faine *et al.*, 1999; Picardeau, 2013). Las muestras reactivas a dos serogrupos con títulos iguales se consideraron como coaglutinaciones (OIE, 2014).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron expresados en forma porcentual. Además, se estableció la relación entre los niveles de positividad con las variables procedencia, edad y sexo mediante la prueba de regresión logística utilizando el paquete estadístico STATA 11.

RESULTADOS

El 58.0% (177/305) de las muestras resultaron positivas a por lo menos uno de los 18 serogrupos (Cuadro 2, Fig. 1). No hubo respuesta contra los serogrupos Bataviae, Celledoni, Hebdomadis, Louisiana, Panama, Ranarum y Sarmin.

Cuadro 2. Frecuencia de muestras positivas¹ a serogrupos de *Leptospira* spp (n=305)

Serogrupo	Frecuencia (%)
Iquitos	15.1
Tarassovi	12.1
Canicola	12.1
Australis	4.6
Icterohaemorrhagiae	4.3
Pomona	3.9
Mini	3.3
Ballum	2.6
Djasiman	2.0
Hurtsbridge	2.0
Sejroe	1.3
Cynopteri	1.3
Autumnalis	0.7
Grippotyphosa	0.7
Pyrogenes	0.7
Javanica	0.7
Shermani	0.7
Manhao	0.3

¹ 31 muestras fueron positivas a 2 serogrupos

Los títulos máximos de aglutinación de las muestras positivas a un serogrupo patógeno (146/177) de *Leptospira* spp fueron relativamente bajos en el caso de los serotipos más frecuentes; no obstante, algunos serovares alcanzaron títulos altos (Cuadro 3).

De los 177 seropositivos, 31 (10.2%) fueron coaglutinaciones a serogrupos patógenos de *Leptospira* spp. De estos, los serogrupos que más participaron en las coaglutinaciones fueron Canicola, Iquitos e Icterohaemorrhagiae con títulos entre 1/100 y 1/800 (Cuadro 4).

Los perros machos tuvieron mayor porcentaje de seropositividad (64.4%) que las hembras. Asimismo, mayor seropositividad se

presentó en perros con 4 a 11 años de edad (59.3%) y en aquellos procedentes de Lima Centro (52.0%). Los factores de riesgo se muestran en el Cuadro 5.

DISCUSIÓN

El presente estudio es el primero en el país en evaluar los 25 serogrupos patógenos de *Leptospira* spp que han sido descritos. El 58.0% de perros seropositivos a *Leptospira* spp fue similar al 67% (18/27) encontrado por Céspedes *et al.* (2003) en Madre de Dios, Perú, en caninos con diagnóstico presuntivo de leptospirosis. Asimismo, las frecuencias encontradas en clínicas veterinarias en Valdivia, Chile, de 14.8% en 400 perros evaluando ocho serotipos (Silva y Riedemann, 2007), de 18% en Berlín, Alemania, en 329 perros sospechosos de Leptospirosis evaluando 12 serogrupos (Mayer-Scholl *et al.*, 2013), y de 29.3% en Japón, en 283 perros con signos compatibles de leptospirosis (Koizumi *et al.*, 2013) fueron seroprevalencias menores a las del presente trabajo, aunque en esos casos se emplearon menor número de serogrupos patógenos, disminuyendo la sensibilidad de los estudios.

Es importante considerar que los perros son susceptibles a la infección por la alta exposición al patógeno, inclusive en áreas urbanas, siendo el agua de regadío y de desagüe las principales fuentes de leptospiras debido a la eliminación continua de la bacteria por roedores y otros animales a través de la orina (Reis *et al.*, 2008; Raghavan *et al.*, 2011). Además, la ciudad de Lima cuenta con deficiencias en el sistema de alcantarillado y eliminación de desechos, principal factor asociado con leptospirosis humana en Perú y otros países (Oliveira *et al.*, 2012), lo cual puede ser un factor que haya incrementado la frecuencia de perros positivos en el presente estudio (Sarkar *et al.*, 2002; Krojgaard *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Títulos de anticuerpos contra serogrupos patógenos de *Leptospira* spp mediante la prueba de microaglutinación (MAT) en muestras de suero positivos a un serogrupo (n=146) provenientes de canes con diagnóstico presuntivo de leptospirosis

Serogrupo	Títulos de anticuerpos					Total
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	
Australis	0	8	1	0	0	9
Autumnalis	0	0	1	0	1	2
Ballum	0	3	2	1	0	6
Canicola	2	4	9	3	1	19
Cynopteri	0	1	0	1	0	2
Djasiman	1	2	0	2	0	5
Grippotyphosa	0	1	0	1	0	2
Hurtsbridge	0	2	2	1	0	5
Icterohaemorrhagiae	3	1	2	0	0	6
Iquitos	20	5	6	5	0	36
Javanica	0	1	0	0	0	1
Mini	0	3	1	2	0	6
Pomona	2	1	4	0	0	7
Pyrogenes	0	2	0	0	0	2
Manhao	0	0	0	1	0	1
Sejroe	1	2	1	0	0	4
Shermani	0	0	1	0	0	1
Tarassovi	2	8	18	2	2	32
Total	31	44	48	19	4	146

El creciente contacto con especies silvestres y el desplazamiento y comercialización de mascotas han resultado en cambios en la prevalencia de serogrupos de *Leptospira* spp, e inclusive en la emergencia de nuevos serogrupos, como se han documentado en Estados Unidos, Japón y países de Europa (Stokes *et al.*, 2007; Ellis, 2010; Gautam *et al.*, 2010; Koizumi *et al.*, 2013).

Si bien se describe al perro como hospedero de mantenimiento del serovar Canicola, la mayoría de infecciones de perros en Estados Unidos en los últimos 20 años ha sido causada mayormente por los serovares Pomona, Bratislava y Grippotyphosa (Ward *et*

al., 2004; Greene, 2006; Ghneim *et al.*, 2007); mientras que en Valdivia, Chile, han sido Canicola, Icterohaemorrhagiae y Ballum (Silva y Riedemann, 2007), y en Japón y Europa han emergido o predominan serogrupos que en estudios previos tenían una mínima presencia e importancia epidemiológica (Gautam *et al.*, 2010; Koizumi *et al.*, 2013). Un estudio en Samoa Americana sugiere que existe una variación y emergencia de nuevos serogrupos cada 10 años (Lau *et al.*, 2012), lo cual podría explicar las frecuencias del presente estudio y la presencia de serogrupos no reportados en estudios previos en perros y otras especies, tanto en Lima como a nivel nacional.

Cuadro 4. Coaglutinaciones (n=31) y sus respectivos títulos de anticuerpos mediante la prueba de microaglutinación (MAT) contra serogrupos patógenos de *Leptospira* spp en muestras de suero caninos con diagnóstico presuntivo de leptospirosis

Serogrupos	Títulos de anticuerpos					Total
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	
Canicola-Australis	1	1	0	0	0	2
Canicola-Ballum	0	1	0	0	0	1
Canicola-Cynopteri	0	0	1	0	0	1
Canicola-Hurstbridge	0	0	1	0	0	1
Canicola-Icterohaemorrhagiae	0	1	0	1	0	2
Canicola-Iquitos	1	3	0	0	0	4
Canicola-Mini	3	0	0	0	0	3
Canicola-Pomona	1	2	0	0	0	3
Canicola-Tarassovi	0	1	0	0	0	1
Icterohaemorrhagiae-Australis	0	1	1	0	0	2
Icterohaemorrhagiae-Iquitos	2	0	0	0	0	2
Icterohaemorrhagiae-Tarassovi	0	0	1	0	0	1
Iquitos-Australis	0	1	0	0	0	1
Iquitos-Pomona	0	1	0	0	0	1
Iquitos-Shermani	0	0	1	0	0	1
Iquitos-Tarassovi	0	0	1	0	0	1
Javanica-Tarassovi	1	0	0	0	0	1
Mini-Djasiman	0	0	0	1	0	1
Pomona-Cynopteri	0	0	1	0	0	1
Tarassovi-Ballum	0	0	0	1	0	1
Total	9	12	7	3	0	31

La mayor seropositividad correspondió al serogrupo Iquitos, serovar Varillal. Este serogrupo corresponde una especie nueva, denominada *Leptospira liscerasiae*, aislada de pacientes humanos de cuatro zonas geográficas distantes de la ciudad de Iquitos, en la amazonia peruana. Posterior a este hallazgo, se hizo una evaluación en pacientes febriles observándose en el 47% de las personas (Matthias *et al.*, 2008). El empleo del nuevo serogrupo en el diagnóstico incrementó notablemente la detección de la enfermedad en varias localidades de la Amazonia (Céspedes *et al.*, 2006). Incluso, el serovar Varillal

fue encontrado en una persona del distrito de Puente Piedra, Lima con títulos de 1/200 (Platts-Mills *et al.*, 2011), población que no presenta una relativa alta exposición a los factores de riesgo convencionalmente establecidos para contraer la leptospirosis; lo que estaría indicando que este serovar ya habría estado circulando en la ciudad de Lima. Esta ciudad tiene los factores de riesgo, tanto ambientales como biológicos y socio-económicos para la diseminación de la leptospirosis, y considerando el desplazamiento de mascotas y animales de producción y silvestres, se podría explicar la presencia y relativa alta fre-

Cuadro 5. Factores de riesgo en caninos con diagnóstico presuntivo de leptospirosis en 305 muestras analizadas con la prueba de microaglutinación (MAT) contra serogrupos patógenos de *Leptospira* spp, medido a través del Odds Ratio

Variable	Seropositivos		OR ^{1a} ajustado	IC 95% ²	
	Positivos	% ^a			
Sexo	Macho	114	64.4	1	
	Hembra	63	35.6	0.75	0.5-1.2
Edad	<3 años	46	26.0	1	
	4-7 años	53	29.9	1.39	0.7-2.2
	8-11 años	52	29.4	1.96	0.9-3.4
	>11 años	26	14.7	0.98	0.5-2.0
Procedencia	Lima Norte	7	4.0	1	
	Lima Centro	92	52.0	0.24	0.9-6.2
	Lima Sur	21	11.9	3.54	1.1-11.5 ³
	Lima Este	57	32.2	3.30	1.2-9.1 ³

^a Odds ratio ajustado (análisis multivariado – regresión logística)

² Intervalo de confianza

³ Factor de riesgo en análisis multivariado ($p < 0.05$)

cuencia en la población canina del presente estudio.

Los serogrupos Canicola, Iquitos e Icterohaemorrhagiae fueron los más frecuentes en las coaglutinaciones entre ellos y con otros serogrupos (10.2%), cuyo porcentaje alto se explicaría por el uso de una amplia variedad de serogrupos patógenos, incrementando la sensibilidad de la prueba. Los títulos de las coaglutinaciones variaron desde 1/100 hasta 1/800. Las coaglutinaciones suelen deberse a infecciones por dos o más serovares patógenos; sin embargo, en algunos casos los perros pudieron pasar por una infección subaguda o crónica a determinado serovar y luego se infectaron con otro serovar de distinto serogrupo. Asimismo, también puede deberse a reacciones cruzadas (Ferreira Neto *et al.*, 1997; Andre-Fontaine, 2006). Coaglutinaciones han sido demostradas entre el serogrupo Iquitos con otro serogrupo patógeno (18%, Matthias *et al.*, 2008). Igualmente, en Chile se obtuvo 4.3% (Silva y

Riedemann, 2007) y en Colombia se determinó 2.0% de coaglutinaciones (Silva-Molano *et al.*, 2008).

La determinación de la edad y el sexo como factores de riesgo para la infección con leptospirosis ha sido observado en Lima por Huerta *et al.* (2013), quienes, además, consideran que el tamaño del perro es otro factor de riesgo en caninos. Esto se explicaría por la mayor exposición de los perros adultos, machos y de mayor tamaño que tienen mayor acceso a la calle que perros jóvenes, hembras (para evitar la preñez) y pequeños.

CONCLUSIONES

- Las infecciones de *Leptospira* spp en perros de la ciudad de Lima son causadas por 18 de los 25 serogrupos patógenos: Australis, Autumnalis, Ballum, Canicola, Cynopteri, Djasiman, Grippityphosa, Hurstbridge, Icterohaemorrha-

giae, Iquitos, Javanica, Manhao, Mini, Pomona, Pyrogenes, Sejroe, Shermani y Tarassovi.

- La procedencia del perro fue un factor de riesgo en la presentación de leptospirosis en perros con diagnóstico presuntivo de leptospirosis.

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento del estudio al Consejo Superior de Investigaciones de la UNMSM y el apoyo del técnico Jorge Bautista en la realización del presente estudio.

LITERATURA CITADA

1. **Adler B, De la Peña Moctezuma A. 2010.** Leptospira and leptospirosis. *Vet Microbiol* 140: 287-296. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.03.012
2. **André-Fontaine G. 2006.** Canine leptospirosis – Do we have a problem? *Vet Microbiol* 117: 19-24. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.04.005
3. **Bolin C. 1996.** Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 11: 166-171.
4. **Céspedes M, Ormaeche M, Condori P, Balda L, Glennly M. 2003.** Prevalencia de leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la provincia de Manu, Madre de Dios, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 20: 180-185.
5. **Céspedes M, Balda L, González D, Tapia R. 2006.** Situación de la leptospirosis en el Perú: 1994-2004. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 23: 52-62.
6. **Dupouey J, Faucher B, Edouard S, Richet H, Kodjo A, Drancourt M, Davoust B. 2013.** Human leptospirosis: an emerging risk in Europe? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 37: 77-83. doi: 10.1016/j.cimid.2013.12.002.
7. **Ellis WA. 2010.** Control of canine leptospirosis in Europe: time for a change? *Vet Rec* 167: 602-605. doi: 10.1136/vr.c4965
8. **Evangelista KV, Coburn J. 2010.** Leptospira as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol* 5: 1413-1425. doi: 10.2217/fmb.10.102
9. **Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. 1999.** Leptospira and leptospirosis. En: Faine S (ed). *Methods*. 2nd ed. Melbourne, Australia: MedScience. p 169-184.
10. **Faine S. 1982.** Guidelines for the control of leptospirosis. WHO Offset Publication N.º 67. Geneva: WHO. 98 p.
11. **Ferreira Neto JS, Vasconcellos SA, Ito FH, Moretti AS, Camargo CA, Sakamoto SM, et al. 1997.** *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* seropositivity and the reproductive performance of sows. *Prev Vet Med* 31: 87-93. doi: 10.1016/S0167-5877(96)011208
12. **Gautam R, Guptill LF, Wu CC, Potter A, Moore GE. 2010.** Spatial and temporal-spatial clustering of overall and serovar-specific *Leptospira* microscopic agglutination test (MAT) seropositivity among dogs in the United States from 2000 through 2007. *Prev Vet Med* 96: 122-131. doi: 10.1016/j.prevetmed.2010.05.017
13. **Ghneim GS, Viers JH, Chomel BB, Kass PH, Descollonges DA, Johnson ML. 2007.** Use of a case-control study and geographic information systems to determine environmental and demographic risk factors for canine leptospirosis. *Vet Res* 38: 37-50.
14. **Greene CE. 2006.** Laboratory diagnosis of canine leptospirosis and babesiosis. En: 24th Annual ACVIM Forum. Louisville, KY, USA.
15. **Hartmann K, Egberink H, Pennisi MG, Lloret A, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, et al. 2013.** *Leptospira* species infection in cats:

- ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 15: 576-581. doi: 10.1177/1098612X13489217
16. **Huerta C, Chilón V, Díaz D. 2013.** Estudio de caso-control para evaluar factores de riesgo en la presentación de leptospirosis canina en la ciudad de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 24: 111-117. doi: 10.15381/rivep.v24i1.1674
 17. **[INS] Instituto Nacional de Salud del Perú. 2002.** Manual de procedimientos bacteriológico y serológico para el diagnóstico de la leptospirosis. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 53 p.
 18. **Ko AI, Goarant C, Picardeau M. 2009.** *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* 7: 736-747. doi: 10.1038/nrmicro2208
 19. **Koizumi N, Muto M, Akachi S, Okano S, Yamamoto S, Horikawa K, Harada S, et al. 2013.** Molecular and serological investigation of *Leptospira* and leptospirosis in dogs in Japan. *J Med Microbiol* 62: 630-636. doi: 10.1099/jmm.0.050039-0
 20. **Krojgaard LH, Villumsen S, Markussen MDK, Jensen JS, Leirs H, Heiberg AC. 2009.** High prevalence of *Leptospira* spp. in sewer rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiol Infect* 137: 1586-1592. doi: 10.1017/S095026880-9002647
 21. **Lau C, Smythe L, Weinstein P. 2010.** Leptospirosis – an emerging disease in travellers. *Travel Med Infect Dis* 8: 33-39. doi: 10.1016/j.tmaid.2009.12.002
 22. **Levett PN. 2001.** Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 4: 296-326.
 23. **Martins G, Penna B, Lilenbaum W. 2012.** The dog in the transmission of human leptospirosis under tropical conditions: victim or villain? *Epidemiol Infect* 140: 207-208. doi: 10.1017/S0950268811000276
 24. **Matthias MA, Ricaldi JN, Cespedes M, Diaz MM, Galloway RL, Saito M, Steigerwalt AG, et al. 2008.** Human leptospirosis caused by a new, antigenically unique *Leptospira* associated with a *Rattus* species reservoir in the Peruvian Amazon. *PLoS Negl Trop Dis* 2: e213. doi: 10.1371/journal.pntd.0000213
 25. **Mayer-Scholl A, Luge E, Draeger A, Nöckler K, Kohn B. 2013.** Distribution of *Leptospira* serogroups in dogs from Berlin, Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis* 13: 200-202. doi: 10.1089/vbz.2012.1121
 26. **Nakamura I, Hang'ombe BM, Sawa H, Kobayashi S, Orba Y, Ishii A, Thomas Y, et al. 2013.** Cross-reactivity of secondary antibodies against African rodents and application for serosurveillance. *J Vet Med Sci* 75: 819-825. doi: 10.1292/jvms.12-0471
 27. **[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2014.** Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. Cap. 2.1.9 Leptospirosis. Paris: OIE. [Internet]. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>
 28. **Oliveira SJ. 1999.** Nova ameaça à reprodução em suínos, além da leptospirose? *Hora Vet* 19: 87-90.
 29. **Oliveira Lavinsky M, Said RA, Strenzel GM, Langoni H. 2012.** Seroprevalence of anti-*Leptospira* spp antibodies in dogs in Bahia, Brazil. *Prev Vet Med* 106: 79-84. doi: 10.1016/j.prevetmed.2012.03.015
 30. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2008.** Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Rio de Janeiro: OMS-OPS. 127 p.
 31. **Pappas G, Papadimitriou P, Siozopoulou V, Christou L, Akritidis N. 2008.** The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int J Infect Dis* 12: 351-357.

32. **Picardeau M. 2013.** Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Med Mal Infect* 43: 1-9. doi: 10.1016/j.medmal.2012.11.005
33. **Platts-Mills J, LaRochelle P, Campos K, Vinetz J, Gotuzzo E, Ricaldi J. 2011.** Seroprevalencia de leptospirosis en Puente Piedra, Lima en el año 2006. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 28: 273-276.
34. **Raghavan R, Brenner K, Higgins J, Van der Merwe D, Harkin KR. 2011.** Evaluations of land cover risk factors for canine leptospirosis: 94 cases (2002-2009). *Prev Vet Med* 101: 241-249. doi: 10.1016/j.prevetmed.2011.05.010
35. **Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RDM, Santana FS, Mohr S, Melendez AXTO, Queiroz A, et al. 2008.** Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Neglect Trop Dis* 2:e228. doi: 10.1371/journal.pntd.0000228
36. **Sarkar U, Nascimento SF, Barbosa R, Martins R, Nuevo H, Kalafanos I, Grunstein I, et al. 2002.** Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. *Am J Trop Med Hyg* 66: 605-610.
37. **Silva R, Riedemann F. 2007.** Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. *Arch Med Vet* 39: 269-274. doi: 10.4067/S0301-732X2007000300011
38. **Silva-Molano R, Castro F, Montoya J, Loaiza-Echeverri A. 2008.** Estudio de seroprevalencia de leptospirosis canina en Manizales - Colombia, mediante aglutinación microscópica (MAT). *Vet Zootec* 2(2): 35-39.
39. **Stoddard RA, Gee JE, Wilkins PP, McCaustland K, Hoffmaster AR. 2009.** Detection of pathogenic *Leptospira* spp through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diagn Microbiol Infect Dis* 64: 247-255. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.014
40. **Stokes JE, Kaneene JB, Schall WD, Kruger JM, Miller R, Kaiser L. Bolin CA. 2007.** Prevalence of serum antibodies against six *Leptospira* serovars in healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc* 230: 1657-1664. doi: 10.2460/javma.230.11.1657
41. **Ward MP, Guptill LF, Wu CC. 2004.** Evaluation of environmental risk factors for leptospirosis in dogs: 36 cases (1997-2002). *J Am Vet Med Assoc* 225: 72-77. doi: 10.2460/javma.2004.225.72