

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



“Análisis serológico de Leptospirosis en equinos en el Estado de Chihuahua”

POR

ARTURO GONZÁLEZ MÉNDEZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

OCTUBRE DE 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Análisis serológico de Leptospirosis en equinos en el Estado de Chihuahua.

POR
ARTURO GONZÁLEZ MÉNDEZ

TESIS

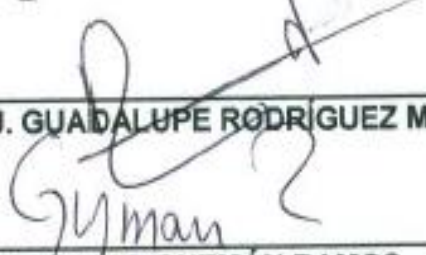
QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

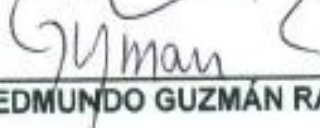
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

PRESIDENTE: 
M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL: 
M.V.Z. SERGIO ORLANDO YONG WONG

VOCAL: 
M.V.Z. J. GUADALUPE RODRIGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL SUPLENTE: 
M.V.Z. EDMUNDO GUZMÁN RAMOS


M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



De la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

OCTUBRE DE 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Análisis serológico de Leptospirosis en equinos en el Estado de Chihuahua.

POR

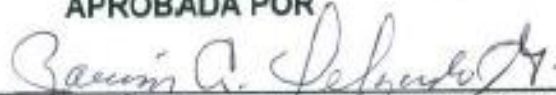
ARTURO GONZÁLEZ MÉNDEZ

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR



ASESOR PRINCIPAL: M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ



M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Ciencia Animal

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Arturo González Saláis y Dora María Méndez Delgado por haberme dado la vida y apoyarme incondicionalmente para obtener un logro tan grande como es el convertirme en un profesionalista.

A mis hermanos, Georgina, Guillermo y Rosalina; por ser mi familia y haberme apoyado siempre que lo necesite para realizar este logro.

A Ana Cecilia Argüelles Fernández, por haberme apoyado e impulsado a continuar en momentos difíciles cuando más la necesitaba, gracias.

A mi Alma Mater, por aceptarme ser parte de ella y darme una formación como profesionalista.

Al MC Ramón Alfredo Delgado González, por brindarme todo su apoyo y permitirme ser parte de su proyecto para realizar mi tesis de titulación.

A todos los maestros, que de todos he tomado lo bueno, por sus consejos y enseñanzas, ahora veo que todo lo que hicieron por mí ha sido para bien.

A la Sra. Yolanda Viera Urbina, secretaria del Departamento de Coordinación, por ayudarme con los trámites de la documentación y por su infinita paciencia.

DEDICATORIAS

A mis padres, Arturo González Salais y Dora María Méndez Delgado por permitirme lograr este logro tan grande.

A mis hermanos, Georgina, Guillermo y Rosalina, que sé siempre cuento con su apoyo incondicional.

A mi novia, Ana Cecilia Argüelles Fernández que siempre me ha apoyado e impulsado y que quiero mucho.

A toda mi familia, gracias a todos por sus consejos, toda su ayuda y su apoyo, mil gracias a todos los que estuvieron y siguen estando conmigo.

INDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
RESUMEN.....	iv
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.....	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	3
Antecedentes históricos.....	3
Taxonomía.....	4
Patogenia.....	5
Signos clínicos y lesiones.....	8
Epidemiología.....	10
Leptospirosis en equinos.....	11
Leptospirosis en otras especies.....	13
Diagnóstico.....	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
JUSTIFICACIÓN.....	19
MATERIAL Y METODOS.....	20
Toma de muestras.....	20
Lugar de estudio.....	20
Técnica de microaglutinación.....	20
Materiales y reactivos.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	24
LITERATURA CITADA.....	25

RESUMEN

La leptospirosis es una zoonosis causada por especies patógenas de *Leptospira* que afectan humanos, animales silvestres y domésticos. La enfermedad en caballos se asocia principalmente con aborto y uveítis recurrente, sin embargo puede haber enfermedad sistémica y muerte neonatal. Con la finalidad de conocer la prevalencia de leptospirosis en equinos, en el Municipio de Chihuahua, Chih., se obtuvieron muestras de suero de 56 equinos rurales y urbanos, 30 machos de 4 a 8 años de edad y 26 hembras de 3 a 7 años de edad. Las muestras se mantuvieron en congelación a menos 20°C hasta su análisis por la técnica MAT. Las muestras se analizaron en el Centro de Diagnóstico Integrado y de Investigaciones en Salud Animal del Estado de Chihuahua. Se utilizaron 9 serovares de leptospirosis de referencia nacional e internacional, siendo estas *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pyrogenes*, *L. canicola*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. wolffi*, *L. tarassovi*, *L. bratislava* y *L. grippothyphosa*, para realizar MAT. Las muestras de sueros con dilución 1:50 o superior, se consideraron positivas, al observar con el microscopio de campo oscuro en un aumento 10X, una aglutinación o desaparición de células en el campo. De las 56 muestras solo dos yeguas (3.57%), de 6 y 7 años de edad, dieron positivas a leptospirosis con la técnica de MAT a la serovar *Grippothyphosa*, con una titulación 1:100. Estas yeguas nunca se habían podido preñar. Se describen los resultados y se discuten los resultados.

Palabras clave: Leptospirosis, Chihuahua, equinos, aborto, uveítis recurrente.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial causada por una infección de una espiroqueta patógena del género *Leptospira*. Se ha identificado como una de las enfermedades infecciosas emergentes en todo el mundo. La enfermedad afecta a animales domésticos y silvestres, incluyendo anfibios y reptiles (Ko y col., 2009).

En equinos, la enfermedad se ha asociado frecuentemente con abortos y uveítis recurrente, además de casos esporádicos de enfermedad renal o hepática (Divers y col., 1992). También se ha reportado en casos de insuficiencia respiratoria en potros (Broux y col., 2012), aunque en general los signos clínicos son inespecíficos, lo cual es un problema para el diagnóstico clínico de leptospirosis en ésta especie (Levett, 2001). El establecimiento de un diagnóstico definitivo de leptospirosis equina puede ser difícil, debido a la exigente naturaleza de las leptospirosis para su crecimiento, el cual es lento y a la dificultad en la observación del organismo en fluidos corporales, por tal motivo el diagnóstico de la leptospirosis a menudo se basa en la serología, la cual puede ser difícil de interpretar debido a una alta seroprevalencia en la población equina (Toyokawa y col., 2011).

En la actualidad la prueba de referencia internacional para el diagnóstico de leptospirosis es el método serológico por aglutinación microscópica o microaglutinación (MAT), en el cual se hacen reaccionar sueros de animales sospechosos con suspensiones de antígeno vivo de diversas serovariedades de *Leptospira* (Levett, 2001). La MAT puede ser una técnica difícil de implementar porque requiere considerable experiencia para realizar e interpretar los resultados y es necesario el mantenimiento continuo de un panel de cepas vivas de todos los serogrupos y serotipos más frecuentemente identificados en una región específica, además de que es técnicamente exigente y es un riesgo biológico. Por lo tanto, MAT suele estar restringida a laboratorios de referencia (Woodward y col., 1997). Los criterios interpretativos actuales indicativos de infección activa por *Leptospira* con la

prueba de MAT requiere un aumento 4 veces más del título en el suero, entre la infección aguda y en fase de convalecencia (Levett, 2001).

Objetivo

Objetivo General. Identificar leptospirosis en equinos rurales y urbanos aledaños al Municipio de Chihuahua, en el Estado de Chihuahua.

Objetivo Particular. Identificar serológicamente las serovars de *Leptospira* spp que afectan a equinos rurales y urbanos del Municipio de Chihuahua, utilizando la prueba de aglutinación microscópica.

Hipótesis

Los equinos rurales y urbanos del Municipio de Chihuahua en el Estado de Chihuahua presentan las serovares de *L. pyrogenes*, *L. canicola* y *L. bratislava*.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Antecedentes históricos

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial, causada por una infección por especies de leptospirosas patógenas. El espectro de la enfermedad por *Leptospira* es extremadamente amplio, va desde una infección subclínica hasta un severo síndrome de infección multiorgánica con alta mortalidad (Levett, 2001).

La leptospirosis ha sido reconocida como riesgo laboral en la cosecha de arroz en la antigua China, y actualmente el nombre japonés Akiyama o fiebre otoñal persiste en la medicina moderna. En retrospectiva, claras descripciones de leptospirosis icterica han sido reconocidas a inicios del siglo XIX, algunos años antes de la descripción de la enfermedad de Weil. También se ha sugerido que *Leptospira Interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* fue introducida a Europa occidental en el siglo XIX por la diseminación de la rata, *Rattus norvegicus*, desde Eurasia (Faine, 1994).

En humanos el síndrome de leptospirosis icterica con falla renal, fue reportado por primera vez hace más de 100 años por Adolf Weil en Heidelberg, Alemania (Weil, 1886), quien describió una enfermedad febril con ictericia asociada a un trastorno que afectaba los riñones, hígado y bazo. En 1887 una enfermedad similar fue descrita por Goldschmidt, quien la registró como “Síndrome de Weil”. Más tarde, la morfología de las leptospirosas fue descrita en 1907 como un “*organismos en espiral con extremos en forma de gancho*” al cual nombraron *Spirochaeta interrogans*, sin embargo, el Dr. Hideyo Noguchi, en 1917, lo describió dentro de un nuevo género llamándolo “*Leptospira*”, en un controversial síndrome de fiebre amarilla (Noguchi, 1919; Noguchi, 1920). La etiología de la leptospirosis fue demostrada independientemente en 1915 en Japón y Alemania. En Japón, se detectaron algunas espiroquetas y anticuerpos específicos en sangre de mineros japoneses con ictericia infecciosa. En Alemania, dos grupos de físicos alemanes estudiaron a un grupo de

soldados alemanes afectados por la “enfermedad francesa” en las trincheras en el noroeste de Francia (Everard, 1996).

En México los primeros casos de leptospirosis fueron reportados en 1920, en humanos, en Mérida, Yucatán (Noguchi y Kligler, 1920). Sin embargo, no fue sino hasta la década de los 30's que se empezaron a reportar casos en animales, siendo en 1953, el primer reporte de leptospirosis en bovinos en México (Varela y Vázquez, 1953; Varela y col., 1954).

Taxonomía

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana zoonótica de distribución mundial, es endémica en climas tropicales y templados (Lindahl y col., 2011). Afecta a la mayoría de los animales domésticos (Draghi y col., 2011), y se ha reportado en reptiles, aves, anfibios y artrópodos. Es considerada una enfermedad infecciosa emergente en humanos, y por lo tanto, de gran importancia en salud pública (WHO, 2011).

Las leptospiras pertenecen a la familia *Leptospiraceae* del phylum *Spirochaete*. Son delgadas espiroquetas móviles, con un extremo en forma de gancho, aeróbicas y de lento crecimiento que tienen un óptimo desarrollo a 30 °C. El organismo es sumamente sensible a los pH extremos, a la falta de humedad y a los desinfectantes suaves incluyendo al detergente. Existen especies saprófitas y patógenas en la naturaleza. Las especies saprófitas viven en el agua y suelo y no infectan a los animales (Sykes, 2011).

Antes de 1989 el género *Leptospira* estaba dividido en dos especies, *L. interrogans* que comprendía todas las cepas patógenas y *L. biflexa* conteniendo las cepas saprofitas aisladas del medio ambiente. Ambas especies se dividen en numerosas serovariedades definidas por aglutinación después de la absorción cruzada con antígenos homólogos. Dentro de las especies de *L. interrogans*, se han reconocido más de 200 serovariedades (serovares). Las serovares relacionadas

antigénicamente son agrupadas en serogrupos, y aunque los serogrupos no tienen una posición taxonómica, han demostrado su utilidad epidemiológica (Levett, 2001).

El género *Leptospira* incluye 19 especies genéticamente identificadas (Pinto y col., 2011), y alrededor de 260 serovarietades patógenas, de acuerdo a los patrones de antígenos de superficie (Bharti y col., 2003; Ko y col., 2009), y están combinadas en 24 serogrupos (Levett, 2001). No existe correlación entre las clasificaciones serológica y genética (Patarakul y col., 2010). El género es bastante heterogéneo, se clasifica de acuerdo a sus características genéticas y se divide en tres grupos, como patógenas, no patógenas, y oportunistas posiblemente patógenas. Las leptospiras patógenas incluyen ocho genoespecies: *Leptospira interrogans*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira kirschneri*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira weilii*, *Leptospira alexanderi*, *Leptospira noguchii* y *Leptospira alstonii* (Brenner y col., 1999). El grupo de especies saprófitas incluye seis microorganismos de vida libre que se encuentran en la superficie de aguas como *Leptospira biflexa*, *Leptospira wolbachii*, *Leptospira kmetyi*, *Leptospira yanagawae*, *Leptospira terpstrae* y *Leptospira vanthielii*. Otro grupo comprende especies de “comportamiento intermedio”, cuyo papel en su patogenicidad no ha sido demostrado: *Leptospira inadai*, *Leptospira broomii*, *Leptospira fainei*, *Leptospira wolfii* y *Leptospira licerasiae* (International Committee on Systematics of Prokaryotes, 2008). Sin embargo, la reclasificación de las leptospiras en el campo genotípico es taxonómicamente confiable y provee una fuerte fundamentación para futuras clasificaciones. Sin embargo, la clasificación molecular es un problema para los microbiólogos clínicos, porque es claramente incompatible con el sistema de serogrupos que les ha funcionado bien a clínicos y epidemiólogos por muchos años.

Patogenia

Los mamíferos domésticos y silvestres son la principal fuente de leptospiras que se albergan en los túbulos contorneados de los riñones, los cuales eliminan espiroquetas intermitentemente en grandes cantidades (10^6 /mL) por medio de la orina, contaminando

el medio ambiente, alrededor del séptimo día post-infección (Ellis y Michna, 1976). Por lo tanto, la orina de los animales infectados es una fuente potencial de infección para los animales susceptibles (Zuerner y col., 2011).

El periodo de incubación de las leptospiras es de 3 a 20 días, dependiendo de la virulencia y la cantidad de microorganismos, además del estado fisiológico e inmunológico del huésped (Cinco, 2010). En el medio ambiente la *Leptospira* sobrevive debido a su capacidad para detectar y movilizarse hacia un ambiente favorable. Debido al movimiento direccional hacia un atrayente, o lejos de un repelente, y a la motilidad de la bacteria, esta puede internarse a los tejidos del huésped (Dong y col., 2010). La adaptación a diversos estímulos ambientales fuera y dentro del huésped y la habilidad para sobrevivir en el torrente sanguíneo contribuyen para que las leptospiras puedan causar enfermedad, al migrar a través de los espacios intercelulares (Patarakul y col., 2010).

La entrada de las leptospiras al cuerpo de los animales es a través de membranas mucosas de la conjuntiva, nasal u oral a nivel de la laringe y faringe y por incisiones o abrasiones de la piel, y a partir de ello, las bacterias invaden los intersticios de los tejidos, células y líquidos del huésped (Cinco, 2010). Enseguida, las espiroquetas se transportan por vía sanguínea y se resguardan en la hemoglobina de los eritrocitos, movimiento que está relacionado con su virulencia (Yuri y col., 1993), para después dirigirse y multiplicarse en los órganos blanco como los riñones, hígado, pulmones y útero, presentando una amplia gama de manifestaciones clínicas (WHO, 2011). Esta fase de leptospiremia, se caracteriza por la aparición de anticuerpos y leptospiras en sangre (Bourhy y col., 2011), las cuales rápidamente establecen una infección sistémica (Merien y col., 1997). Las leptospiras pueden moverse a través de la barrera de los tejidos por asociación con los vasos sanguíneos, ya que las leptospiras son detectadas agregadas alrededor de los capilares en la capa muscular, y se diseminan a través de las uniones intercelulares y también se pueden detectar en el citoplasma de las células endoteliales del hospedador (Barocchi y col., 2002).

Las leptospiras pueden ser detectadas agregadas alrededor de los capilares sanguíneos, las cuales son frecuentemente fagocitadas por neutrófilos y macrófagos y se diseminan a los tejidos como el hígado, pulmones, riñones, útero, glándula mamaria y otros tejidos. En el hígado las leptospiras son encontradas en las membranas de los hepatocitos, también como un depósito granular en las células de Kupffer. Los pulmones pueden mostrar leptospiras en focos de hemorragias y rara vez alrededor o fuera de éstas. En los riñones, un gran número de leptospiras típicas son vistas en los espacios glomerulares. También se pueden encontrar leptospiras alineadas rodeando los capilares peritoneales (Yan Zhang y col., 2012).

La adherencia a las células y a componentes de las matrices extracelulares (MEC) del huésped es un paso necesario para que las leptospiras penetren, se diseminen y persistan en los tejidos de los huéspedes mamíferos. Se han encontrado un amplio rango de moléculas de adhesión en las leptospiras que le dan la habilidad para migrar a través de los tejidos, muchas proteínas leptospirales tienen afinidad por las MEC y superficies de las células (Choy y col., 2007).

Los animales infectados con leptospiras, vía conjuntival y por heridas de piel, desarrollan signos clínicos y cambios patológicos similares (Lourdault y col., 2009). Las leptospiras patógenas son capaces de sobrevivir y ser más resistentes a la acción del sistema del complemento (Barbosa y col., 2009), los neutrófilos, los cuales constituyen la mayor población de fagocitos intravasculares, juegan un importante papel en el control de las leptospiras, sin embargo, algunos modelos experimentales han demostrado que la fagocitosis de leptospiras patógenas por neutrófilos y macrófagos es solo efectiva si el patógeno es opsonizado por IgG (Wang y col., 1984a; Wang y col., 1984b). También se ha observado en los macrófagos humanos que las leptospiras fagocitadas son capaces de escaparse de los fagosomas hacia el citosol, donde proliferan y activan apoptosis (Evangelista y Coburn, 2010).

Las leptospiras no son parásitos intracelulares pero pueden introducirse en las células residiendo en estas transitoriamente, en células no fagocíticas normales los

microorganismos entran y se encuentran en fagosomas en el citoplasma (Barocchi y col., 2002). Al utilizar éste mecanismo de entrada a la célula, le permite a la *Leptospira* diseminarse a órganos blanco, evadiendo la respuesta inmunológica, el microorganismo parece sobrevivir a menos que estén presentes anticuerpos específicos (Cinco, 2010).

Al llegar al hígado o riñones las cepas infecciosas de *Leptospira* se adhieren a componentes de las MEC entre los intersticios de los hepatocitos y las células epiteliales tubulares, tales como colágeno tipo I, tipo IV, laminina y fibronectina (Atzingen y col., 2008; Barbosa y col., 2010). Debido a que las células epiteliales de los túbulos proximales del riñón producen proteoglicanos, éstas pueden facilitar la colonización del riñón, especialmente en animales huéspedes (Ristow y col., 2008).

Durante la leptospiremia, la migración de las leptospiras al útero y oviducto de animales no gestantes, y a la placenta en gestantes, producen congestión capilar, y células endoteliales vacuoladas y efectos de necrobiosis y apoptosis (Brihuega y col., 2011), además se observan leptospiras en las células endoteliales. Estos daños son capaces de producir muerte embrionaria temprana y aborto en todos los estadios de gestación y las leptospiras pueden encontrarse en riñones, adrenales e hígado de fetos abortados. La inflamación que pueda producirse a nivel de cotiledones trae como consecuencia retención de placenta, además de que puede causar infertilidad, e incluso esterilidad en casos extremos (Kingscote y Wilson, 1986).

Signos clínicos y lesiones

Los signos clínicos de la leptospirosis están influenciados directamente por la virulencia de la serovariedad infectante, la dosis del inóculo, la edad, susceptibilidad y condición física de los animales. La infección aguda puede ser potencialmente letal o en huéspedes de mantenimiento puede causar una enfermedad crónica con escasa signología clínica; la mayoría de las infecciones resultan en ligera enfermedad con signos inespecíficos como fiebre y debilidad muscular. El cuadro clínico de una leptospirosis severa se caracteriza por disfunción hepática, renal y hemorragias.

Ocasionalmente se puede observar orina con sangre, decaimiento, anorexia y muerte en pocas horas (Draghi y col., 2011). Los animales por lo general mueren de choque séptico con falla multiorgánica (Goris y col., 2011).

En la infección leptospiral los animales muertos pueden mostrar a la necropsia hepatomegalia, esplenomegalia, ictericia en mucosas y tejido subcutáneo, y hemorragias petequiales diseminadas en casi todos los órganos y tejidos. Los hallazgos histológicos muestran infiltrados inflamatorios difusos y las leptospiras se encuentran en muchos órganos, incluyendo pulmón, hígado y riñones (Arean, 1962). La leptospirosis causa una vasculitis infecciosa. En la forma severa hay alteraciones hemodinámicas e hipovolemia debido a deshidratación y al efecto directo de las toxinas que dañan el endotelio vascular e incrementan la permeabilidad (Daher y col., 1999).

En la lesión cutánea y de mucosas se encuentra una alteración inflamatoria aguda, alrededor del tejido dañado, caracterizada por infiltración de neutrófilos, macrófagos, linfocitos e histiocitos. En el estadio tardío, las células inflamatorias en el tejido subcutáneo y en las capas musculares disminuyen gradualmente y son remplazadas por proliferación de fibroblastos (Yan Zhang y col., 2012).

En los riñones se detectan áreas de necrosis cortical con glomerulitis, e infiltración intersticial de neutrófilos y células mononucleares y ocasionalmente infartos, la nefritis tubulointersticial y necrosis tubular aguda son los hallazgo histológico más comunes, pero se puede desarrollar una fibrosis tubulointersticial si la infección leptospiral crónica no es tratada (Tian y col., 2006; Tian y col., 2011). Varios factores están involucrados en el daño renal agudo en la leptospirosis, incluyendo acción nefrotóxica directa de las leptospiras, hiperbilirrubinemia, rabdomiolisis, e hipovolemia. Las anomalías en la función tubular preceden una disminución en la tasa de filtración glomerular, lo cual podría explicar la alta frecuencia de hipokalemia. En hígado se observan focos de necrosis con infiltración de células mononucleares y neutrófilos. En bazo los centros germinativos son escasos y se encuentran focos de hemorragias. Los linfonódulos muestran hemorragias severas (Draghi y col., 2011).

Las hemorragias se caracterizan por petequias y hematomas coalescentes, diseminadas en la lesión hasta el tejido subcutáneo y músculo que progresan con el tiempo. Posteriormente se pueden desarrollar hemorragias petequiales en pulmones, a nivel alveolar. En el hígado se aprecian hemorragias, edema y focos de necrosis. Los riñones también muestran hemorragias extensivas en la superficie peritoneal. Además las células del epitelio tubular presentan necrosis e infiltración de eritrocitos en su luz, presentando hematuria después (Yan Zhang y col., 2012).

En las infecciones por *Leptospira* de animales preñados se producen alteraciones en los tejidos placentarios, lo que provoca aborto y muerte embrionaria. Las leptospiras producen congestión de los capilares placentarios y células endoteliales con vacuolas citoplasmáticas, células en necrobiosis e indicios de apoptosis. Se presenta pérdida de la integridad de las uniones intercelulares endoteliales, alteraciones de la estructura celular y ruptura de la membrana celular. *Leptospira interrogans* serovar *Pomona* concurre con procesos de necrosis y apoptosis (Jin y col., 2009).

Epidemiología

Las leptospiras que causan enfermedad se pueden clasificar como 1) adaptadas al huésped, las que infectan a los animales huéspedes de mantenimiento, 2) no adaptadas al huésped, las que infectan a los animales huéspedes accidentales (Leanne y col., 2011). Las diversas serovares se adaptan a diferentes hospedadores reservorios animales, silvestres o domésticos y el reconocimiento de estas serovares tiene importancia epidemiológica. Los animales pueden servir como reservorios de algunas serovares y convertirse en huésped incidental de otras (Natarajaseenivasan y col., 2011).

Muchas especies de animales, domésticos y silvestres, sirven como huéspedes reservorios (portadores), resultando en una diseminación global de la enfermedad, probablemente los reservorios silvestres sean los huéspedes de mantenimiento de la

mayoría de las leptospiras patógenas. Los humanos son huéspedes incidentales (Patarakul y col., 2010). Los humanos y los animales pueden infectarse por contacto directo con líquidos corporales de animales que están eliminando las leptospiras por la orina, secreciones uterinas, y leche (Leonard y col., 2004), por tejidos de animales infectados, después de la ingestión de agua y alimentos e inhalación de gotas en aerosol contaminadas por orina, o indirectamente a través de la exposición de suelos húmedos, aguas y vegetación (Gilman y col., 2003; WHO, 2011). Las leptospiras patógenas pueden sobrevivir por periodos prolongados de tiempo en el ambiente (Trueba y col., 2004).

Leptospirosis en equinos

La leptospirosis es una zoonosis causada por especies patógenas de *Leptospira* que afectan humanos, animales silvestres y domésticos. La enfermedad en humanos varía de una forma de resfriado ligero a un síndrome más severo que involucra falla multiorgánica, mientras que en caballos la infección es principalmente asociada con aborto espontáneo y uveítis recurrente (Hodgin y col., 1989; Verma y col., 2005), sin embargo han habido informes de enfermedad sistémica y muerte neonatal (Crane, 1956; Roberts y col., 1952).

La infección en caballos, al igual que en otras especies, resulta frecuentemente por transmisión directa con orina contaminada o líquidos de placentas, o indirectamente por un ambiente contaminado (Ellis y col., 1983a). Los caballos quizá obtienen la enfermedad a partir de orina infectada, de roedores, perros, cerdos, becerros u otros animales de granja. Existen evidencias que indican que los caballos pueden excretar leptospiras viables en la orina por 14 semanas o más (Roberts, 1969). Esta leptospirosis prolongada puede permitir que esta especie animal pueda servir como reservorio para transmitir la enfermedad a otros animales o al hombre (Myers, 1976).

Las manifestaciones clínicas de leptospirosis varían de aguda, subaguda a infección crónica. La enfermedad severa incluye ictericia, hemoglobinuria, falla renal, meningitis y

aborto, en todos los animales domésticos. Las formas subclínicas quizá sean más comunes con animales infectados crónicamente, los cuales pueden ser portadores por toda su vida (OIE, 2004).

Los principales trastornos reportados en equinos son la uveítis (Faber y col., 2000), aborto (Bernard, 1993; Ellis y col., 1983b), muerte fetal (Donahue y col., 1995), potrillos nacidos débiles (Donahue y col., 1991), potrillos prematuros (Vemulapalli y col., 2005), disfunción renal (Divers y col., 1992) y disfunción hepática (Hathaway y col., 1981). Los signos observados incluyen hematuria (Bernard y col., 1993), fiebre, ictericia, anorexia (Hall y Bryans, 1952; Roberts y col., 1952) y trastornos respiratorios (van den Ingh y col., 1989).

La leptospirosis ha sido citada muchas veces como una causa de uveítis recurrente equina, particularmente por *Leptospira interrogans* serovar Pomona. La uveítis suele ocurrir de meses o años después de adquirirla naturalmente o al ser inducida experimentalmente. La uveítis recurrente es una de las principales causas de ceguera en caballos a nivel mundial. Los signos y lesiones muestran lo severo del curso de la enfermedad. La inflamación puede involucrar la córnea, el cristalino, y la retina. Las causas propuestas incluyen parásitos, neoplasias, traumas y otros agentes infecciosos (Faber y col., 2000). La uveítis recurrente es una secuela de la infección por *Leptospira* y es la causa infecciosa más común de ceguera y daño en la visión de caballos alrededor del mundo (Verma y col., 2005). También es conocida como ceguera de la luna u oftalmia periódica, y es caracterizada por episodios de inflamación intraocular que se desarrolla de semanas a meses después de un episodio inicial de uveítis y se repite en intervalos regulares (Gilger y Michau, 2004). Generalmente aparece de meses a años después a una infección adquirida naturalmente o inducida experimentalmente (Morter y col., 1969; Roberts, 1958; Williams y col., 1971). Recientemente la uveítis es considerada ser una enfermedad inmunomediada, ya que los ojos con la enfermedad han mostrado infiltración de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos dentro de los cuerpos ciliados y el iris (Verma y col., 2005).

Leptospirosis en otras especies

Bovinos. En el ganado bovino, la leptospirosis produce pérdidas económicas de manera primaria por sus efectos sobre la reproducción, pudiendo aparecer muerte embrionaria temprana, mortinatos, abortos, y/o nacimientos de animales débiles que pueden morir en los primeros días de vida e infertilidad (Ellis, 1994). De manera secundaria, también puede haber pérdidas económicas como consecuencia del “síndrome de caída de la leche” o agalactia transitoria. Además, la leptospirosis puede cursar con diferentes cuadros clínicos, que pueden ir desde un cuadro agudo/hiperagudo con fiebre, hematuria, hemoglobinuria, meningitis, e incluso mortalidad a un cuadro crónico cuya única signología aparente es la falla reproductiva (Alonso-Andicoberry y col., 2001).

Los bovinos son huéspedes de mantenimiento de *L. borgpetersenii* serovar *Hardjo-bovis*, y los animales infectados típicamente no muestran signos aparentes de la infección, excepto durante la gestación. Las fallas reproductivas (abortos, mortinatos, y nacimiento de crías débiles) y la producción reducida de leche debido a la infección por la serovar *Hardjo*, tienen un significativo impacto sobre la industria de carne y leche. Además, como patógeno humano, la serovar *Hardjo* es una amenaza para la salud de los trabajadores en la industria animal (Zuerner y col., 2011).

Leptospira borgpetersenii serovar *Hardjo-bovis* es la causa más común de aborto e infertilidad en bovinos de Norte América (Prescott y col., 1988; Smith y col., 1997; Rajeev y col., 2010). *Hardjo* es una serovar adaptada a los bovinos, los cuales se convierten en portadores crónicos y actúan como reservorios de la infección. *L. interrogans* serovars *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae* y *Grippityphosa* son leptospiras no adaptadas a los bovinos pero los infectan como hospedadores accidentales, causando enfermedad aguda y aborto (Miller y col., 1991; Peregrine y col., 2006). Otra bacteria asociada a aborto en bovinos es el serogrupo *Hebdomadis*, serotipo *sejroe* (Ellis y Michna, 1976). Los perros son portadores de las principales serovares de leptospiras

que afectan a los bovinos – *Hardjo*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae* y *Canicola* –, ésta última también causa trastornos en bovinos (Romero y col., 2010).

Caninos. La leptospirosis afecta a la mayoría de los animales domésticos (Draghi y col., 2011) y es considerada una enfermedad infecciosa emergente en humanos, y por lo tanto, de gran importancia en salud pública (WHO, 2011). La leptospirosis se ha extendido en todo el mundo en perros callejeros (Alton y col., 2009). Las serovares más frecuentes asociadas con leptospirosis canina son *canicola*, *pomona*, *grippotyphosa*, *bratislava* e *icterohaemorrhagiae*, aunque han sido reportadas infecciones con otras serovares con insuficiencia renal aguda, en perros de Norteamérica, incluyendo a Canadá (Prescott, 2008). Los perros se asocian a la serovar *canicola* como hospedadores de mantenimiento, mientras que las ratas son reservorios de la serovar *icterohaemorrhagiae*. La leptospirosis en perros es reconocida como un factor de riesgo para el humano (Romero y Sánchez, 2009). El aumento de lluvias se asocia con la prevalencia de leptospirosis en perros (Ko y col., 1999). Un perro infectado puede ser un portador asintomático de leptospira y arroja microorganismos a través de la orina por toda su vida (Breiner y col., 2009). Las lesiones macroscópicas pueden mostrar hepatomegalia, esplenomegalia, e ictericia en mucosas y tejido subcutáneo, y hemorragias petequiales diseminadas en casi todos los órganos y tejidos. Los hallazgos histológicos muestran infiltrados inflamatorios difusos y las leptospiras se encuentran en muchos órganos, incluyendo pulmón, hígado y riñones (Arean, 1962). En los riñones se detectan áreas de necrosis cortical con marcado edema intersticial, glomerulitis, nefritis intersticial (Ooi y col., 1972) con infiltración de neutrófilos, linfocitos, monocitos, células plasmáticas y ocasionalmente infartos, la nefritis tubulointersticial y necrosis tubular aguda son los hallazgos histológico más comunes, pero se puede desarrollar una fibrosis tubulointersticial (Delgado y col., 2013).

En perros callejeros de México se han observado alrededor de un 67.5% de sueros positivos por MA, y 21.0% de sospechosos a las serovares *Canicola* y *Portland-vere* ambas con un porcentaje de 60.4%, seguidas por *Bratislava* (39.5%), Cepa Palo Alto

(32.5%), *Pyrogenes* (30.2%), *Icterohaemorrhagiae* (25.5%), *Grippotyphosa* (6.9%), *Pomona* (6.9%), y Ceba Inifap (4.6%) (Delgado y col., 2013).

En Brasil estudios realizados con MA muestran una prevalencia de leptospirosis en todo el país de 26%, siendo los serotipos más prevalentes *Autumnalis* (34.2%), *Tarassovi* (23.7%), *Canicola* (17.1%), *Grippotyphosa* (14.5%) y otros con prevalencia menor como *Bratislava* (3.9%), *Icterohaemorrhagiae* (2.7%), *Australis*, *Pomona* y *Wolffi* con (1.3%) (De Castro y col., 2011). En Buenos Aires, Argentina se encontró una seropositividad en 57% de perros examinados; 82% de los sueros positivos aglutinaron con dos o más serotipos. Los serotipos detectados con mayor frecuencia fueron *Canicola* y *Pyrogenes* (Rubel y col., 1997). En Estados Unidos y Canadá se han documentado estudios que muestran a *Leptospira* serovar *Autumnalis*, *Grippotyphosa* y *Pomona* como las principales serovariedades en perros (Moore y col., 2006). De estas, las serovares encontradas en nuestro país son *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Bratislava*, *Icterohaemorrhagiae* y *Pomona*, pero además hay otras serovares de aislamientos nacionales no notificadas en estudios en otros países como las cepas *Portland-vere*, *INIFAP* y *Palo Alto* (Luna y col., 2008). Los perros son considerados los hospedadores de mantenimiento para la serovar *Canicola* y hospedador incidental para otras serovares, y son una fuente potencial de infección para los dueños de las mascotas (Prescott, 2008).

Diagnóstico

Los métodos de diagnóstico utilizados con frecuencia en brotes de abortos por leptospirosis en equinos son cultivos bacteriológicos a partir de orina y tejidos fetales, así como pruebas serológicas como la de anticuerpos fluorescentes y MAT (Donahue y col., 1995).

La mayoría de los casos de leptospirosis son diagnosticados por serología para detectar anticuerpos, debido a que el cultivo de leptospiras a partir de líquidos biológicos (sangre, líquido cefalorraquídeo, orina, leche) toma varias semanas, además

de ser costoso (Bourhy y col., 2011). La técnica de aglutinación microscópica (MAT), conocida como la prueba de oro, es la técnica de referencia más utilizada (Ahmad y col., 2005), a pesar de que se ha encontrado que la tasa de resultados falsos negativos es de 13%. La MAT Está basada en la evaluación de muestras de sueros pareados y tiene la habilidad de aglutinar cepas de serovares de referencia con una batería de antígenos vivos de *Leptospira* (WHO, 2003).

La prueba de MAT es altamente específica, pero su baja sensibilidad (30-60%) la hace inadecuada para el diagnóstico de leptospirosis aguda (Cumberland y col., 1999). Otras pruebas serológicas como hemaglutinación indirecta (Levett y Whittington, 1998), aglutinación en microcápsula, aglutinación en látex (Arimitsu y col., 1998), y análisis inmunoenzimático (ELISA) (Winslow y col., 1997), no ofrecen niveles satisfactorios de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico en fase temprana de leptospirosis, en la detección de anticuerpos IgM (Guerreiro y col., 2001). Pero se ha demostrado que la prueba de ELISA indirecta presenta una sensibilidad de 80% y especificidad de 87%, comparado con la técnica de MAT (Yan y col., 2013).

El antígeno de *Leptospira interrogans* Hardjo-prajitno es muy sensible para la detección de anticuerpos de Hardjo en la prueba de MAT, ya que detecta el 98.4% de los sueros positivos a Hardjo-prajitno, comparado con el 1.6% que detecta el antígeno de *Leptospira borgpetersenii* Hardjo-bovis (Hotka y col., 2007).

Hay varios problemas potenciales asociados con el mantenimiento de las cepas de referencia de *Leptospira*; La contaminación de cepas con otras bacterias o leptospiros saprofitas de rápido crecimiento, el etiquetado incorrecto o el cambio de cepas (Chappel y col., 2004). La contaminación por otras bacterias se reconoce fácilmente pero el cambio de cepas es un grave error. Además, si no hay un adecuado control de calidad que se lleve a cabo sobre las cepas de referencia, estos problemas no pueden ser identificados de manera oportuna. Esto podría afectar adversamente la investigación de brotes y estudios epidemiológicos (Cerqueira y col., 2010).

El diagnóstico se puede realizar mediante el uso de técnicas histológicas utilizando tinciones de plata (Warthin Starry), en tejidos fetales, así como el uso de inmunofluorescencia (Hodgin y col., 1989).

Recientemente ha habido una creciente evidencia de que las pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es capaz de detectar *Leptospira* spp, por lo cual debe ser incluido en las investigaciones de diagnóstico de rutina cuando se sospecha de la infección (Vemulapalli y col., 2005). La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa es precoz y sensible, pero su alto costo y la necesidad de tener un buen control de calidad son los mayores inconvenientes para su aplicación (Daher y col., 2010).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la presente revisión de la literatura sobre leptospirosis se describe la enfermedad, tanto en humanos como en equinos, bovinos y caninos, encontrándose que en ocasiones ésta tiene un curso asintomático, debido a ello, muchas personas y animales llegan a morir a causa de la enfermedad sin un tratamiento, debido a la ignorancia del problema por lo complicado que resulta diagnosticar la leptospirosis, ya que no siempre se comporta de la misma manera y se desconoce en muchas regiones. Cuando se llega a detectar, con frecuencia ya es muy tarde, hay órganos muy comprometidos y la enfermedad puede ser fatal. Es por eso que este trabajo se pretende dar a conocer los casos que se encontraron en equinos.

Al no conocer la situación de la leptospirosis en equinos, en las zonas urbanas y comunidades rurales del Municipio de Chihuahua, en el Estado de Chihuahua, donde hay una alta población caballar, se planteó muestrear caballos. Sin embargo, los dueños de los equinos al no conocer sobre la enfermedad, no aceptaban que sus caballos formaran parte del estudio.

Al presentarse los argumentos, en cualquier lugar donde los caballos se encontraran estabulados, que en los alimentos almacenados tienen acceso los roedores y que con la orina pueden contaminar de leptospiras, aunado a la presencia de perros que también suelen convivir con los equinos y que son una fuente potencial de infección, además de la convivencia frecuente entre los caballos, se convencieron algunos propietarios de hípicas para a formar parte del estudio.

En algunos ejidos aledaños a la ciudad de Chihuahua, se reunió a los propietarios de equinos para informarles sobre el estudio y se les explicó que el proyecto incluía seguimiento en el tratamiento de animales positivos, con respecto a las consultas lo que fue de su agrado. Por lo difícil que es encontrar la enfermedad con el clima seco que se tiene en la región se tuvieron que tomar varias muestras hasta que se

encontró una yegua positiva. Así se demostró que la enfermedad si se puede encontrar en lugares secos y los estudios se realizaron.

JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a los antecedentes descritos y considerando que en equinos rurales y urbanos, aledaños al Municipio de Chihuahua no se han llevado a cabo estudios de leptospirosis, y que debido a esto no se conocen las serovares involucradas que causen infecciones en la región, la finalidad del presente trabajo de investigación fue identificar las diferentes serovariedades de *Leptospiras* que están presentes en suero de equinos, asociadas con anticuerpos de leptospiras.

MATERIAL Y METODOS

Toma de muestras

Se obtuvieron muestras de suero de 56 equinos rurales y urbanos aledaños al Municipio de Chihuahua, 30 machos de 4 a 8 años de edad y 26 hembras de 3 a 7 años de edad. La toma de sangre, se realizó mediante la obtención de sangre en tubos de plástico, estéril, al alto vacío, desechable con tapón de seguridad color rojo y con partículas de sílice en el interior, como activador de la coagulación para la separación del coágulo, y sin anticoagulante. Se utilizaron agujas calibre 21G X 32 mm y un adaptador de succión *Luer*. Los tubos con sangre se dejaron reposar al medio ambiente y en la sombra, y se centrifugaron para obtener los sueros, los cual se decantaron en viales estériles etiquetados, éstos se mantuvieron en congelación a menos 20°C hasta su análisis por la técnica de aglutinación microscópica (MAT). Los caballos fueron muestreados en sus caballerizas, con ayuda de los propietarios, y se procedió a sacar la muestra de sangre de la vena yugular.

Lugar de estudio

Las muestras se analizaron en el Centro de Diagnóstico Integrado y de Investigaciones en Salud Animal del Estado de Chihuahua (Laboratorio de Diagnóstico Clínico Zoosanitario autorizado por SAGARPA con el No. 175), del Comité Estatal de Fomento y Protección Pecuaria de Chihuahua, A.C., ubicado en la Unión Ganadera Regional de Chihuahua en Carretera a Cuauhtémoc km 8.5, Col. Las Animas, 31450.

Técnica de microaglutinación

El método consiste en mezclar el suero a estudiar con leptospiras cultivadas, para evaluar el grado de aglutinación usando un microscopio de campo oscuro. De acuerdo con el Subcomité de Taxonomía en *Leptospira*, el punto de corte se define como la dilución del suero que muestre el 50 % de aglutinación, dejando 50 % de células libres,

cuando se le compara con un control que consiste en un cultivo diluido 1:2 en una solución amortiguadora de fosfato salino. La MAT permanece como prueba de referencia y es usada para detectar anticuerpos y determinar sus títulos. Esta prueba puede ofrecer una indicación del serogrupo al cual pertenece el serovar infectante, pero raramente lo identifica. La MAT detecta tanto los anticuerpos tipo IgM como IgG. La prueba no puede ser estandarizada ya que utiliza antígenos vivos, factores como la edad y densidad del antígeno en el cultivo puede influir en el título de aglutinación (International Committee on Systematics of Prokaryotes, 2008).

Materiales y reactivos

Se utilizaron placas plásticas para microtitulación de 96 pocillos de fondo plano. Se utilizaron 9 serovares de leptospiras de referencia nacional e internacional, siendo estas *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pyrogenes*, *L. canicola*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. wolffi*, *L. tarassovi*, *L. bratislava* y *L. grippothyphosa*, para realizar MAT. Las muestras de sueros con dilución 1:50 o superior, se consideraron positivas, al observar con el microscopio de campo oscuro en un aumento 10X, una aglutinación o desaparición de células en el campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 56 muestras solo dos yeguas (3.57%), de 6 y 7 años de edad, dieron positivas a leptospirosis con la técnica de MAT a la serovar Grippothyphosa, con una titulación 1:100. Estas yeguas nunca se habían podido preñar.

Es bien conocido que las principales manifestaciones clínicas en equinos debido a infección por *Leptospira* spp, son la uveítis recurrente y el aborto (Divers y col., 1992). *Leptospira interrogans* serovar Pomona y *L. Kirschneri* serovar Grippotyphosa han sido descritas como la causa más común de la enfermedad infecciosa en Norte América y Europa, respectivamente (Halliwell y col., 1985; Hartskeerl y col., 2004). Otros estudios realizados en equinos sacrificados en rastro, donde se recolectaron ojos con uveítis evidente y se analizaron el humor vítreo, el humor acuoso, además de suero, se encontraron aislamientos de *Leptospira* spp. y la identificación serológica de *L. interrogans* serovar Pomona tipo kennewicky (Verma y col., 2005; Verma y col., 2012).

En casos de aborto equino en Kentucky, se ha encontrado también a *Leptospira interrogans* serovares Kennewicky, Gryppotyphosa, y Pomona, y los serogrupos a los que pertenecen son Pomona, Gryppotyphosa y Serjoe. En Europa, además se han descrito las serovares Icterohaemorrhagiae, Australis, Serjoe y Autumnalis. En Ontario, Canadá la serovar Kennewicky también es frecuente (Donahue y col., 1995).

En Argentina, algunos estudios serológicos y aislamientos a partir de riñón de equinos, han mostrado leptospiras del serotipo Hardjo y cepas de *Leptospira biflexa*. Estos aislamientos mostraron reacciones cruzadas con serotipos de Hebdomadis. También se ha encontrado una prevalencias de 74.6% de leptospirosis en sueros de caballos de rastro, encontrándose las serovares Pomona, Hebdomadis, Pyrogenes, Tarassovi y Canicola. La serovar Biflexa mostró reacciones positivas en un 99.1% de los sueros de equino (Myers, 1976).

La leptospirosis en equinos es una de las causas más importantes de enfermedades emergentes debido a abortos en equinos (Donahue y Williams, 2000), siendo *Leptospira interrogans* sv Pomona la causa más frecuente de leptospirosis equina, sin embargo espiroquetas pertenecientes a las serovares Canicola, Bratislava, Icterohaemorrhagiae y Sejroe están presentes con menos frecuencia (Alston y Broom, 1958; Donahue y col., 1992; Donahue y col., 1995; Donahue y col., 1991; Vemulapalli y col., 2005) y *L. kirschneri* sv Grippotyphosa (Verma y col., 1977; Hashimoto y col., 2007).

En equinos de México se han reportado frecuencias de serovares en tres centros ecuestres que incluyen *L. pyrogenes* (100%), *L. canicola* (96%), *L. jez bratislava* (56.5%, 61.1% y 80.6%), *L. pyrogenes* (61.1% y 72.2%), *L. autumnalis* (66.7%)(Gómez-Molina, 2005).

De acuerdo con los estudios realizados por Gómez-Molina (2005), nuestra hipótesis se basó en sus resultados planteando que los equinos rurales y urbanos del Municipio de Chihuahua en el Estado de Chihuahua presentan las serovares de *L. pyrogenes*, *L. canicola* y *L. Bratislava*, sin embargo ésta se rechaza ya que en éste trabajo solo se presentó a *L. Grippotyphosa*, como la única serovar encontrada, pero a pesar de ello nuestro estudio concuerda con varias investigaciones realizadas en equinos de varias partes del mundo, descritas anteriormente (Donahue y col., 1995; Halliwell y col., 1985; Hartskeerl y col., 2004; Hashimoto y col., 2007; Verma y col., 1977).

Por otra parte, nuestro estudio también contrasta con el porcentaje de seropositividad de *Leptospira* encontrado por Gómez-Molina (2005), ya que se encontró un porcentaje de 3.57 comparado con un mínimo de 56.5% reportado en tres centros ecuestres de México. Aun así, desde la década de los 50s se conoce por medio de varios estudios serológicos, que alrededor del mundo la infección en caballos puede ser comúnmente inaparente, y las infecciones varían desde el 2% al 70% (Hanson y col., 1969) y en Estados Unidos del 5% al 67% (Harrington, 1975; Hodgkin y col., 1989).

La alta frecuencia de leptospirosis positiva con la técnica de MAT, reportada por Gómez-Molina (2005), se puede deber a que los caballos se encuentran estabulados en criaderos donde conviven alrededor de 400 equinos en total y en el presente estudio los animales, aunque andan en competencias y se llegan a conglomerar en eventos ecuestres, viven aislados de 2 a 10 animales por propietario.

CONCLUSIONES

El estudio serológico para la determinación de Leptospirosis en equinos de áreas urbanas y rurales aledañas al Municipio de Chihuahua muestran una baja incidencia de leptospirosis.

Se recomienda realizar estudios más amplios para complementar la investigación considerando el convivio con otros animales, así como las instalaciones en que se encuentran los animales en estudio.

LITERATURA CITADA

1. **Ahmad, S.N., Shah, S. y Ahmad, F.M. (2005).** Laboratory diagnosis of leptospirosis. *J. Postgrad. Med.* 51:195-200.
2. **Alonso-Andicoberry, C., García-Peña, F.J. y Ortega-Mora, L.M. (2001).** Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis (Revisión). *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.* 16(2):205-225.
3. **Alston, J.M. y Broom, J.C. (1958).** Leptospirosis in man and animals. E & S. Livingstone Ltd., Edinburgh.
4. **Alton, G.D., Berke, O., Reid-Smith, R., Ojkic, D. y Prescott, J.F. (2009).** Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors, Ontario 1998–2006. *Can. J. Vet. Res.* 73:167-175.
5. **Arean, V.M. (1962).** The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). *Am. J. Pathol.* 40:393-423.
6. **Arimitsu, Y., Haritani, K., Ishiguro, N. y Kobayashi, S. (1998).** Detection of antibodies to leptospirosis in experimentally infected dogs using the microcapsule agglutination test. *British Vet. J.* 145:356-361.
7. **Atzingen, M.V., Barbosa, A.S., De Brito, T., Vasconcellos, S.A. de Moraes, Z.M., Lima, D.M., Abreu, P.A. y Nascimento, A.L. (2008).** Lsa21, a novel leptospiral protein binding adhesive matrix molecules and present during human infection. *BMC Microbiol.* 8:70.
8. **Barbosa, A.S., Abreu, P.A.E., Vasconcellos, S.A., Moraes, Z.M., Gonçalves, A.P., Silva, A.S., Dahan, M.R. y Isaac, L. (2009).** Immune evasion of *Leptospira* species by acquisition of human complement regulator C4BP. *Infect. Immun.* 77:1137-1143.
9. **Barbosa, A.S., Monaris, D., Silva, L.B., Moraes, Z.M., Vasconcellos, S.A., Cianciarullo, A.M., Isaac, L. y Abreu, P.A.E. (2010).** Functional characterization of LcpA, a surface-exposed protein of *Leptospira* spp. that binds the human complement regulator C4BP. *Infect. Immun.* 78:3207-3216.
10. **Barocchi, M.A., Ko, A.I., Reis, M.G., McDonald, K.L. y Riley, L.W. (2002).** Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintracellular pathogen. *Infect. Immun.* 70:6926-6932.

11. **Bernard, W.V. (1993).** Leptospirosis. *Vet. Clin. N. Am. Equine. Pract.* 9:435–444.
12. **Bernard, W.V., Williams, D., Tuttle, P.A. y Pierce, S. (1993).** Hematuria and leptospiruria in a foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203:276-278.
13. **Bharti, A.R., Nally, J.E., Ricaldi, J.N., Matthias, M.A., Diaz, M.M., Lovett, M.A., Levett, P.N., Gilman, R.H., Willig, M.R., Gotuzzo, E. y Vinetz, J.M. (2003).** Leptospirosis: a zoonotic disease of a global importance. *Lancet Infect. Dis.* 3:757-771.
14. **Bourhy, P., Bremont, S., Zinini, F., Giry, C. y Picardeau, M. (2011).** Comparison of Real-Time PCR assays for detection of pathogenic *Leptospira* spp. in blood and identification of variations in target sequences. *J. Clin. Microbiol.* 49(6):2154-2160.
15. **Breiner, D.D., Fahey, M., Salvador, R., Novakova, J. y Coburn, J. (2009).** *Leptospira interrogans* binds to human cell surface receptors including proteoglycans. *Infect. Immun.* 77(12):5528–5536.
16. **Brenner, D.J., Kaufmann A.F., Sulzer, K.R., Steigerwalt, A.G., Rogers, F.C. y Weyant, R.S. (1999).** Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49:839-858.
17. **Brihuega, B., Venzano, A., Diodati, J., Boffi, A., Funes, D., Auteri, C., Romero, G. y Samartino, L. (2011).** Alteraciones ultramicroscópicas en tejido placentario de animales infectados con *Leptospira interrogans* serovar *Pomona*. *Rev. Argentina de Microbiol.* 43:68.
18. **Broux, B., Torfs, S., Wegge, B., Deprez, P., van Loon, G. (2012).** Acute respiratory failure caused by *Leptospira* spp. in 5 foals. *J. Vet. Intern. Med.* 26:684–687.
19. **Cerqueira, G.M., McBride, A.J.A., Queiroz, A., Pinto, L.S., Silva, E.F., Hartkeerl, R.A., Reis, M.G., Ko, A.I. y Dellagostin, O.A. (2010).** Monitoring *Leptospira* strain collections: The need for quality control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 82(1):83-87.
20. **Cinco, M. (2010).** New insights into the pathogenicity of leptopires: evasión of host defences. *New Microbiol.* 33:283-292.
21. **Choy, H.A., Kelley, M.M., Chen, T.L., Møller, A.K., Matsunga, J. y Haake, D.A. (2007).** Physiological Osmotic Induction of *Leptospira interrogans* Adhesion: LigA and LigB Bind Extracellular Matrix Proteins and Fibrinogen. *Infect. Immun.* 75:2441-2450.

- 22. Crane, C.S. (1956).** A report on leptospirosis in a herd of Shetland ponies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 129:260-262.
- 23. Cumberland, P., Everard, C.O.R. y Levett, P.N. (1999).** Assessment of the efficacy of an IgM-ELISA and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61(5):731-734.
- 24. Chappel, R.J., Goris, M., Palmer, M.F. y Hartskeerl, R.A. (2004).** Impact of proficiency testing on results of the microscopic agglutination test for diagnosis of leptospirosis. *J. Clin. Microbiol.* 42:5484-5488.
- 25. Daher, E.F., Lima, R.S.A., Silva Junior, G.B., Silva, E.C., Karbage, N.N., Kataoka, R.S., Carvalho Junior, P.C., Magalhães, M.M., Mota, R.M. y Liborio, A.B. (2010).** Clinical presentation of leptospirosis: a retrospective study of 201 patients in a metropolitan city of Brazil. *Braz. J. Dis.* 14(1):3-10.
- 26. Daher, E.F., Zanetta, D.M.T., Cavalcante, M.B. y Abdulkader, R.C. (1999).** Risk factors for death and changing patterns in leptospirosis acute renal failure. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61(4):630-634.
- 27. de Castro, J.R., Sampaio-Salaberry, S.R., de Souza, M.A. y Correia Lima-Ribeiro, A.M. (2011).** Sorovares de *Leptospira* spp. predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 44(2):217-222
- 28. Delgado, G.R., Ahuejote, R.A. y Banda, R.V. (2013).** Análisis serológico e histopatológico de leptospirosis en caninos del Municipio de Torreón, Coahuila, México. Memorias del XXII Congreso Nacional de Patología Veterinaria. SMPV, A.C. EMVZ de la UABJO. 1-3 de mayo de 2013. Oaxaca, Oax.
- 29. Divers, T.J., Byars, T.D. y Shin, S.J. (1992).** Renal dysfunction associated with infection of *Leptospira interrogans* in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201:1391–1392.
- 30. Donahue, J.M, Smith, B.J., Poonacha, K.B., Donahoe, J.K. y Rigsby, C.L. (1995).** Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991-1993 foaling seasons. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:87-91.
- 31. Donahue, J.M., Smith, B.J., Redmon, K.J. y Donahue, J.K. (1991).** Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3:148-151.

- 32. Donahue, J.M., Smith, B.J. y Donahoe, J.K... (1992).** Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1990 foaling season. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4:279–284.
- 33. Donahue, J.M. y Williams, N.M. (2000).** Emergent causes of placentitis and abortion. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.* 16:443–456.
- 34. Dong, K., Li, Q., Liu, C., Zhang, Y., Zhao, G. y Guo, X. (2010).** Cloning and characterization of three cheB genes in *Leptospira interrogans*. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 42(3):216-223.
- 35. Draghi, M.G., Brihuega, B., Benítez, D., Sala, J.M., Biotti, G. M., Pereyra, M. Homse, A. y Guariniello, L. (2011).** Brote de leptospirosis en terneros en recría en la provincia de Corrientes, Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 43(1):42-44.
- 36. Ellis, W.A. (1994).** Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 10(3): 463-478.
- 37. Ellis, W.A., O'Brien, J.J., Cassells, J.A. y Montgomery, J. (1983a).** Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: serological and microbiological findings. *Equine Vet. J.* 15:317-320.
- 38. Ellis, W.A., O'Brien, J.J., Cassells, J.A. y Montgomery, J. (1983b).** Leptospiral infection in aborted equine fetuses. *Equine Vet. J.* 15:321-324.
- 39. Ellis, W.A. y Michna, S.W. (1976).** Bovine leptospirosis: infection by the Hebdomadis serogroup and abortion-A herd study. *Vet. Rec.* 99:409-412.
- 40. Evangelista, K.V. y Coburn, J. (2010).** *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol.* 5(9):1413-1425.
- 41. Everard, J.D. (1996).** Leptospirosis, p. 111–119, 416–418. In F. E. G. Cox (ed.), The Wellcome Trust illustrated history of tropical diseases. The Wellcome Trust, London, U.K.
- 42. Faber, N.A., Crawford, M., LeFebvre, R.B., Buyukmihci, N.C., Madigan, J.E. y Willits, N.H. (2000).** Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. *J. Clin. Microbiol.* 38:2731-2733.
- 42. Faine, S. (1994).** *Leptospira* and leptospirosis. CRC Press, Boca Raton, Fla.

- 43. International Committee on Systematics of Prokaryotes: Subcommittee on the Taxonomy Leptospiraceae. (2008).** *Intern. J. of Systematic and Evolutionary Microbiol.* 58:1049-1050
- 44. Gilger, B.C. y Michau, T.M. (2004).** Equine recurrent uveitis: new methods of management. *Vet. Clin. Equine.* 20:417–427.
- 45. Gilman, R.H., Willig, M.R., Gotuzzo, E. y Vinetz, J.M. (2003).** Peru – United States Leptospirosis Consortium: Leptospirosis: a zoonótica disease of global importance. *Lancet Infect. Dis.* 3:757-71.
- 46. Gómez-Molina, T.G. (2005).** Serovariedades de *Leptospira* presentes en ganado de tres centros ecuestres pertenecientes al Ejército Mexicano. *Rev. Sanid. Milit. Mex.* 59(4):260-264.
- 47. Goris, M.G.A., Wagenaar, J.F.P., Hartskeerl, R.A., van Gorp, E.C.M., Schuller, S., Monahan, A.M., Nally, J.E., van der Poll, T. y van 't Veer, C. (2011).** Potent innate immune response to pathogenic *Leptospira* in human whole blood. *PLoS One.* 6(3):e18279.
- 48. Guerreiro, H., Croda, J., Flannery, B., Mazel, M., Matsunaga, J., Reis, M.G., Levett, P.N., Ko, A.I. y Haake, D.A. (2001).** Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. *Infect. Immun.* 69:4958-4968.
- 49. Hall, C.E. y Bryans, J.T. (1952).** A case of leptospirosis in a horse. *Cornell Vet.* 44:345-348.
- 50. Halliwell, R.E., Brim, T.A., Hines, M.T., Wolf, D. y White, F.H. (1985).** Studies on equine recurrent uveitis. II. The role of infection with *Leptospira interrogans* serovar Pomona. *Curr. Eye Res.* 4:1033–1040.
- 51. Hanson, L.E., Martin, R.J., Gibbons, R.W. y Schnurrenberger, P.R. (1969).** Equine leptospirosis. *Proc. US Anim. Health Assoc.* 73:169-180.
- 52. Harrington, R. (1975).** Leptospiral antibodies in serum from cattle, swine, horses, deer, sheep, and goats: 1973 and 1974. *Am. J. Vet. Res.* 36:1367-1370.
- 53. Hartskeerl, R.A., Goris, M.G., Brem, S., Meyer, P., Kopp, H., Gerhards, H. y Wollanke, B. (2004).** Classification of leptospira from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. *J. Vet. Med. B* 51:110–115.

- 54. Hashimoto, V.Y., Goncalves, D.D., Silva, F.G., Oliveira, R.C., Alves, L.A., Reichmann, P., Muller, E.E. y Freitas, J.C. (2007).** Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 49:327-330.
- 55. Hathaway, S.C., Little, T.W., Finch, S.M. y Stevens, A.E. (1981).** Leptospiral infection in horses in England: a serological study. *Vet. Rec.* 108:396-398.
- 56. Hodgkin, E.C., Miller, D.A. y Lozano, F. (1989).** Leptospira abortion in horses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1:283-287.
- 57. Hotka, M.L., Wilson, M.A., Anderson, T.M., Tichenor, C.L. y Miller, D.A. (2007).** Comparative serological study of *Leptospira* serovar *hardjo* genotypes for use in the microscopic agglutination test. *J. Vet. Invest.* 19:84-87.
- 58. Jin, D., Ojcius, D.M., Sun, D., Dong., H., Luo, Y., Mao., Y. y Yan, J. (2009).** *Leptospira interrogans* induces apoptosis in macrophages via caspase-8- and caspase-3 dependent pathways. *Infect. Immun.* 77(2):799-809.
- 59. Kingscote, B.F. y Wilson, D. (1986).** *Leptospira pomona* abortion storm in a cattle herd in Saskatchewan. *Can. Vet. J.* 440-442.
- 60. Ko, A.I., Goarant, C. y Picardeau, M. (2009).** *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 7:736–747.
- 61. Ko, A.I., Reis, M.G., Ribeiro-Dourado, C.M., Johnson, W.D. y Riley, M.W. (1999).** Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *Lancet.* 354:820–825.
- 62. Leanne, M., De Weyer, V., Hendrick, S., Rosengren, L. y Waldner, C.L. (2011).** Leptospirosis in beef herds from western Canada: Serum antibody titers and vaccination practices. *Can. Vet. J.* 52:619-626.
- 63. Leonard, N., Mee, J.F., Snijders, S. y Mackie D. (2004).** Prevalence of antibodies to *Leptospira interrogans* serovar Hardjo in bulk tank milk from unvaccinated Irish dairy herds. *Iris Vet. J.* 57(4):226-231.
- 64. Levett, P.N. (2001).** Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14:296–326.
- 65. Levett, P.N. y Whittington, C.U. (1998).** Evaluation of the indirect hemagglutination assay for diagnosis of acute leptospirosis. *J. Clin. Microbiol.* 36:11-14.

- 66. Lindahl, E., Boqvist, S., Artursson, K. y Magnusson, U. (2011).** A field-study on *Leptospira* seroprevalence in dairy cows in four geographical areas in Sweden. *Acta Vet. Scan.* 53:53.
- 67. Lourdault, K., Aviat, F. y Picardeau, M. (2009).** Use of quantitative real-time PCR for studying the dissemination of *Leptospira interrogans* in the guinea pig infection model of leptospirosis. *J. Med. Microbiol.* 58:648-655.
- 68. Luna, A.M.A., Moles, C.L.P., Gavaldón, R.D., Nava, V.C., y Salazar, G.F. (2008).** La leptospirosis canina y su problemática en México. *Rev. Salud Anim.* 30(1):1-11.
- 69. Merien, F., Baranton, G. y Perolat, P. (1997).** Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. *Infect. Immun.* 65:729-738.
- 70. Miller, D.A., Wilson, M.A. y Beran, G.W. (1991).** Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection in mature cattle in the United States. *Am. J. Vet. Res.* 52:1761-1765.
- 71. Moore, G.E., Guptill, L.F., Glickman, N.W., Caldanaro, R.J., Aucoin, D. y Glickman L.T. (2006).** Canine Leptospirosis, United States, 2002–2004. *Emerging Infectious Diseases.* 12(3):501-503.
- 72. Morter, R.L., Williams, R.D., Bolte, H. y Freeman, M.J. (1969).** Equine leptospirosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155:436–442.
- 73. Myers, D.M. (1976).** Serological studies and isolations of serotype Hardjo and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. *J. Clin. Microbiol.* 3(6): 548-555.
- 74. Natarajaseenivasan, K., Vedhagiri, K., Sivabalan, V., Prabakaran, Sukumar, S., Artiushin, S.C. y Timoney, J.F. (2011).** Seroprevalence of *Leptospira borgpetersenii* serovar javanica infection among dairy cattle, rats and humans in the Cauvery river valley of southern India. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 42(3):679-686.
- 75. Noguchi, H. (1919).** IV. The acquires immunity of guinea pigs against *Leptospira icteroides* after the inoculation of blood of Yellow Fever Patients. *Lab. Rockefeller Inst. Med. Res.* 1-8.
- 76. Noguchi, H, (1920).** *Leptospira icteroides* and Yellow Fever. *Pathology.* 6:110-111.

- 77. Noguchi, H. y Kligler, I.J. (1920).** Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated a case of yellow fever in Merida, Yucatan. *J. Exp. Med.* 32:627-637.
- 78. OIE (2004).** Leptospirosis. In Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Volume 1. 5th edition. OIE Biological Standards Commission and adopted by the International Committee of the OIE. Office International des epizooties. Paris, France; 316-327.
- 79. Ooi, B.S., Chen, B.T., Tan, K.K. y Khoo, O.T. (1972).** Human renal leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21:336–341.
- 80. Patarakul, K., Lo, M., y Adler, B. (2010).** Global transcriptomic response of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni upon exposure to serum. *BMC Microbiology.* 10:31
- 81. Peregrine, A.S., Martin, S.W., Hopwood, D.A., Duffield, T.F., McEwen, B., Hobson, J.C. y Hietala, S.K. (2006).** *Neospora caninum* and *Leptospira* serovar serostatus in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J.* 47:467-470.
- 82. Pinto, J.R.S., Ferreira, F., Ferreira N.J.S., de Arruda V.S. y de Souza L.E. (2011).** Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 106(4):441-444.
- 83. Prescott, J.F. (2008).** Canine leptospirosis in Canada: a veterinarian's perspective. *Can. Med. Assoc. J.* 178(4):397-398.
- 84. Prescott. J.F., Miller, V.M., Nicholson, S.W., Martin, S.W. y Lesnick, T. (1988).** Seroprevalence and association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontario. *Can. J. Vet. Res.* 52:210-215.
- 85. Rajeev, S., Berghaus, R.D., Overton, M.W., Pence, M.E. y Baldwin C.A. (2010).** Comparison of fluorescent antibody and microscopic agglutination testing for *Leptospira* in pregnant and nonpregnant cows. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22:51-54.
- 86. Ristow, P., Bourhy, P., Kerneis, S., Schmitt, C., Prevost, M.C., Lilenbaum, W. y Picardeau, M. (2008).** Biofilm formation by pathogenic and saprophytic *Leptospira*. *Microbiology.* 154:1309-1317.
- 87. Roberts, S. J. (1958).** Sequelae of leptospirosis in horses on a small farm. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 133:189–194.

- 88. Roberts, S.J. (1969).** Comments on equine leptospirosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155:442-445.
- 89. Roberts, S.J., York, C.J. y Robinson, J.W. (1952).** An outbreak of leptospirosis in horses on a small farm. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 121:237-242.
- 90. Romero, M.H., Sánchez, J.A. y Hayek, L.C. (2010).** Leptospira en población urbana humana y canina del Departamento de Tolima. *Rev. Salud. Pública.* 12(2):268-275.
- 91. Romero, M.H. y Sanchez, V.J. (2009).** Seroprevalence of the canine leptospirosis in three municipalities of the Tolima department – Colombia. *Rev. MVZ Córdoba* 14(2):1684-1689.
- 92. Rubel, D., Seijo, A., Cernigoi, B., Viale, A. y Wisnivesky-Colli, C. (1997).** *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. *Rev. Panam. Salud Publica/Pan. Am. J. Public. Health.* 2(2):102-105.
- 93. Smith, C.R., McGowan, M.R. y McClintock, C.S. (1997).** Experimental *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo infection in pregnant cattle. *Aust. Vet. J.* 75:822-826.
- 94. Sykes, J.E. (2011).** 2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. *J. Vet. Intern. Med.* 25:1-13.
- 95. Tian, Y.C., Chen, Y.C., Hung, C.C., Chang, C.T., Wu, M.S., Phillips, A.O. y Yang, C.W. (2006).** Leptospiral outer membrane protein induces extracellular matrix accumulation through a TGF-B1/Smad-dependent pathway. *J. Am. So. Nephrol.* 17:2792-2798.
- 96. Tian, Y.C., Hung, C.C., Li, Y.J., Chen, Y.C., Chang, M.Y., Yen, T.H., Hsu, H.H., Wu, M.S., Phillips, A.O. y Yang, C.W. (2011).** *Leptospira santorosai* serovar Shermani detergent extract induces an increase in fibronectin production through a Toll-like receptor 2-mediated pathway. *Infect. Immun.* 79(3):1134-1142.
- 97. Toyokawa, T., Ohnishi, M. y Koizumi, N. (2011).** Diagnosis of acute leptospirosis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 9:111–121.

- 98. Trueba, G., Zapata, S., Madrid, K., Cullen, P. y Haake, D. (2004).** Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. *Internal. Microbiol.* 7:35-40.
- 99. van den Ingh, T.S., Hartman, E.G. y Bercovich, Z. (1989).** Clinical *Leptospira interrogans* serogroup *Australis* serovar *Iora* infection in a stud farm in The Netherlands. *Vet. Q.* 11:175-182.
- 100. Varela, G., Curbelo, A., Vázquez, A. y Guzmán, E. (1954).** Estudio de leptospirosis en las ciudades de Veracruz, Tampico, México, de la República Mexicana. *Rev. Inst. Salub. Enf. Trop.* 14: 123-131.
- 101. Varela, G. y Vázquez, A. (1953).** Nota preliminar acerca de la Leptospirosis en la ciudad de México. *Rev. Med. Mex.* 33:279-291.
- 102. Vemulapalli, R., Langohr, I.M., Sanchez, A., Kiupel, M., Bolin, C.A., Wu, C.C. y Lin, T.L. (2005).** Molecular detection of *Leptospira kirschneri* in tissues of a prematurely born foal. *J. Vet. Diagn. Invest.* 17:67-71.
- 103. Verma, A., Artiushin, S., Matsunaga, J., Haake, D.A., y Timoney, J.F. (2005).** LruA and LruB, novel lipoproteins of pathogenic *Leptospira interrogans* associated with Equine Recurrent Uveitis. *Infect. Immun.* 73(11):7259–7266.
- 104. Verma, A., Matsunaga, J., Artiushin, S., Pinne, M., Houwers, D.J., Haake, D.A., Stevenson, B. y Timoney, J.F. (2012).** Antibodies to a novel Leptospiral protein, LruC, in the eye fluids and sera of horses with *Leptospira*-associated uveitis. *Clin. Vaccine Immunol.* 19(3):452. DOI: 10.1128/CVI.05524-11.
- 105. Verma, B.B., Biberstein, E.L. y Meyer, M.E. (1977).** Serologic survey of leptospiral antibodies in horses in California. *Am. J. Vet. Res.* 38:1443-1444.
- 106. Wang, B., Sullivan, J.A., Sullivan, G.W. y Mandell, G.L. (1984a).** Role of specific antibody in interaction of leptospires with human monocytes and monocyte-derived macrophages. *Infect. Immun.* 46:809-813.
- 107. Wang, B., Sullivan, J.A., Sullivan, G.W. y Mandell, G.L. (1984b).** Interaction of leptospires with human polymorphonuclear neutrophils. *Infect. Immun.* 44:459-464.
- 108. Weil, A. (1886).** Ueber eine eigentümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit. *Dtsche. Arch. Klin. Med.* 39:209–232. Tomado de: Woodward, M.J., Swallow, C., Kitching, A., Dalley, C. y Sayers, A.R. (1997).

Leptospira Hardjo serodiagnosis: a comparison of MAT, ELISA and Immunocomb. *Vet. Rec.* 141:603–604.

109. Williams, R.D., Morter, R.L., Freeman, M.J. y Lavignette, A.M. (1971).

Experimental chronic uveitis: ophthalmic signs following equine leptospirosis. *Investig. Ophthalmol.* 10:948–954.

110. Winslow, W.E., Merry, D.J., Pirc, M.L. y Devine, P.L. (1997). Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. *J. Clin. Microbiol.* 35:1938-1942.

111. Woodward, M.J., Swallow, C., Kitching, A., Dalley, C. y Sayers, A.R. (1997).

Leptospira Hardjo serodiagnosis: a comparison of MAT, ELISA and Immunocomb. *Vet. Rec.* 141:603–604.

112. World Health Organization (WHO) (2003). Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control. Malta: World Health Organization.

113. World Health Organization (WHO) (2011). Weekly epidemiological record.

Leptospirosis: an emerging public health problem. 6:45-52.

114. Yan, W., Saleem, M.H., McDonough, P., McDonough, S.P., Divers, T.J. y

Chang, Y.F. (2013). Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay using a recombinant LigA fragment comprising repeat domains 4 to 7.5 as an antigen for diagnosis of equine leptospirosis. *Clin. Vaccine Immunol.* 20(8):1143. DOI:

10.1128/CVI.00245-13.

115. Yan Zhang, Xiao-Li Lou, Hong-Liang Yang, Xian-Yan Zhang, Xiao-Kui Guo, Ping He, Xu-Cheng Jiang. (2012). Establishment of a leptospirosis model in guinea pigs using an epicutaneous inoculations route. *BMC Infectious Diseases.* 12:20.

Doi:10.1186/1471-2334-12-20.

116. Yuri, K., Takamoto, Y., Okada, M., Hiramune, T., Kikuchi, N. y Yanagawa, R.

(1993). Chemotaxis of leptospire to hemoglobin in relation to virulence. *Infect. Immun.* 61:2270-2272.

117. Zuerner, R.L., Alt, D.P., Palmer, M.V. Thacker. T.C. y Olsen, S.C. (2011). A

Leptospira borgpetersenii serovar Hardjo vaccine induces a Th1 response, activates NK cells, and reduces renal colonization. *Clin. Vaccine Immunol.* 18(4):684-691.