



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

“Seroepidemiología y análisis espacial para caracterizar los factores de riesgo para leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarqui”.

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Médico
Veterinario Zootecnista

Autores:

Pedro Esteban Chuva Castillo CI: 0105457907

Juan Diego Yunga Bacuilima CI: 0105927354

Director:

Dr. Víctor Guillermo Serpa García M. Sc

CI: 0300552213

Cuenca – Ecuador

25/02/2019



RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo caracterizar la seroepidemiología, la distribución espacial y los factores de riesgo en haciendas y domicilios de tres comunidades de la Parroquia Tarqui, con un total de 249 perros muestreados aleatoriamente y que se sometieron a la prueba de MAT para leptospirosis canina, las muestras se procesaron en Laboratorio de Zoonosis del Instituto Nacional de Investigación de Salud Pública (INSPI) de las ciudades de Cuenca y Guayaquil.

Se tomó en consideración los perros con dueños que vivan en haciendas y domicilios. Se excluyeron los perros que en el último año los hayan vacunado contra la leptospirosis. Para el análisis de los resultados se utilizó, Chi cuadrado de Pearson de la estadística no paramétrica con significancia de 95 %, las variables que dieron significancia fueron *lugar*, *tipo de residencia* y *perros que viven sueltos a voluntad*. Las pruebas fueron analizadas con el software SPSS 24. Se utilizó análisis espacial para conocer la ubicación de los casos positivos generando mapas de distribución espacial de las variables analizadas. Para esto se trabajó con receptores GPS, para la toma de coordenadas de la ubicación de haciendas y domicilios de los propietarios de los perros, en las haciendas y domicilios de las tres comunidades de Tarqui. Se encontró un 61,8 % de casos positivos, siendo *L canícola* (26 %) el serovar con mayor presencia, mientras que Tutupali Chico fué la comunidad con mayor presencia de la enfermedad (77,6%), seguido Centro Parroquial (63,2%) y Gullanzhapa (45,5%).

Palabras claves: Leptospirosis canina. Tamizado. MAT. Serovares. Análisis espacial. Epidemiología.



ABSTRACT

The main objective of this research is to characterize seroepidemiology, its spatial distribution and risk factors in haciendas and domiciles of three communities of the Tarqui Parish, with a total of 249 dogs randomly sampled and underwent the MAT test for canine leptospirosis. , the samples were processed at the Zoonoses Laboratory of the National Institute of Public Health Research (INSPI) of the cities of Cuenca and Guayaquil.

Dogs with owners who live in haciendas and domiciles. Dogs that have been vaccinated against leptospirosis in the last year were excluded. For the analysis of the results, Pearson's Chi square of nonparametric statistics with significance of 95% was used, the variables that gave significance were place, Type of residence and dogs that live loose at will. The tests were analyzed with the software SPSS 24. Spatial analysis was used to know the location of the positive cases generating spatial distribution maps of the variables analyzed. For this, GPS receivers were used to take the coordinates of the location of the haciendas and addresses of the dog owners, in the haciendas and domiciles of the three communities of Tarqui. 61.8% of positive cases were found, with *L. canicola* (26%) serovar with the greatest presence, while Tutupali Chico was the community with the greatest presence of the disease (77.6%), followed by Parochial Center (63, 2%) and Gullanzhapa (45.5%).

Key words: Canine leptospirosis. Sifted. MAT. Serovars. Spatial analysis, Epidemiology.



ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	17
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo General.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3. HIPÓTESIS.....	18
4. REVISIÓN DE LITERATURA	19
4.1 Clasificación y características de <i>Leptospira</i>	19
4.2 Definiciones.....	20
4.3 Epidemiología de leptospirosis en perros domésticos.....	21
4.4 Distribución de leptospirosis canina en Latinoamérica.....	21
4.5 Distribución de leptospirosis canina en el mundo.....	22
4.6 Huéspedes y reservorios	26
4.7 Transmisión	26
4.8 Patogénesis de leptospirosis canina.....	26
4.9 Factores de riesgo en leptospirosis canina.....	27
4.10 Cambio climático y la leptospirosis, como enfermedad zoonótica reemergente	28
4.11 Diagnóstico de laboratorio.....	28
4.12 Tratamiento para leptospirosis canina	28
4.13 Medidas de prevención y control para leptospirosis canina	29
4.14 Consecuencias para la Salud Pública.....	29
4.15 Técnicas de análisis espacial	29
4.16 Análisis espacial de la leptospirosis canina.....	30
5. MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1 MATERIALES.....	33
5.1.1 Materiales de campo.....	33
5.1.2 Materiales de laboratorio.....	33
5.1.3 Químicos	34
5.1.4 Reactivos	34
5.1.5 Biológicos.....	34
5.2 METODOS.....	35
5.2.1 Lugar del estudio y caracterización climática	35
5.2.2 Población, muestra y muestreo.....	36
5.2.3 Criterios de inclusión	39



5.2.4	Criterios de exclusión.....	39
5.3	METODOLOGÍA DEL PROCESO INVESTIGATIVO.....	39
5.3.1	El proceso investigativo consta de las siguientes etapas:	39
5.3.2	Transporte de muestras.....	39
5.3.3	Recepción de muestras (INSPI Guayaquil).....	40
5.3.4	Principio de MAT – Técnica Utilizada	40
5.3.5	Preparación del antígeno	41
5.3.6	Método e interpretación (MAT).....	41
5.3.7	Tamizado	41
5.3.8	Interpretación	43
5.3.9	MAT cuantitativo	43
5.3.10	Interpretación de MAT cuantitativa para leptospirosis canina.....	45
5.3.11	Análisis espacial	45
5.3.12	Análisis estadístico para los resultados.	46
6.	RESULTADOS.....	48
6.1	Factores de riesgo que están asociados a la infección por leptospirosis en perros de tres comunidades de Tarqui.....	51
6.2	ANÁLISIS ESPACIAL.....	57
6.3	Tasa de prevalencia.	60
7.	DISCUSIONES.....	61
8.	CONCLUSIONES	64
9.	RECOMENDACIONES.....	65
10.	Bibliografía.....	66
11.	ANEXOS.....	73



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la ubicación espacial de las tres comunidades estudiadas de la Parroquia Tarqui.	35
Figura 2 . Mapa delimitado con puntos al azar de la comunidad Tutupali Chico.....	37
Figura 3 . Mapa delimitado con puntos al azar de la comunidad Gullanzhapa.....	38
Figura 4. Mapa delimitado con puntos al azar de la comunidad Centro Parroquial Tarqui....	38
Figura 5. Placa de microtitulación de 96 pocillos.	43
Figura 6. Población canina seropositiva/negativa a leptospirosis en la comunidad de Centro Parroquial de la parroquia Tarqui.....	50
Figura 7. Población canina seropositiva/negativa a leptospirosis en la comunidad de Gullanzhapa de la parroquia Tarqui.	50
Figura 8. Población canina seropositiva/negativa a leptospirosis en la comunidad Tutupali Chico de la parroquia Tarqui.....	51
Figura 9. Casos positivos a leptospirosis mediante la tecnica de MAT en perros en las tres comunidades de Tarqui representado en fracciones del porcentaje total.	55
Figura 10. Análisis espacial de la comunidad Tutupali Chico de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con roedores frente al resultado.	57
Figura 11. Análisis espacial de la comunidad Centro Parroquial Tarqui de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con roedores con el resultado de perros domicilios y haciendas.....	58
Figura 12. Análisis espacial de la comunidad Gullanzhapa de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con roedores con el resultado en perros de domicilios y haciendas	58
Figura 13. Análisis espacial de la comunidad Tutupali Chico de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con fauna silvestre con el resultado de perros de haciendas.....	59



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de Diagrama de una placa de micro titulación usada en el tamizado para determinar el (los) serogrupo (s) responsable (s).....	42
Tabla 2. Diagrama de la placa de microtitulación usada para determinar el título del suero para cada antígeno probado.....	44
Tabla 3. Frecuencia y porcentaje de 249 muestras de suero sanguíneo de perros de la comunidad de Tarqui sometidos a la prueba de MAT para leptospirosis.	49
Tabla 4. Relación entre los casos positivos a leptospirosis y la variable “lugar” del estudio.51	
Tabla 5. Odds Ratio de la variable “Lugar”	52
Tabla 6. Relación de la variable tipo de “residencia de los perros” frente al resultado.	52
Tabla 7. Odds ratio de la variable “Tipo de residencia hacienda o domicilios”	53
Tabla 8. Relación de la variable “perros sueltos a su voluntad” frente al resultado.	53
Tabla 9. Odds Ratio de la variable “perros sueltos a su voluntad”.	53
Tabla 10. Tipificación de los serovares de leptospirosis con la técnica de MAT, indicando los serovares reaccionantes y títulos de anticuerpos alcanzados, en las comunidades de Tutupali Chico, Gullanzhapa y Centro Parroquial de la parroquia Tarqui.	54
Tabla 11. Número de Casos positivos en cada rango de edad para leptospirosis en las comunidades de Gullanzhapa, Tutupali chico y Centro Parroquial de Tarqui.	55
Tabla 12. Casos positivos a Leptospirosis en Gullanzhapa, Tutupali Chico y Centro parroquial de Tarqui indicando el número de casos encontrados para cada serovar, se detalla el porcentaje equivalente para los 249 perros muestreados en las tres comunidades.	56
Tabla 13. Prevalencia de leptospirosis en Gullanzhapa, Tutupali Chico y Centro parroquial de Tarqui.	60



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Hoja de encuestas para estimar la población de perros a estudiar en domicilios	73
Anexo 2. Hoja de encuestas para estimar la población de perros a estudiar en haciendas	73
Anexo 3. Población de caninos en haciendas.....	74
Anexo 4. Población de caninos domicilios.	75
Anexo 5. Tamaño de muestra.....	76
Anexo 6. Muestreo Aleatorio estratificado.	77
Anexo 7. Oficio dirigido al presidente del GAD Tarqui para poder realizar el presente estudio de Tesis.....	78
Anexo 8. Oficio dirigido al Presidente del GAD Tarqui para la obtención de cartografía básica de la parroquia.	79
Anexo 9. Cronograma de actividades realizadas en laboratorio del INSPI de la ciudad de Guayaquil.	80
Anexo 10. Certificado de elaboración de la fase práctica otorgado por el INSPI.....	81
Anexo 11. Certificado de elaboración de la fase práctica otorgado por el INSPI.....	82
Anexo 12. Elaboración de encuestas.....	83
Anexo 13. Personal técnico de INSPI Guayaquil.	83
Anexo 14. Análisis espacial de la comunidad Gullanzhapa de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con fauna silvestre con el resultado de perros de haciendas.	84
Anexo 15. Análisis espacial de la comunidad Centro parroquial de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con fauna silvestre con el resultado de perros de domicilios y haciendas.	84
Anexo 16. Toma de muestra de sangre en la vena cefálica.....	85
Anexo 17. Aglutinación de cepa de leptospiras vivas con suero sanguíneo de perros observada en microscopio de campo oscuro.	85
Anexo 18. Cepa de leptospira viva observada en microscopio de campo obscuro que no aglutinaron con la adición de suero sanguíneo de perros.....	86
Anexo 19. Mapa de la ubicación en la provincia del Azuay de las comunidades estudiadas en la parroquia Tarqui.	87



Anexo 20. Hoja de registro para tamizaje y titulación para la prueba de MAT utilizada por el laboratorio del INSPI.	88
Anexo 21. Hoja de encuesta para contexto espacial	89
Anexo 22. Hoja de encuesta para la toma de datos del propietario y antecedentes epidemiológicos	90



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Pedro Esteban Chuva Castillo en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Seroepidemiología y análisis espacial para caracterizar los factores de riesgo para leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarqui", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 19 de febrero de 2018

Pedro Esteban Chuva Castillo

C.I: 0105457907



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Juan Diego Yunga Bacuilima en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Seroepidemiología y análisis espacial para caracterizar los factores de riesgo para leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarquí", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 19 de febrero de 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Juan Diego Yunga Bacuilima', written over a horizontal line.

Juan Diego Yunga Bacuilima

C.I: 0105927354



Cláusula de Propiedad Intelectual

Pedro Esteban Chuva Castillo, autor/a del trabajo de titulación "Seroepidemiología y análisis espacial para caracterizar los factores de riesgo para leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarqui".certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 19 de febrero del 2018

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke, positioned above a horizontal line.

Pedro Esteban Chuva Castillo

C.I.: 0105457907



Cláusula de Propiedad Intelectual

Juan Diego Yunga Bacuilima , autor/a del trabajo de titulación “Seroepidemiología y análisis espacial para caracterizar los factores de riesgo para leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarqui”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 19 de febrero del 2019

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "J. Yunga", written over a horizontal line.

Juan Diego Yunga Bacuilima

C.I.: 0105927354



AGRADECIMIENTOS

Nuestros sinceros agradecimientos a todas las personas que de una u otra manera hicieron que llegáramos a esta preciada meta.

A nuestra familia por el apoyo incondicional brindado a lo largo de toda nuestra carrera.

A todos los docentes que nos brindaron y compartieron sus conocimientos, gracias a sus enseñanzas aprendimos lo grato que puede ser compartir largas horas de clase siempre y cuando haya cariño y pasión por lo que se hace.

A la Ingeniera Lucia Lupercio M.Sc Ph.D, por su continua colaboración e interés para la elaboración de este trabajo

Al Ingeniero Eduardo Tacuri y al Departamento de Geomática especialmente al Ingeniero Mateo López por la ayuda brindada para el desarrollo y culminación de este estudio.

Al MVz. Emilio Ochoa Mejía, Esp, responsable del centro de referencia nacional de zoonosis-CZ6 (INSPI) “Dr. Leopoldo Izquieta Pérez” y a todo el personal de zoonosis de la ciudad de Cuenca quienes nos brindaron su experiencia para la elaboración de este trabajo.

A la Bióloga Ericka Sanchez responsable del laboratorio de zoonosis de la ciudad de Guayaquil y a la Q.F Luisa De la Cruz quienes colaboraron con su apoyo y conocimiento en la ejecución de este proyecto.

A la Doctora María Encalada M.Sc por su colaboración en el desarrollo de este trabajo.

Al Doctor Guillermo Serpa M.Sc nuestro Director de Tesis por su ayuda, interés y compromiso en el desarrollo de este trabajo.

A todos muchas gracias.

Juan Yunga - Pedro Chuva



DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo especialmente a mis padres Rafael y Lucia por quienes en todo momento me han demostrado su infinito amor, apoyo incondicional, consejos y su esfuerzo para poder cumplir una de mis metas.

A mi hermano Christian por sus consejos, conocimientos que siempre me brindo durante cada una de mis etapas de estudiante, sé que siempre me alentarás para continuar esforzándome y lograr todo lo que me proponga.

A mi abuelo Vicente que siempre me brindo consejos, vivencias y valores.

A un ser muy especial que hoy no me acompaña pero que siempre estuvo silenciosamente apoyándome y acompañándome en cada noche de estudio (Pipo).

A toda mis familiares y amigos que han sido un apoyo fundamental y han puesto su confianza en mí.

JUAN DIEGO YUNGA BACUILIMA



DEDICATORIA

De una manera especial quiero dedicar este trabajo a mis padres Francisco y Lucia por todo el apoyo y por ser la guía que me ha llevado por el camino del bien especialmente a mi madre amada gracias por todo ese amor incondicional que me has dado.

A mi hija Camila la niña de mis ojos quien es mi fuente de inspiración para luchar cada día.

A Eliana la mujer que acompaña mi vida, brindándome todo el apoyo para alcanzar esta meta, sé que lograremos muchas cosas más.

A esos seres que no pudieron acompañarme pero que están presentes en mi corazón. (Pancho y Tebito).

A toda mi familia por ser ese pilar fundamental en mi vida, gracias por su cariño.

Quiero agradecer a todas las personas que de una u otra manera han sido parte de este sueño.

Gracias por todo.

Pedro Esteban Chuva Castillo



1. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad sistémica y más difundida considerada un serio problema de salud pública en el mundo (Romero, Astudillo, & Lucio, 2018), que tiene una gran cantidad de hospedadores mamíferos incluido humanos, animales domésticos, animales de producción sin control sanitario y fauna silvestre, de zonas urbanas y rurales (Silva & Riedemann, 2007), la proliferación de roedores pueden constituir un ambiente idóneo para la aparición de nuevos casos (DREYER, 1956)

La leptospirosis es una enfermedad causadas por espiroquetas patógenas del genero *Leptospira* que afecta a humanos produciendo fiebre alta, insuficiencia renal y hepática, que en algunos casos puede conllevar a la muerte (Hookey, 1991). Los perros tienen un rol fundamental en la epidemiología de las leptospirosis humana como reservorios y fuentes de infección por su interacción y estrecho vínculo aumentan la posibilidad de infección entre especies (Romero et al., 2018).

La fuente de infección de la leptospirosis al hombre es el contacto directo con orina o tejidos infectados, o en forma indirecta, a través de agua o suelos contaminado (Hookey, 1991). La bacteria penetra, principalmente, por inoculación a través de piel erosionada, mucosas nasofaríngea, bucal, genital, o conjuntival (Zunino & Pizarro ., 2007). Los perros que poseen la enfermedad pueden presentar una sensibilidad con lesiones renales y hepáticas, donde se confirma con cuadros clínicos como ictericia, hemorragia, uremia y alteraciones reproductivas (Suice, Calle, Pinto, Pacheco, & Salvatierra, 2015).

Existen diversos factores que pueden intervenir en la presencia de la leptospirosis ya sean del tipo ambiental, sociales, demográficos y económicos (Azócar, Smits, & Monti, 2014).

Con la presente investigación se trató de obtener acervos epidemiológicos de nuestras realidades de la bacteria *Leptospira* causante de graves problemas en los humanos y animales de compañía. Además, debido a que la información relacionada a este tema es escasa, será de mucha utilidad para las Instituciones tanto de Salud Humana y salud Animal.



2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General.

Caracterizar la seroepidemiología y los factores de riesgo para la leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de Tutupali Chico, Gullanzhapa y Centro Parroquial Tarqui, a través de análisis espacial, tamizado y prueba de aglutinación microscópica para conocer la propagación potencial de la mencionada enfermedad.

2.2 Objetivos específicos.

- Determinar los serogrupos y títulos de anticuerpos frente a los serovares de leptospira, mediante el tamizado y test serológico de aglutinación microscópica (MAT).
- Detectar los factores de riesgo asociados con infecciones de leptospirosis canina en tres comunidades de la Parroquia Tarqui, a través de la aplicación de un cuestionario que contenga variables clínicas, nutricionales, ambientales y demográficas.
- Utilizar el análisis espacial para caracterizar factores de riesgo de leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de la Parroquia Tarqui mediante un sistema de información georeferencial, con el fin de demostrar qué aspectos del paisaje y uso de la tierra, se constituyen en canales para la circulación de los serovares de leptospirosis.
- Caracterizar las distribuciones espaciales de serovares a partir de los perros serológicamente positivos para la leptospirosis, mediante el empleo de herramientas de sistemas de información geográfica (SIG).

3. HIPÓTESIS

La leptospirosis canina no se distribuye aleatoriamente en el espacio territorial, porque los factores de riesgo en las haciendas y domicilios de Tutupali Chico, Gullanzhapa y Centro Parroquial de la Parroquia Tarqui, están asociadas a la infectividad de los perros, con lo cual contribuye a la propagación real y potencial.



4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Clasificación y características de *Leptospira*

Las genoespecies de *Leptospiras* se clasifican por homología del ADN, y dentro de cada especie, se emplean reacciones serológicas que identifican antígenos de superficie, para asignar aislamientos a serogrupos, y posteriormente los microorganismos pueden ser identificados aún más al nivel serológico. En la actualidad más de 250 serotipos (serovars) se definen en 23 serogrupos, muchos de los cuales pueden estar asociados con una enfermedad clínica (Quinn, Markey, Leonard, Fitzpatrick & Fanning, 2016).

El género *Leptospira*, del griego *leptos* (delgado) y del latín *spira* (espiral), comprende bacterias móviles parecidas a sacacorchos y con forma de interrogación, son bacterias aerobias obligadas que crecen a una temperatura óptima entre 28-30°C y en un medio con pH que oscila entre 7.2 y 7.6, enriquecido con vitaminas, cadenas largas de ácidos grasos y sales de amonio, el género *Leptospira* junto con los géneros *Leptonema* y *Turnerella* pertenecen a la familia Leptospiraceae del orden Spirochaetales, clase Spirochaetia y filo Spirochaetes. (Romero & Falconar, 2016).

El género *Leptospira* fue previamente dividido en dos especies, las cuales fueron *Leptospira interrogans* conteniendo las cepas patogénicas y *Leptospira biflexa* las cepas saprofiticas, sin embargo ésta clasificación fenotípica ha sido reemplazada por una clasificación genotípica. Hay actualmente 17 especies reconocidas, incluidas *Leptospira biflexa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira interrogans* y *Leptospira noguchii* (Markey, Leonard, Archambault, Cullinane y Maguire, 2013).

Más de 200 serovares han sido descritos y 84 son reconocidos, se han aislado otros serovares adicionales que no han sido válidamente publicados y que están relacionados antigénicamente en serogrupos. Aunque los serogrupos no tienen una posición taxonómica, han demostrado ser útiles para una comprensión epidemiológica. Hay al menos cinco serovares de importancia en los Estados Unidos Unidos de América (EE. UU.) y Canadá, todos los cuales causan enfermedad en perros como la *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, y *Bratislava* aunque existen otras especies menos comunes y menos patógenas (Rodríguez & Castañeda, 2014).



Las *leptospiras* son microorganismos espirales delgados que miden 0,1 μm por 6 a 20 μm . Para ser visualizadas requieren campo oscuro o microscopía de contraste de fases. Las espirales son mejor demostradas por microscopía electrónica, tienen un gancho en cada extremo, en forma de S o C. En montajes húmedos revelan ser altamente móviles. Las *leptospiras* son Gram negativas, y son irreconocibles en tinciones de rutina. Las *leptospiras* pueden ser demostradas por inmunofluorescencia o mediante impregnación de plata. Posee un flagelo periplásmico, llamado endoflagelo, una vaina exterior y un cilindro citoplásmico (Lefebvre, 2013).

Las *leptospiras* crecen bajo condiciones aeróbicas de 28 a 30 $^{\circ}\text{C}$., en medio sólido, como el llamado Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), y en tubos de ensayo de 10 mL., con 0,1 de agar y 5-fluorouracil. Después de 1 a 2 semanas, las *leptospiras* producen una zona difusa de crecimiento cerca de la parte superior del tubo, y más tarde un anillo de crecimiento en la superficie del medio de cultivo, el cual corresponde a las condiciones aeróbicas (Brooks, Carroll, Butel, Morse, & Mietzner, 2013). En las bacterias aerobias el oxígeno es el aceptor final de electrones, y requieren oxígeno para su crecimiento, incubándose en presencia de aire (Quinn, Markey, Leonard, & Hartigan, 2011).

Pocos son los factores de virulencia que han sido descritos para *Leptospira*, y entre ellos están: las lipoproteínas *Loa22* que interactúan con el peptidoglicano. *Heme oxigenasa* (HemO), es requerida en el crecimiento de *leptospiras*, cuando la hemoglobina es la única fuente de hierro. *La proteína del interruptor del motor flagelar* (FliY), involucradas en la exportación de adhesinas y/o toxinas. *Las proteínas involucradas en la biosíntesis de lipopolisacáridos* (LPS); también la *proteína relacionada con la motilidad* (FlaA2), la cual es esencial para el traslado de la bacteria. Por último, son consideradas las proteínas *LigA*, *LigB*, *Lig32* y las *hemolisinas*, que promueven la lisis de eritrocitos y entre ellas las esfingomielinasas que se encuentran en las cepas patogénicas (Rodrigues, Carvalho, Isaac, & Silva, 2015).

4.2 Definiciones

Serovar: miembro del género *Leptospira*, que reacciona con un antisuero monoclonal específico, y los antisueros son específicos a los antígenos de carbohidratos inmunogénicos de lipopolisacárido *leptospiral*.



Serogrupo: es un grupo de serovares de *leptospiras* antigénicamente relacionados. Los miembros del mismo serogrupo se aglutinan cuando se incuban con suero del paciente que contiene anticuerpos contra una serovariedad del mismo serogrupo.

Cepa: aislamiento específico de un serovar definido de *Leptospira* (Schuller et al., 2015).

4.3 Epidemiología de leptospirosis en perros domésticos

La incidencia de leptospirosis canina tiene un aparente aumento a fines de verano, otoño o en estaciones lluviosas de regiones tropicales, y las infecciones han sido mayoritarias en perros rurales o suburbanos que se encuentran expuestos a aguas estancadas, sin embargo, los perros que habitan en las zonas urbanas, se infectan con leptospirosis, a través de la orina de los roedores infectados que residen en las alcantarillas; la enfermedad es de mayor prevalencia en aquellas perreras que están en condiciones insalubres, y se desconoce la interacción entre la leptospirosis en perros y las poblaciones de animales salvajes (Greene, Sykes, Moore, Goldstein, & Schultz, 2012).

Existen tres grupos epidemiológicos de leptospirosis, el primer grupo ocurre en climas templados asociados con ganadería, en el cual se presentan pocos serovares, y la orina de los animales contaminada con *leptospiras* llega a infectar a los humanos; el segundo grupo acontece en áreas húmedas tropicales, donde un mayor número de serovares infecta a animales y humanos, debido a la existencia de reservorios, como roedores, caninos, bovinos y porcinos; el tercer grupo comprende la transmisión por roedores y la infección por leptospirosis surge después de inundaciones, terremotos y guerras (Rodrigues et al, 2015).

4.4 Distribución de leptospirosis canina en Latinoamérica

Al Noreste de México determinaron la distribución de anticuerpos antileptospira y analizaron muestras de suero sanguíneo de caninos con la prueba de aglutinación microscópica, para el efecto emplearon 12 serovariedades de *leptospiras*, y como resultado obtuvieron que el 100 % de los caninos resultaron seropositivos a *Leptospira interrogans* serovar Canicola y *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae*, ésta última, con la presencia de cepas denominadas palo alto, portland-vere y sinaloa (Moreno, Trujillo, Maia, & Torres, 2015). En la República del Brasil es de importancia los serovares



Canicola e *Icterohaemorrhagiae*, productores de leptospirosis en perros domésticos (Ellis, 2015). Existen reportes de hallazgos serológicos y bacteriológicos desde Brasil, Trinidad y Tobago, que los aislamientos de perros fueron identificados como *Leptospira interrogans* con serovares *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae* y *Copenhageni* y el serogrupo *Australis* de *Leptospira noguchi*; en la República de Argentina fue aislado de un feto de perro abortado, una potencial espiroqueta perteneciente a *Leptospira interrogans* serovar Djasiman, y los perros pueden diseminar las bacterias a través de la contaminación ambiental o vía orina infectada (Pettrakovsky, Bianchi, Fisun, Nájera, & Pererira, 2014).

En el año de 1966 reportaron la prevalencia de leptospirosis canina en Chillán-Chile con el 38,3 %, y los serovares *Canicola* y *Sejroe*, habían sido los más frecuentes; y en el año 2007 en Valdivia-Chile, informaron que la prevalencia a la señalada enfermedad fue del 14,8 %, y que los serovares *Canicola*, *Ballum* e *Icterohaemorrhagiae* habían estado presentes en la indicada región (Azócar et al, 2014).

En la ciudad de Lima-Perú, realizaron la tipificación de *Leptospira spp* en perros, y lograron identificar 18 serogrupos, los cuales fueron los siguientes: *Canicola*, *Autumnalis*, *Grippotyphosa*, *Ballum*, *Icterohaemorrhagiae*, *Cynopteri*, *Pomona*, *Djasiman*, *Hurstbridge*, *Sejroe*, *Iquitos*, *Tarassovi*, *Javanica*, *Australis*, *Manhao*, *Shermani*, *Mini* y *Pyrogenes*; como factor de riesgo encontraron que la procedencia de cada perro doméstico, incurría para la presentación de leptospirosis canina (Siuice, Calle, Pinto, Pacheco, & Salvatierra, 2015). En la ciudad de Portoviejo-Ecuador, tomaron muestras de orina de perros que vivían en áreas residenciales, con la finalidad de detectar leptospirosis, y lo hicieron durante la estación seca del año 2009, como también en la estación húmeda del año 2013, para el efecto utilizaron el análisis BLAST de secuencias de amplicones, en la cual determinaron que, el 74 % de las muestras tenían el 100 % de identidad de secuencia y eran positivas para *Leptospira inadai*, estas últimas, consideradas un grupo intermedio en las muestras para *Leptospiras spp.*, (Chiriboga et al., 2015).

4.5 Distribución de leptospirosis canina en el mundo

Durante un periodo de 40 años realizaron en hospitales veterinarios de los Estados Unidos de América y Canadá, seguimientos mediante bases de datos a la infección por *Leptospira spp.*, en caninos, y encontraron aumentos en la prevalencia de leptospirosis canina, debido a la falta de vacunación, constituyéndose en un riesgo de exposición a la enfermedad, por



lo tanto, recomiendan que en la asistencia hospitalaria se debe considerar a la infección, como parte de las enfermedades reemergentes, porque la vacunación no protege a todos los serovares de *leptospiras* y como medida de prevención se debe aplicar el saneamiento (Lee, Guptill, Johnson, & Moore, 2014).

En los Estados Unidos de América, mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT), determinaron aumentos significativos en los serovares Autumnalis y Grippotyphosa y una fuerte correlación serológica ($r=0.72$) entre los serovares Autumnalis y Pomona, y demostraron que los perros que viven en áreas suburbanas o rurales, tienen una mayor riesgo de contraer la enfermedad por *Leptospira spp.*, y esto debido al contacto con los hábitats de la vida silvestre (Moore et al., 2006).

En un estudio retrospectivo sobre variaciones regionales y temporales de la seropositividad a leptospirosis canina, cuyo objetivo fue evaluar y comparar patrones estacionales en 4 regiones de los Estados Unidos de América, obtuvieron como conclusión e importancia clínica que, los patrones estacionales para la seropositividad a *leptospiras* difieren según la región geográfica, y aunque el riesgo de infección en perros puede ocurrir durante todo el año, el conocimiento de las tendencias estacionales puede ayudar a los veterinarios a formular diagnósticos diferenciales, como también evaluar los riesgos a la exposición (Lee et al, 2014).

En un estudio sobre los puntos críticos de leptospirosis canina en los Estados Unidos de América, cuyos datos los obtuvieron durante 14 años, el cual lo realizaron en 3109 condados del indicado país, con el fin de analizar las condiciones medioambientales, como también los aspectos socio-económico, y luego, los correlacionaron con las tasas de infección, con el fin de elaborar un mapa de las ubicaciones de mayor riesgo de leptospirosis canina, encontraron que, la infección está principalmente influenciada por el medio ambiente y el uso de la tierra, con respecto a éste último, los Montes Apalaches reciben una alta precipitación anual y altos casos de leptospirosis (White et al., 2017).

En el Sur de la ciudad de México analizaron sueros sanguíneos de 117 perros, mediante la prueba de aglutinación microscópica, de los cuales el 28,2 % fueron seropositivos a uno o más serotipos de *Leptospira*, el 74% de los positivos seroaglutinados con dos o más serotipos. Los serotipos más frecuentes fueron: Canicola, Icterohaemorrhagiae y Portlandvere. Los serotipos Canicola, Pyrogenes y Bratislava resultaron estadísticamente



significativo ($p < 0.001$). La presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* en la sangre de animales de 1 a 6 años resultaron con un $p < 0.001$. Los sueros del distrito de Iztapalapa reaccionaron a nueve serotipos; y en conclusión, el 28.2% de seropositividad indicó transmisión de *Leptospira* en la población canina que fue motivo de estudio, la cual podría exhibir un riesgo potencial para la salud pública (Martínez et al., 2016).

Mediante una investigación realizada en Cuba, determinaron alta seroprevalencia de anticuerpos para *Leptospira interrogans*, serovar Icterohaemorrhagiae y *Leptospira interrogans*, serovar Canicola, con lo cual quedó demostrada la circulación del agente bacteriano en mención (Rojas et al., 2017).

En la República de Trinidad y Tobago realizaron un estudio seroepidemiológico de leptospirosis en perros y ratas, y destacaron la presencia del serogrupo Icterohaemorrhagiae, serovar Copenhageni, e indican que son de importancia zoonótica y de salud pública y que en la población humana han determinados serovares de *Leptospira* (Suepaul, Carrington, Campbell, Borde, & Adesiyun, 2014).

La leptospirosis ocurre en todos los países europeos (Rijks, Cito, Cunningham, Rantsios, & Giovannini, 2016). Investigaciones realizadas en Alemania determinaron que, los serogrupos de *leptospiras* predominantes fueron: Australis, Grippytyphosa y Pomona (Mayer, Luge, Draeger, Nöckler, & Kohn, 2013). En Francia, encontraron que, el 43 % pertenecía al serogrupo Australis y estuvo presente en ganado bovino y el 63 % del indicado serogrupo lo encontraron en caninos; en caninos y bovinos también estuvo presente el serogrupo Grippytyphosa, con el 9 % y 17 % respectivamente; y por el serogrupo Sejroe el 6 % y 33 % en caninos y ganado bovino respectivamente (Ayrat, Bicout, Pereira, Artois, & Kodjo, 2014).

En Croacia han logrado reducir la leptospirosis canina, por el uso de vacunas bivalentes que contienen los serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae, sin embargo, han detectado una reaparición de la leptospirosis canina en Europa y América del Norte, en parte debido a cambios en los serovares infectantes; a través de una investigación detectaron que el 37,7 % de caninos, contenían serovares, como: Pomona, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Australis, Saxkoebing y Hardjo (Štritof et al., 2012).



En el sur de China la leptospirosis canina ha sido considerada muy común entre los perros domésticos, e indican que son una importante fuente de infección para otros animales y humanos, y que la seroprevalencia de la leptospirosis canina, es relativamente baja, por lo tanto, los perros constituyen un reservorio significativo con respecto a la difusión de la enfermedad (Shi et al., 2012).

En el Estado de Tamil Nadu, localizado en la República de la India, investigaron la presencia de leptospirosis canina y encontraron que el 35,21 %, era predominante para el serovar Grippotyphosa, seguido por 28,62 % de Autumnalis; 22,53 % de Australis; 16,90 % de Pomona; 15,49 % de Canicola; 12,67 % de Icterohaemorrhagiae; 12,67 % de Pyrogenes y 1,40 % de Tarassovi; y 25,35 % de los sueros de caninos reaccionaron de forma cruzada con más de un serotipo (Sathiyamoorthy, Selvaraju, Palanivel, & Srinivasan, 2017).

En la República de Corea la leptospirosis es un importante problema de salud pública y se presenta en el indicado país de manera esporádica o en brotes durante la estación de otoño, y la consideran como una enfermedad reemergente y de carácter zoonótico, e indican que los roedores silvestres están infectados con *Leptospira interrogans* serovar Lai, y que continúa siendo la leptospirosis una amenaza para las personas que viven en áreas endémicas (Kim, 2013).

En Klang Valley, Malaysia, la leptospirosis afecta a los animales de compañía y mediante un ensayo para detectar anticuerpos contra *leptospiras*, el 15,8 % de 19 perros con enfermedad renal fueron positivos para *Leptospira interrogans*, serovar Canicola, y el 2,6% de 38 perros sanos fueron positivos para *Leptospira interrogans*, serovar *Icterohaemorrhagiae*; sólo el 5,3 % de los 19 perros con enfermedad renal, había resultado positivo a *leptospiras* patógenas mediante un ensayo de reacción cadena polimerasa, mientras que todos los 38 perros sanos habían sido negativos a la indicada reacción cadena polimerasa (Lau et al., 2016).

La República Árabe de Egipto está ubicado en el extremo noreste de África, y en el indicado país mantienen una vigilancia epidemiológica de leptospirosis en animales y humanos, sin embargo, enfatizan que las ratas, perros y vacas son los reservorios más importantes para la leptospirosis en Egipto, y que la alta seroprevalencia entre los



contactos humanos, pone de relieve las implicaciones para la salud pública de leptospirosis (Samir, Soliman, El-Hariri, Abdel-Moein, & Essam-Hatem, 2015).

En el continente oceánico, han tenido como resultado una diversidad de *leptospiras* en animales y humanos, y aquello había sido investigado en Tahití que, es la isla más grande de la Polinesia Francesa; y han llegado a la conclusión que la leptospirosis es altamente endémica en la Polinesia Francesa y que, sin embargo, los datos epidemiológicos de leptospirosis son escasos, y consideran que las ratas son una importantes fuente potencial de leptospirosis humana, y que se requieren más investigaciones para determinar la importancia de leptospirosis en la transmisión en la Polinesia francesa (Guernier et al., 2017).

4.6 Huéspedes y reservorios

Leptospira interrogans serovar Bratislava, tiene como huéspedes a perros, cerdos y caballos, *Leptospira interrogans* serovar Canicola y *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa, también tienen a los perros como huéspedes (Quinn et al, 2011). Los roedores, ganado y pequeños mamíferos como mapaches, zarigüeyas y zorrillos, a menudo están implicados como importantes reservorios para la leptospirosis (Ghneim et al., 2007).

4.7 Transmisión

Las *leptospiras* se transmiten de manera directa e indirecta; la transmisión directa ocurre a través del contacto con orina infectada, transferencia venérea y placentaria, heridas por mordedura o ingestión de tejidos infectados; la transmisión indirecta se produce a través de fuentes de agua contaminada, suelo y comida, y la supervivencia óptima en el suelo es favorecida por un pH neutro o un poco alcalino, y sólo transitoriamente sobreviven las espiroquetas en orina con pH 5.0 a 5.5, y las temperaturas ambientales entre 0 °C y 25 °C., favorecen la supervivencia de las *leptospiras*, mientras que la congelación, deshidratación y la exposición a la radiación ultravioleta disminuyen notablemente la supervivencia (Greene, et al, 2012).

4.8 Patogénesis de leptospirosis canina

L. icterohaemorrhagiae y *L. canicola*, son los principales serovares en la patogénesis de la leptospirosis canina, y este último, es el más común. Existen canes con insuficiencia renal aguda debido al serovar *grippotyphosa*, afectando con fiebre a los cachorros jóvenes, siendo fatal en pocos días; se presentan hemorragias en las mucosas y piel en el periodo



antemorten, y presencia de sangre en epistaxis, heces y vómitos, estando ausente la ictericia, sin embargo, el tipo icterico es más lento, con hemorragias menos conspicuas, retención de nitrógeno y presencia de leucocitos en la orina. El tipo urémico, puede ser agudo y rápido con trastornos gastrointestinales, aliento urémico y ulceraciones en el tracto digestivo anterior (Lefebvre, 2013).

Después de un periodo de incubación variable de 5 a 15 días, las *leptospiras* circulan en la sangre antes de ingresar a muchos órganos, incluido el riñón, hígado, bazo, tracto reproductivo, ojos y sistema nervioso central, lugares en los cuales se replican; la gravedad de los signos clínicos depende de la edad y la inmunodeficiencia del animal, el serotipo involucrado y la virulencia de la bacteria, y la enfermedad puede presentarse como peraguda, aguda, subaguda o crónica (Azócar et al, 2014).

4.9 Factores de riesgo en leptospirosis canina

En leptospirosis canina se tienen que considerar los siguientes factores de riesgo: sexo, edad, aguas residuales, consumo de carnes crudas, ictericia, orina oscura. (Meeyam, Tablerk, Petchanok, Pichpol, & Padungtod, 2006). Otros factores de riesgo: perros callejeros, propietarios de los perros, animales de vida silvestre, ubicación geográfica, exposición a roedores, temperatura ambiental (Suepaul, Carrington, Campbell, Borde, & Adesiyun, 2014). La raza de los perros constituye un factor de riesgo (Huerta, Chilón, & Díaz, 2013).

El aumento de las precipitaciones es parte de las características estacionales de la leptospirosis canina (Kikuti, Langoni, Nobrega, Corrêa, & Ullmann, 2012). También la naturaleza laboral del perro, como aquellos que son de compañía o que permanecen al aire libre; y por último el estado de vacunación del perro, con o sin vacuna, son considerados como factores de riesgo para la indicada enfermedad (Sathiyamoorthy, Selvaraju, Palanivel, & Srinivasan, 2017). Constituyen factores de riesgo ambientales: Exposición al agua de bebida en haciendas y domicilios, tipo de eliminación de residuos, tipo de eliminación de basura (Goarant, 2016).

También se investigarán los factores de riesgo demográficos de la población de perros con dueños, como: lugar del domicilio del propietario, número de perros en los domicilios;



número de perros en las haciendas; tipo de perro; grado de escolaridad del jefe de hogar; número de personas en el hogar, estado civil, trabajo (Ghneim et al., 2007).

4.10 Cambio climático y la leptospirosis, como enfermedad zoonótica reemergente

Bacterias zoonóticas como *leptospiras* también han sido vinculadas a la variabilidad climática, y las inundaciones producen brotes de leptospirosis, particularmente en áreas densamente pobladas sin drenaje adecuado (Rodríguez & Delgado, 2012). Producto del cambio climático se presentó un marcado aumento de leptospirosis canina en Ontario-Canadá en el otoño de 2002 (Bradley, Kutz, Jenkins & O'Hara, 2005). Por motivo del calentamiento global existe aumento de la incidencia de leptospirosis canina en Suiza (Major, Schweighauser, & Francey, 2014). Sin embargo, ha resurgido la enfermedad en varias partes del mundo, asociado con cambios climáticos y cambios en serovares implicados en casos caninos (Revich, Tokarevich, & Parkinson, 2012).

4.11 Diagnóstico de laboratorio

Para la realización del diagnóstico de laboratorio, se requiere el conocimiento de los signos clínicos de la leptospirosis, acompañado de la historia clínica; las *leptospiras* pueden ser detectadas en orina fresca, aproximadamente dos semanas después de producida la infección inicial o pueden ser aisladas de la sangre durante los primeros días de la infección, ya sea por cultivo en medio líquido o por inoculación de animales. (Quinn et al, 2011).

También son utilizadas para la detección de *leptospiras* otras técnicas, como: anticuerpos fluorescentes, técnicas de impregnación de plata; los aislados pueden ser identificados por hibridación de ADN, Reacción cadena polimerasa (PCR) cuantitativo en tiempo real, pruebas serológicas como el test de microaglutinación (MAT). En la actualidad en determinados países, están utilizando una serie de ensayos por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), basadas en serotipos que predominan en la región, en la cual van a utilizar la indicada prueba (Quinn et al, 2016).

4.12 Tratamiento para leptospirosis canina

El tratamiento para leptospirosis canina es en base de 20 mg de ampicilina, por kilogramo de peso vía intravenosa, cada 6 horas, y con reducción de dosis para los perros azotémicos; la ampicilina no puede ser administrada por vía oral, porque no es absorbido confiablemente por el tracto gastrointestinal; también puede ser utilizada la penicilina G,



en dosis de 25000 - 40000 U/kg IV, cada 12 horas; los perros deben recibir doxiciclina durante 2 semanas, después que los signos gastrointestinales disminuyan, con el fin de eliminar los microorganismos de los túbulos renales (Sykes et al., 2011).

4.13 Medidas de prevención y control para leptospirosis canina

Como medidas de prevención se utilizan en la actualidad vacunas comerciales que proporcionan protección contra leptospirosis; las vacunas con procedimientos recombinantes, han mostrado resultados eficientes (Greene, Sykes, Goldstein, & Schultz, 2012). La vacunación generalmente previene la enfermedad (Lefebvre, 2013). El control de la leptospirosis canina dependerá de la higiene del entorno, mediante la eliminación de los roedores, control de reservorios, como también manteniendo un control sanitario en las mascotas (Tuemmers et al., 2013). Otros métodos de control incluyen la disminución del acceso a fuentes potenciales de infección, como áreas pantanosas y aguas estancadas (Sykes et al., 2011).

4.14 Consecuencias para la Salud Pública

La orina de los perros que se encuentre contaminada con leptospirosis, es infecciosa para los humanos, como también para los animales, por lo tanto, los cuidadores de perros deben tener sumo cuidado al manejar perros sospechosos de leptospirosis, y necesariamente optar por las medidas de bioseguridad y entre ellas la utilización de guantes de látex para manipular pisos y jaulas, como también la utilización de detergentes y de desinfectantes a base de yodo; las inundaciones estacionales son reconocidas como factores de riesgo para la leptospirosis humana (Ford & Litster, 2016).

4.15 Técnicas de análisis espacial

Mediante las técnicas de análisis espacial se logra comprender la distribución de los perros serológicamente positivos a leptospirosis, como también los factores de riesgo en el lugar de residencia de los canes; entre las técnicas de análisis espacial ampliamente utilizadas, están los siguientes: análisis exploratorio de datos espaciales; dependencia espacial; índice de Morán; matriz de vecindario llamada también matriz de proximidad espacial; estimador de intensidad (Kernel Estimation) y árbol de decisión. Las indicadas técnicas de análisis espacial, han sido utilizadas en diferentes campos de la salud animal y humana y



principalmente en la leptospirosis, con el objetivo principal de desarrollar un mejor sistema de vigilancia ambiental (Bier, 2012a).

El análisis exploratorio de datos espaciales visualiza los valores en un mapa y es empleada en la salud (Druck, Carvalho, Câmara, & Monteiro, 2005). Dependencia espacial determina la influencia de un área sobre su barrio (López & Palacios, 2000), es decir proporciona muestras de datos geográficos que no son independientes; la dependencia en los datos espaciales a menudo se refiere a la autocorrelación espacial y la preposición “auto” indica que la medición de la correlación se realiza con la misma variable aleatoria, medida en varios lugares del espacio (Cuéllar, sf). Índice de Moran, sirve para la verificación de dependencia espacial y autocorrelación, ayuda en la formación de clusters, y se concentra en el análisis de indicadores locales de asociación espacial (LISA) (Celemín, 2010).

La matriz de vecindario llamada matriz de proximidad espacial, puede ser generalizada para vecindarios de mayor tamaño (Ferreira & Abiko, 2016). El estimador de intensidad (Kernel Estimation), lo utilizan comúnmente en un contexto estadístico más general para obtener estimaciones uniformes de las densidades de probabilidad univariadas o multivariadas a partir de una muestra de observaciones (Mora, Céspedes, Pérez, & Pérez, Junio 2015). El árbol de decisión ha sido muy utilizado en salud animal, en lo correspondiente a infecciosas, epidemiología, economía de la salud y cuidados de la salud (Pieracci et al., 2016; Fontaine, 2013; Saegerman et al., 2004; Smith & Slenning, 2000; Martin, Meek, & Willeberg, 1987; Sánchez-Pedraza, Gamboa, & Díaz, 2008).

4.16 Análisis espacial de la leptospirosis canina

El sistema de información geográfica (SIG) es una tecnología para obtener y administrar datos espaciales y en la actualidad es muy utilizada en los programas de control de enfermedades infecciosas, sirve para mapear datos, porque se involucran técnicas de manipulación y análisis cuantitativo (Soler, Cárdenas, Aguirre, Ramírez, & Flores, 2017). Los mapas nunca serán mejores que los datos originales de entrada, y no pueden ser una alternativa para una mejor recopilación y registro de datos; el análisis espacial le ha dado el valor agregado a la Epidemiología Veterinaria, como también una visión de los problemas de salud animal y su relación con el entorno físico (Vinodh, Sinha & Singh, 2016). El poder del sistema de información geográfica radica en su capacidad para



analizar, almacenar y visualizar grandes cantidades de datos espacialmente referenciados; son numerosas las aplicaciones de investigación veterinaria, y en el futuro los investigadores deberían intentar trabajar en equipos con geógrafos para garantizar que los métodos geoespaciales sean eficientes en la distribución de enfermedades (Patel y Waters, 2012). En el contexto de la Epidemiología Veterinaria, el sistema de información geográfica es una tecnología esencial para reconocer nuevas y reemergentes infecciones, como también para comprender los factores que intervienen en la aparición de la enfermedad y también para planificar la prevención, control y estrategias de erradicación; la capacitación de los epidemiólogos veterinarios y otro personal de los programas de vigilancia de enfermedades también debe ser una prioridad para el uso óptimo del indicado instrumento (Dhama et al., 2013). En el análisis espacial del riesgo de leptospirosis canina en la Villa Pantanal, CuritibaParaná, tuvieron como objetivo de la investigación, aplicar un método estadístico basado en la teoría de procesos de puntos espaciales para leptospirosis canina, con el fin de identificar cómo los perros seroreactivos y los riesgos determinantes, estaban distribuidos espacialmente en un pueblo de la ciudad de Curitiba; y el riesgo de seropositividad para la leptospirosis canina, resultó significativamente mayor en las áreas con mayor efecto espacial, como también en la combinación animal, dueño y ambiente (Bier et al., 2013a). El análisis espacial de la presencia de leptospirosis en humanos y canes en la ciudad de Maringá, Paraná-Brasil, reveló que el riesgo de infectarse con *leptospiras* está presente tanto en áreas centrales como periféricas, hecho que refuerza la relevancia del estudio y de acciones continuas de vigilancia epidemiológica y ambiental para el control de la enfermedad tanto en animales y en el hombre; tal perspectiva apunta a comprender el espacio geográfico con la distribución de la enfermedad y la ubicación de las interrelaciones con los componentes biológicos y ecológicos, y es una forma peculiar para comprender la enfermedad (Veltrini & Langoni, 2012).

En una investigación sobre factores de riesgo de leptospirosis canina llevada a cabo en Kansas y Nebraska, lo hicieron en base del nivel socio económico de un barrio y del uso del suelo urbano, utilizaron para el efecto el sistema de información geográfica, con el fin de evaluar las asociaciones de variables del censo de vivienda, población y agricultura, como también la proximidad al público tales como: parques, universidades y áreas recientemente urbanizadas, como posibles factores de riesgo para la leptospirosis canina, y obtuvieron resultados que se asociaron significativamente con la presencia de leptospirosis



en perros; por lo tanto, los dueños de mascotas y los veterinarios deberían considerar la vacunación para sus perros con el fin de prevenir la leptospirosis, porque los animales están en mayor riesgo de contraer la enfermedad (Raghavan, Brenner, Higgins, Shawn, & Harkin, 2012). En un estudio de casos y controles, como también del uso de sistemas de información geográfica, para determinar en la leptospirosis canina los factores de riesgo ambientales y demográficos, realizaron un análisis espacial para investigar qué aspectos del paisaje y los patrones de uso de la tierra son importantes en la transmisión de leptospirosis; los resultados del estudio (GIS), validaron los hallazgos del estudio de casos y controles y subrayaron la utilidad del (SIG) en dilucidar los factores de riesgo para enfermedades infecciosas (Ghneim et al., 2007).



5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

5.1.1 Materiales de campo

- Cooler.
- Tubos de vidrio de tapa roja.
- Catéter # 22.
- Catéter # 20.
- Torniquete.
- Gel refrigerante.
- GPS
- Cámara.
- Gradilla descartable.
- Marcador para vidrio.
- Esferos.
- Hojas de encuesta para contexto espacial y datos de propietario.
- Tablero.
- Equipo de protección para campo.

5.1.2 Materiales de laboratorio

Materiales de cristalería:

- Tubos de ensayo 13 x100
- Balón volumétrico
- Laminas con banda
- Erlenmeyer 250 ml.

Equipo de laboratorio:

- Microscopio con condensador de campo oscuro.
- Centrifuga.
- Estufa Bacteriológica
- Mechero de bunsen
- Frigorífico de laboratorio



Accesorios de laboratorio:

- Pipeta automática de volumen variable de 10-50ul
- Pipeta automática múltiple de volumen variable 10-100ul
- Pipeta automática múltiple de volumen variable de 100 – 1000ul
- Puntas amarillas estériles para pipetas
- Puntas azules estériles para pipeta.
- Placas de micro titulación.
- Microtubos de tapa rosca de 1.5 ml
- Micro tubos de eppendorf sin tapa
- Asa bacteriológica.
- Hojas de registro de resultados de laboratorio
- Papel aluminio.
- Algodón.
- Gel desinfectante.
- Materiales de protección para laboratorio.

5.1.3 Químicos

- Alcohol al 70 %
- Cloro al 10% y 90 %
- Agua destilada.
- Solución buffer.

5.1.4 Reactivos

- Antígenos para MAT.

5.1.5 Biológicos

- Suero sanguíneo de perro

5.2 METODOS

5.2.1 Lugar del estudio y caracterización climática

La investigación se llevó a efecto en las comunidades de Gullanzhapa, Tutupali Chico y Centro parroquial de la Parroquia Tarqui perteneciente a la Ciudad de Cuenca, Ecuador. A partir de muestras de sangre que se tomaron de perros que residen en haciendas como en domicilios.

La caracterización climática de las tres comunidades de la Parroquia Tarqui es la siguiente: posee los climas Ecuatorial Mesotérmico Semi-Húmedo y Ecuatorial de Alta Montaña. Las temperaturas medias anuales están entre 12 y 20 °C. La humedad relativa se encuentra entre 65 y el 85 %. Las precipitaciones anuales están entre 500 y 2000 mm, existiendo dos estaciones lluviosas, las cuales son: febrero a mayo y octubre a noviembre la estación seca se presenta de junio a septiembre. (Gobierno Parroquial de Tarqui, 2010)

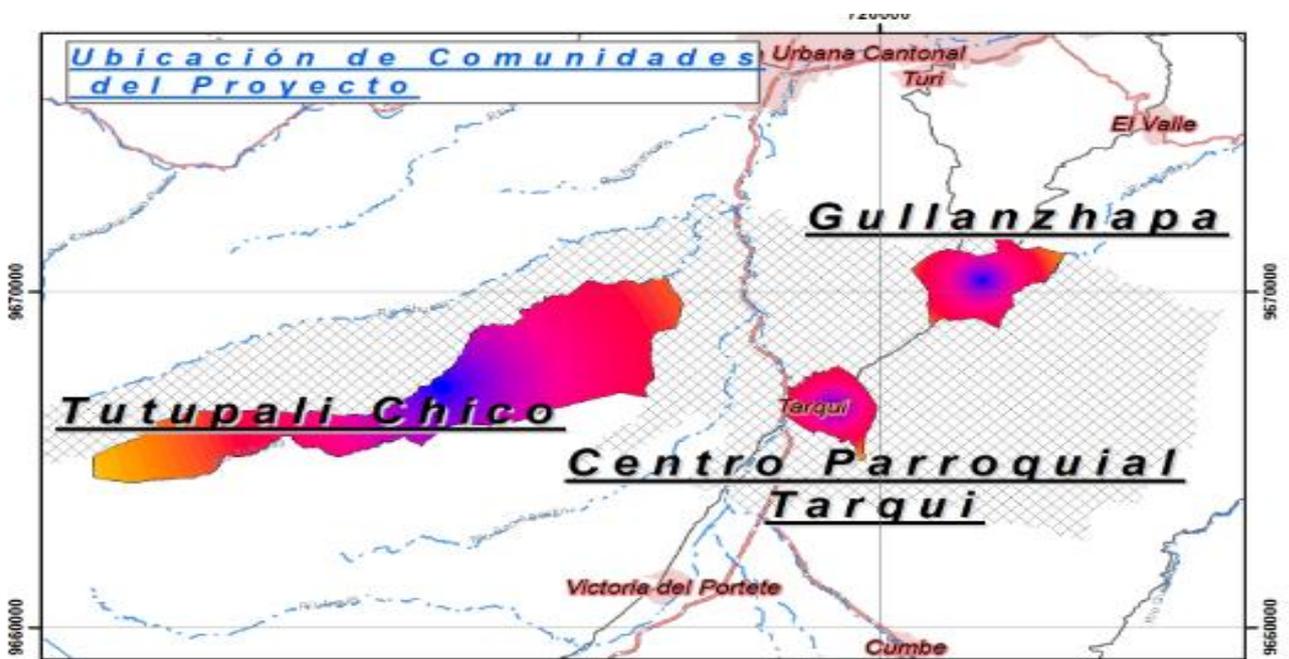


Figura 1. Mapa de la ubicación espacial de las tres comunidades estudiadas de la Parroquia Tarqui.

Fuente: (López, 2018)



5.2.2 Población, muestra y muestreo

Este dato fue obtenido a partir de 100 encuestas al azar en cada comunidad por, debido a que no existe información sobre el número de perros con dueño en dichas localidades se tomó en cuenta el último censo poblacional del 2010 para el cálculo de las encuestas, la población de caninos estimada en Tutupali Chico, Gullanzhapa y Centro Parroquial, de la Parroquia Tarqui en haciendas y domicilios fue de 706 caninos, la cual está compuesta por adultos y cachorros, machos y hembras. El tamaño de la muestra para los caninos, se calculó en base a la probabilidad del 50 %, porque se desconoce la probabilidad de acierto, con un 95 % de confiabilidad y 5 % del error estimado, lo que arrojó una muestra de 249 caninos.

Para generar un cronograma de recolección de muestras se tomó en cuenta los cinco días laborables del INSPI y el número establecido del tamaño de la muestra, para un tiempo de recolección de un mes y medio. Obteniendo un aproximado de 42 muestras semanales y a cada perro se le tomó una muestra de sangre. Se utilizó el muestreo aleatorio estratificado de acuerdo a las variables antes indicadas: cachorros machos, cachorros hembras, adultos machos y adultos hembras, luego cada variable se muestreo aleatoriamente con la finalidad de adquirir la proporción de la muestra y de que cada estrato se encuentre bien representado. A partir del muestreo aleatorio estratificado, fue objeto del ensayo 32 cachorros machos y 13 cachorros hembras de 0 a 1 año de edad. De los perros adultos machos 156 y de los perros adultos hembras 48, correspondientes a 1 a más años. Ver anexo No 6 Repartidos en domicilios de: Centro parroquial: cachorros machos 13, cachorros hembras 4, adultos machos 47 y adultos hembras 11; Gullanzhapa cachorros machos 9, cachorros hembras 4, adultos machos 54 y adultos hembras 21; Tutupali chico. Cachorros machos 9 cachorros hembras 4 adultos machos 48 y adultos hembras 15.

Para realizar la toma de muestras se realizó mediante la distribución de diferentes puntos al azar en un mapa de cada comunidad con la ayuda de un software de sistema de información geográfica, luego se procedió a registrar los puntos y realizar la toma de muestras en cada punto dibujado, si no existían perros o los dueños no colaboraban con la procedencia de toma de sangre esta se hacía en una vivienda continua, si los puntos estaban en zonas despobladas y no existían viviendas cercanas a los puntos estos se distribuían a la zona céntrica con el fin que exista homogeneidad en la toma de muestras.



Figura 2 . Mapa delimitado con puntos al azar de la comunidad Tutupali Chico.

Fuente: (Google Earth, 2018)

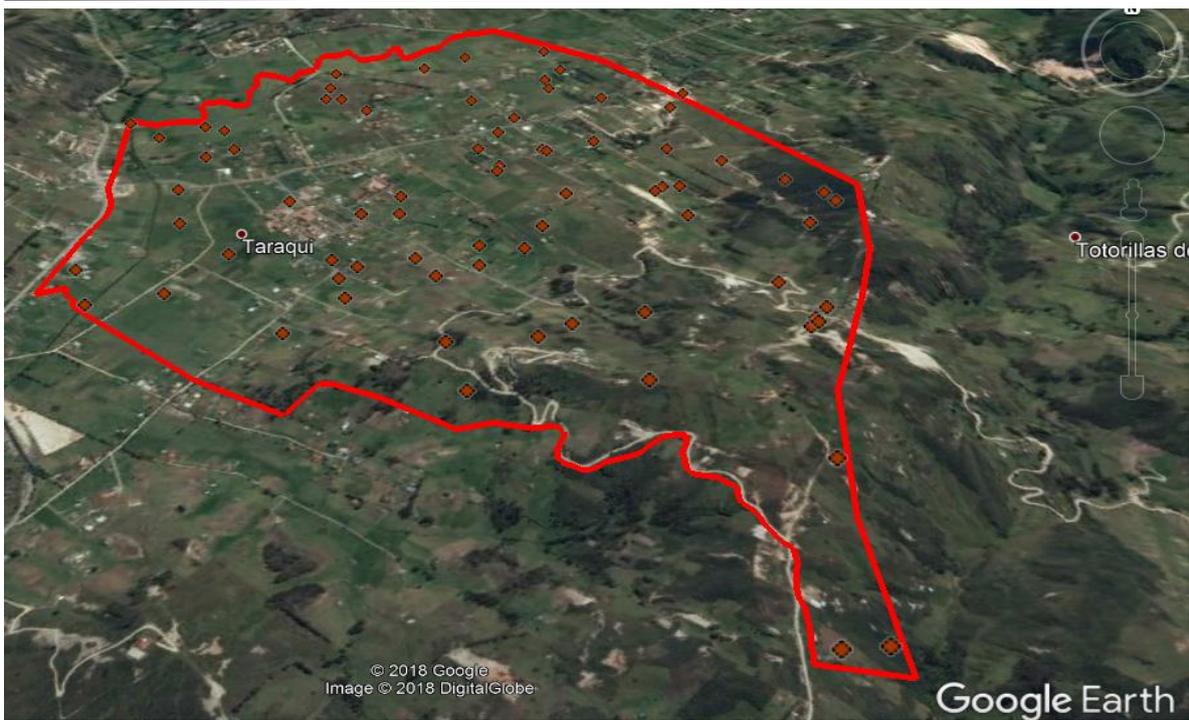


Figura 3 . Mapa delimitado con puntos al azar de la comunidad Gullanzhapa.

Fuente: (Google Earth, 2018)



Figura 4 . Mapa delimitado con puntos al azar de la comunidad Centro Parroquial Tarqui

Fuente: Google Earth, 2018



5.2.3 Criterios de inclusión

Se tomó en consideración los perros que viven en haciendas, domicilios y que posean dueño o responsable, y se los separo por motivo de estudio en categorías de edad: menores a un año y de un año o más.

5.2.4 Criterios de exclusión

Se excluyó para la toma de muestras a los perros que en el último año hayan recibido vacuna contra la leptospirosis y los que no posean dueño.

5.3 METODOLOGÍA DEL PROCESO INVESTIGATIVO.

5.3.1 El proceso investigativo consta de las siguientes etapas:

- Aplicación de 2 encuestas para caracterizar los factores de riesgo epidemiológicos para leptospirosis en perros con dueño en haciendas y domicilios de tres comunidades de la parroquia Tarqui.
- Toma de la muestra de sangre o suero, de perros con dueños: La sangre de cada perro se recolectó mediante venopunción cefálica y fueron colocados en tubos de vidrio de 10 ml, en posición inclinada en la gradilla con gel refrigerante.
- Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio del INSPI, de la ciudad de Cuenca, en triple empaque con gel refrigerante.
- Almacenamiento de muestras: Las muestras de sangre obtenidas de los perros fueron centrifugadas a 2500 rpm., por el tiempo de 5 minutos, con el fin de obtener el suero sanguíneo. Las muestras fueron acopiadas en microtubo estéril de tapa rosca de 1.5 ml a -16°C ., hasta que se realice la técnica de MAT para la detección de *Leptospiras spp*.

5.3.2 Transporte de muestras

Las muestras obtenidas fueron transportadas desde la ciudad de Cuenca hasta el Laboratorio de Zoonosis del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) de la ciudad de Guayaquil, en refrigeración entre 2 a 8 °C en microtubos tapa rosca colocados en un cooler con geles refrigerantes con triple envoltura y herméticamente sellado.



5.3.3 Recepción de muestras (INSPI Guayaquil)

Antes del inicio de la técnica de MAT se procedió al desempaque y verificación del estado de los sueros transportados para poder ser almacenados nuevamente en congelación a -16°C en el frigorífico del (INSPI) de la ciudad de Guayaquil hasta el inicio del procedimiento de las muestras.

5.3.4 Principio de MAT – Técnica Utilizada

El método consiste en mezclar el suero sanguíneo de los perros muestreados con cepas de *leptospiras* previamente cultivadas en el laboratorio con una semana de anticipación que es el tiempo que necesita la cepa para que pueda formar antígenos suficientes, para evaluar el grado de aglutinación, usando un microscopio de campo oscuro.

Es el método Gold Standard de referencia internacional, que se emplea para la confirmación serológica de una infección pasada o reciente en humanos y animales.

La técnica de MAT no puede diferenciar entre anticuerpos aglutinantes debidos a una infección actual, reciente o pasada. Idealmente al igual que otras pruebas serológicas, deberían ser examinadas dos muestras consecutivas de suero para observar seroconversión o un incremento de cuatro veces o más en el título. Por tal motivo el punto de corte para la determinación de casos positivos, cuando se obtiene muestra única es un tópico de debate, pues algunos autores consideran positivo un título de 1:100, mientras que otros aceptan 1:200, 1:400 o 1:800 como diagnóstico de una infección actual o reciente.

Dieciocho serogrupos se usaron como antígenos (cepas vivas) en la prueba de aglutinación microscópica (MAT), en el INSPI, de la ciudad de Guayaquil: *Leptospira australis*. *Leptospira autumnalis*. *Leptospira bataviae swart*. *Leptospira bataviae vantienen*. *Leptospira bratislava*. *Leptospira canicola*. *Leptospira copenhageni*. *Leptospira cynopteri*. *Leptospira djasiman*. *Leptospira grippotyphosa*. *Leptospira hardjo*. *Leptospira hebdomadis*. *Leptospira icterohaemorrhagiae*. *Leptospira pomona*. *Leptospira sejroe*. *Leptospira saxkoebing*. *Leptospira tarassovi*. *Leptospira wolfi*.



5.3.5 Preparación del antígeno

Cada semana las cepas de *leptospiras* se cultivan en un medio líquido llamado Ellinghausen y McCullough, modificado por Johnson y Harris (EMJH). El indicado cultivo, se lo debe usar entre el cuarto y décimo día de crecimiento a 30 °C.

Con el fin de evitar la contaminación o pérdida de un cultivo de cepas de *leptospira* es preferible guardar los cultivos de *leptospiras* en la oscuridad a temperatura ambiente, siempre que el cultivo haya crecido a una densidad de $2 - 4 \times 10^8$ *leptospiras*/mL. Pasados los 10 días, los cultivos se los debe guardar a temperaturas de 15 °C. La viabilidad celular (densidad y movilidad) y la ausencia de contaminación, se verifican usando el microscopio de campo oscuro.

Antes de utilizar las cepas de *leptospiras*, se diluyen las cepas generalmente 1:2 con solución fisiológica tamponada, con pH 7.6; que consiste de 0.85 % de solución de NaCl (1840 mL) y el tampón Sörensen (160 mL.). El tampón Sörensen, contiene Na₂HPO₄, 12 H₂O (8.33 g) y KH₂PO₄ (1.09g) llevado a un volumen final de 1 litro de agua. Esta solución se esteriliza a 110 °C por 20 minutos y se guarda a 4 °C. Una vez diluida las cepas, se obtiene una densidad de *leptospiras*/ml de $1 - 2 \times 10^8$. La densidad celular de cada cepa debe verificarse individualmente.

5.3.6 Método e interpretación (MAT)

La técnica de MAT tiene como fundamento dos procedimientos continuos: el primero que corresponde al tamizado que nos ayuda a determinar si uno o más serogrupos son responsables de leptospirosis canina, el segundo fundamento es MAT cuantitativa que sirve para determinar el título del suero para cada antígeno probado. El suero debe presentar las condiciones requeridas es decir no debe ser un suero hemolítico o suero lipémico.

5.3.7 Tamizado

Antes de iniciar el tamizado se debe preparar solución buffer tampón al mismo tiempo que los sueros deben estar en el proceso de descongelamiento, para el tamizado se debe realizar los siguientes pasos:

- Inactivar el complemento calentando el suero a 56 °C por 30 minutos



- Realizar una dilución del suero problema 1:25 en solución salina, utilizando 50 µL por cada serovar.
- Descargar 50 µL de solución fisiológicamente tamponada con pH 7.6, en la primera fila de pocillos de una placa de microtitulación, con fondo plano. El número de pocillos es el mismo que el número de antígenos (*leptospiras* vivas que circulan localmente). La primera fila corresponde al antígeno control, cada una de la demás filas corresponde a un suero en particular.
- Colocar 50 µL de suero problema diluido y previamente tratado para remover el complemento en cada pocillo. Al igual que el paso precedente, el número de pocillos será el mismo como el número de antígenos. Repetir para cada uno de los sueros. Cada columna corresponde a un antígeno.
- Se descarga 50 µL de antígeno diluido en los correspondientes pocillos, incluyendo el “antígeno control”. Repetir para cada uno de los antígenos probados. La dilución final del suero es 1/50.
- Cubrir la placa de microtitulación con papel aluminio e incubarla en la oscuridad a temperatura ambiente por 2 horas o toda la noche a 4 °C.
- Se utilizó un gotero para transferir una gota de cada uno de los pocillos a un portaobjeto, lo precedente se hace columna por columna.
- La lectura en cada pocillo y en cada columna, se determina en relación a la aglutinación del antígeno control correspondiente.

Tabla 1. Cuadro de Diagrama de una placa de micro titulación usada en el tamizado para determinar el (los) serogrupo (s) responsable (s).

	Antígeno 1	Antígeno 2	Antígeno n
Antígeno control	Tampón + antígeno 1	Tampón + antígeno 2	Tampón + Antígeno n
Suero 1	Suero 1 + antígeno 1	Suero 1 + antígeno 2	Suero 1 + antígeno n
Suero 2	Suero 2 + antígeno 1	Suero 2 + antígeno 2	Suero 2 + antígeno n
Suero x	Suero x + antígeno 1	Suero x + antígeno 2	Suero x + antígeno n

Fuente: (OMS, 2008)

5.3.8 Interpretación

Para la interpretación después de la incubación de las muestras, se procedió al proceso de lectura de cada uno de los sueros que lo realizó el técnico responsable y capacitado en la técnica de MAT. Se tomó una gota de muestra de cada pocillo para colocarla en un porta-objetos para ser visualizada en el microscopio de campo oscuro con una lente de 10X, en la visualización se puede apreciar si las *leptospiras* presentaban movimiento, estaban libres o aglutinadas y si existe mayor o menor densidad en relación al grupo control.

Para determinar si las muestras son positivas se evaluó que la proporción de las *leptospiras* libres sea menor al 50% y si la proporción de las *leptospiras* libres está entre el 50% y 100%, la reacción es negativa.

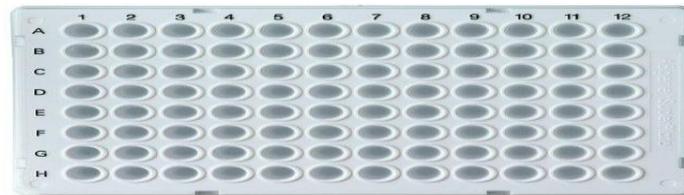


Figura 5. Placa de microtitulación de 96 pocillos.

Fuente: (OMS, 2008)

5.3.9 MAT cuantitativo

Todos los sueros que resultaron ser positivos en el tamizado fueron evaluados mediante MAT cuantitativo para medir el grado de titulación que constó de los siguientes pasos:

- Se preparó una placa de microtitulación donde se rotuló el código de los serovares en las filas y en las columnas se anotó las diluciones correspondientes que empiezan con 1:50, 1:100, 1:200 o hasta donde la muestra demuestre reacción.
- Se realizó diluciones seriadas al doble (2X) del suero para determinar el título de anticuerpo.
- Se agregó 50µl de PBS a partir de la segunda columna, hasta la 12.
- Se diluyó el suero en una dilución 1:25 con PBS en un volumen final de 1mL. Al igual que se depositó 50µl de PBS desde la primera columna hasta la última.
- Se añadió 100µl del suero diluido 1:25 en la segunda columna.
- Se tomó 50µl de la dilución del suero de la segunda y se mezcló con el suero diluido con PBS en la tercera columna, luego se extrajo 50µl y se vertió en la cuarta columna



y así sucesivamente se continuó con las diluciones a lo largo de toda la fila hasta la décimo primera columna.

- Los 50µl de la dilución se descartó y se dejó libre la primera columna la cual se uso como grupo control de antígeno.
- Se agregó 50µl en cada fila del antígeno correspondiente.
- Se agito la placa con movimientos circulares durante 5 segundos posterior a la aplicación de los antígenos.
- Por último se cubrió la microplaca con papel aluminio y se incubo por 2 horas a temperatura ambiente hasta su interpretación.

Tabla 2. Diagrama de la placa de microtitulación usada para determinar el título del suero para cada antígeno probado.

Código	Antígeno control	Dilución 1/50	Dilución 1/100	Dilución 1/200	Dilución 1/n	Antígeno Ag
Suero 1	Tampón + Ag 1	Suero 1 1/25 + Ag 1	Suero 1 1/50 + Ag 1	Suero 1 1/100 + Ag 1	Suero 1 1/n + Ag 1	Ag 1
Suero 1	Tampón + Ag 2	Suero 1 1/25 + Ag 2	Suero 1 1/50 + Ag 2	Suero 1 1/100 + Ag 2	Suero 1 1/n + Ag 2	Ag 2
Suero 1	Tampón + Ag 3	Suero 1 1/25 + Ag 3	Suero 1 1/50 + Ag 3	Suero 1 1/100 + Ag 3	Suero 1 1/n + Ag 3	Ag 3
Suero 1	Tampón + Ag x	Suero 1 1/25 + Ag x	Suero 1 1/50 + Ag x	Suero 1 1/100 + Ag x	Suero 1 1/n + Ag x	Ag x
Suero 2	Tampón + Ag 1	Suero 2 1/25 + Ag 1	Suero 2 1/50 + Ag 1	Suero 2 1/100 + Ag 1	Suero 2 1/n + Ag 1	Ag 1
Suero 2	Tampón + Ag 2	Suero 2 1/25 + Ag 2	Suero 2 1/50 + Ag 2	Suero 2 1/100 + Ag 2	Suero 2 1/n + Ag 2	Ag 2
Suero 2	Tampón + Ag y	Suero 2 1/25 + Ag y	Suero 2 1/50 + Ag y	Suero 2 1/100 + Ag y	Suero 2 1/n + Ag y	Ag y

Fuente: (OMS, 2008)



5.3.10 Interpretación de MAT cuantitativa para leptospirosis canina

Los títulos de anticuerpos expresado en 1/100 normalmente se consideran positivos. Sin embargo en el Ecuador el INSPI considera 1/200. Los resultados deben estar asociados con la sintomatología del paciente y el nexo epidemiológico (Oficina Internacional de Epizootias, 2014). Sin embargo, el título de anticuerpos debe ser interpretada a la luz de:

- La fecha de obtención de la muestra en relación con los primeros signos clínicos.
- La evolución de los títulos de anticuerpos entre las dos o tres muestras sucesivas.
- El serogrupo causal
- El tratamiento dado

Para la lectura de MAT cuantitativa se realizó los siguientes pasos:

- Se procedió a tomar 15µl de la mezcla antígeno-suero y 15µl del control y traspasarlos a un porta-objetos.
- Se depositó el porta-objetos en el microscopio de campo oscuro con una lente de 10X, sin cubre objetos.
- Se observó el grado de aglutinación de cada antígeno en relación al antígeno control

5.3.11 Análisis espacial

Para lo concerniente al análisis espacial se realizaron encuestas de datos epidemiológicos y contexto espacial.

Datos epidemiológicos consta de:

- Examen clínico
- Nutricionales
- Ambientales
- Demográficos

En el examen clínico la evaluación correspondía parte del dueño si había observado algún tipo de signo clínico como son ictericia y orina oscura en los días anteriores, también se realizó una examinación de mucosa conjuntival y oral a los perros al momento de la extracción de la muestra. En lo concerniente a la alimentación se indago sobre el tipo de dieta que llevaban los



perros con el fin de determinar si esto podría influir en la presentación de la enfermedad. En el factor ambiental se tomó en cuenta el hábitat del animal como corresponde si estaban en contacto con roedores, animales de la calle, fauna silvestre, aguas estancadas, basurales y si habían recibido vacuna para *leptospira*. En lo correspondiente a demográficos se tomó en cuenta el lugar que se obtenía la muestra, número de personas, estado civil y ocupación de los dueños.

El contexto espacial consta de:

- Ecología demográfica
- Estado socioeconómico

Para el aspecto demográfico se indagaron el número de perros, tipo de residencia de los perros, si vive en el interior de la residencia, si vive suelto a su voluntad y el tipo de raza según American Kennel Club Inc. Para el estado económico se tomó en cuenta todo lo concerniente a la vivienda como insumos básicos, disposición de las excretas, método de recolectar basura, tipo de material de la vivienda, grado de escolaridad del propietario y datos como edad y sexo del perro.

5.3.12 Análisis estadístico para los resultados.

Para la descripción de los títulos de anticuerpos expresados en diferentes diluciones contra los serovares de *Leptospira spp.*, que se obtuvieron mediante la “Prueba de aglutinación microscópica (MAT) cuantitativa”, se utilizaron frecuencias para conocer los positivos y negativos. Se recurrió al chi cuadrado de Pearson de la estadística no paramétrica con significancia de 95 % para determinar la relación de dependencia entre los resultados obtenidos y los factores de riesgo, también se accedió al odds ratio (OR) para estimar la asociación entre los serogrupos que se presenten en los perros de las haciendas, comparados con los serogrupos que se presenten en los perros que habitan en los domicilios, en tres comunidades de la parroquia Tarquí. Se utilizó la prueba de regresión logística para determinar odds ratio (OR) ajustados para los factores de riesgo, con un nivel de significancia de 0,05. Las pruebas fueron analizadas con el software SPSS 24 para Windows.

Para el estudio del análisis espacial se lo realizó a partir de los resultados de las encuestas y coordenadas geográficas obtenidas con el Global Positioning System (GPS) de cada hacienda



y domicilio en las cuales resida cada animal de la investigación, con la finalidad de confeccionar mapas con un software de sistema de información geográfica para verificar la variabilidad que pueda existir entre las haciendas y los domicilios. Los mapas que se georreferenciaron con la distribución espacial de los perros seropositivos y seronegativos a la leptospirosis, fueron elaborados en el Departamento de Geomática de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.



6. RESULTADOS

La prueba de MAT con una media de corte 1:200 en los títulos de anticuerpos de 249 perros estudiados en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarqui dan como resultado que el 61.8% (154 casos) es positivo es decir que presenta antígenos a algún serovar de *leptospira*.

Los principales factores que estuvieron asociados a la presentación de la enfermedad son las variables “lugar”, “el tipo de residencia” y “si los perros viven sueltos a voluntad” que dieron significancia a la prueba de Chi cuadrado.

Para la variable “lugar”, con la técnica de MAT tenemos como resultado que en Centro Parroquial existen un 63,2% de positivos, en Gullanzhapa existe un 45,5% de perros positivos, y en Tutupali Chico un 77,6 % de perros positivos, dando un valor χ^2 0.00 que es altamente significativo indicando que existe una relación dependiente del lugar de estudio para la presencia de la enfermedad. Ver tabla 5. El Odds Ratio es de 2,03 para Tutupali Chico demostrando que existe 2,03 veces la probabilidad de que un perro pueda contraer la enfermedad en la comunidad de Tutupali Chico, comparado con Centro Parroquial (Odds Ratio 1,71) y Gullanzhapa (Odds Ratio 0,49). Ver tabla 6.

Otro de los factores de riesgo en lo que corresponde la variable “tipo de residencia” se obtuvo como resultado que en las haciendas existen un 100% de positivos, en los domicilios existe un 60,4% de perros positivos, con un valor χ^2 0.016 que es significativo que indica que existe una asociación dependiente del resultado con el tipo de residencia sea domicilio o hacienda. Ver tabla 7. El Odds Ratio no se puede calcular debido a que existe un 100% de casos positivo y un 0 % de casos negativo en, dando a entender que un perro que viva en haciendas va a tener la probabilidad de 100% de resultar positivo. Ver tabla 8.

Para el factor de riesgo que corresponde a la variable “perros que viven sueltos a voluntad”, se obtuvo los siguientes valores: en los 249 perros estudiados los que no viven sueltos a su voluntad el 36,4% son positivos, mientras que los perros que si viven sueltos a su voluntad el 65,7% son positivos, obteniendo un valor χ^2 0,001 que es altamente significativo indica que si existe asociación entre los resultados y los perros que viven sueltos a su voluntad. Ver tabla 9. El Odds Ratio indica que los perros que viven sueltos a su voluntad tienen 3,36 veces de



probabilidad de contraer la enfermedad en comparación a los perros que no viven sueltos. Ver tabla 10.

En lo que corresponde a los serovares se encontró de un total de 154 sueros positivos 16 serovares diferentes y los que presentaron mayor presencia fueron: *Leptospira canicola* con 64 /249 casos (26%), seguida del serovar *Leptospira grippotyphosa* con 54/249 casos (22%), luego aparecen los serovares, *Leptospira bataviae vantienen* con 46/249 casos (18%) y *Leptospira sejroe* con 43/249 casos (17%). Ver figura 9.

En cada comunidad varia en cuanto a porcentaje y tipo de serovar: en Gullanzhapa el serovar de mayor presencia es *Leptospira canicola* con 17 casos, en Tutupali Chico el serovar con mayor presencia es *Leptospira canicola* con 36 casos y en Centro Parroquial el serovar con mayor presencia es *Leptospira grippotyphosa* con 14 casos. Ver tabla 13.

Tabla 3. Frecuencia y porcentaje de 249 muestras de suero sanguíneo de perros de la comunidad de Tarqui sometidos a la prueba de MAT para leptospirosis.

RESULTADO	Frecuencia	Porcentaje %
Positivos	154	61,8
Negativos	95	38.2
Total	249	100,0

Fuente: (Chuva, 2018)

En las siguientes figuras podemos observar la distribución de la población canina que resulto seropositiva en cada una de las tres comunidades estudiadas de la parroquia Tarqui, este resultado esta graficado según la georeferencia tomada en el sitio donde habitaban los pacientes caninos objetos de estudio.

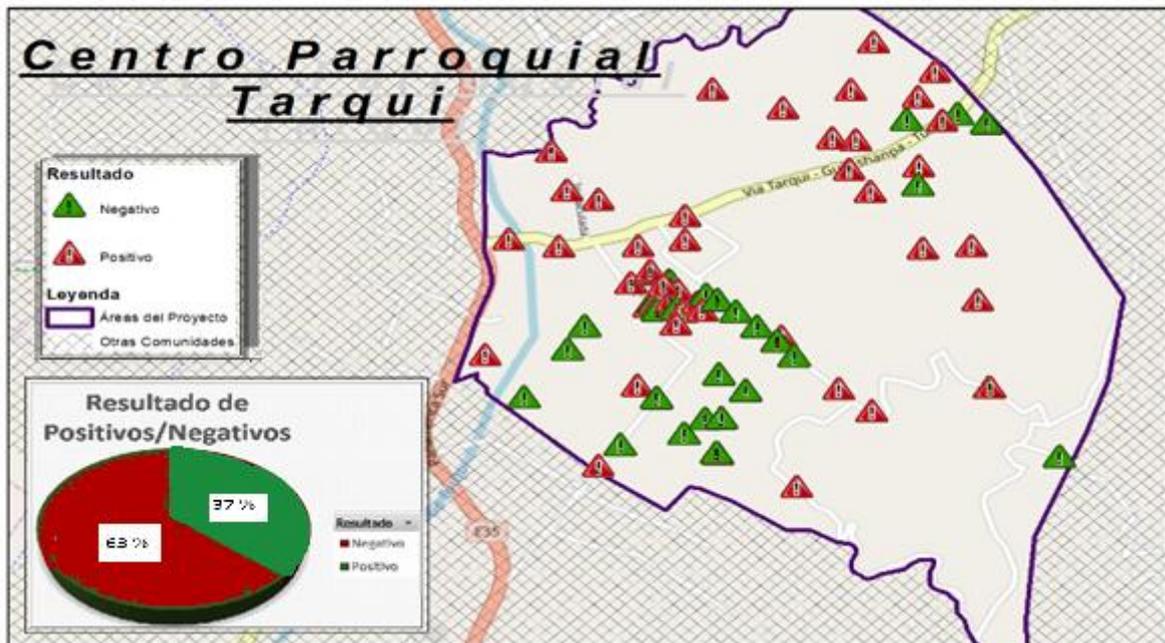


Figura 6. Población canina seropositiva/negativa a leptospirosis en la comunidad de Centro Parroquial de la parroquia Tarqui..

Fuente: (López, 2018)

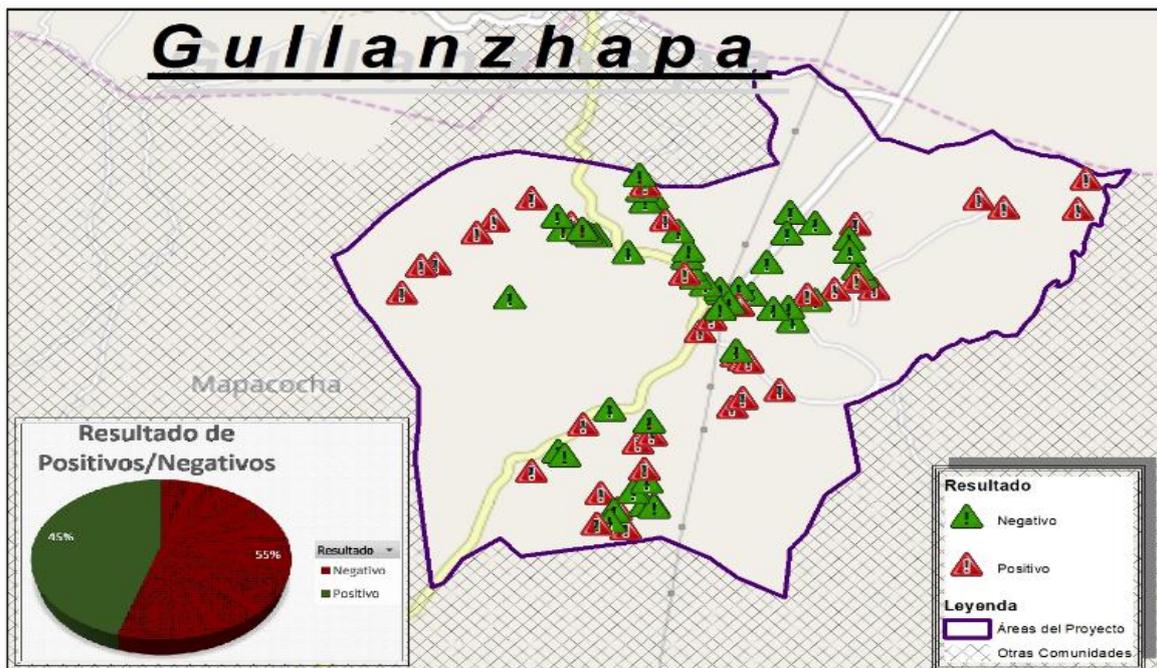


Figura 7. Población canina seropositiva/negativa a leptospirosis en la comunidad de Gullanzhapa de la parroquia Tarqui.

Fuente: (López 2018)

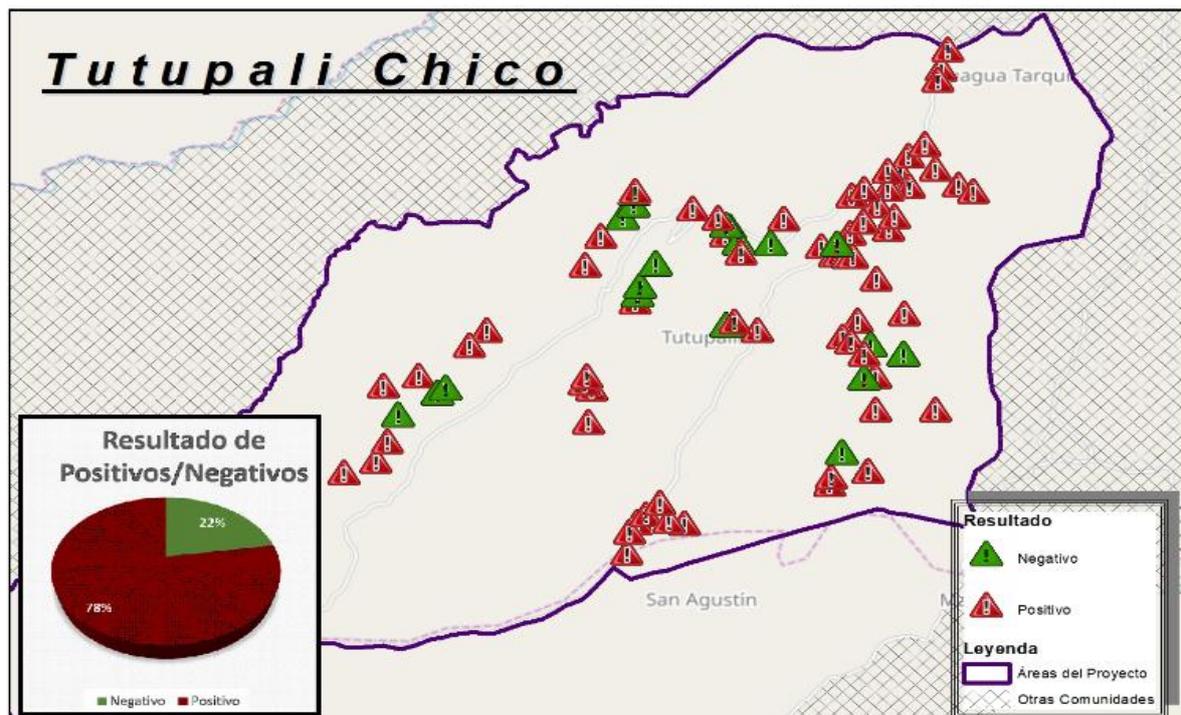


Figura 8. Población canina seropositiva/negativa a leptospirosis en la comunidad Tutupali Chico de la parroquia Tarqui.

Fuente: (López, 2018)

6.1 Factores de riesgo que están asociados a la infección por leptospirosis en perros de tres comunidades de Tarqui.

Tabla 4. Relación entre los casos positivos a leptospirosis y la variable “lugar” del estudio.

RESULTADOS	Nombre del lugar			Total
	Centro parroquial	Gullanzhapa	Tutupali Chico	
Positivos	48 _a	40 _b	66 _c	154
	63,2%	45,5%	77,6%	61,8%
Negativos	28 _a	48 _b	19 _c	95
	36,8%	54,5%	22,4%	38,2%
Total	76	88	85	249
%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Las letras diferentes indican significancia, χ^2 0.000

Fuente: (Yunga, 2018)



Tabla 5. Odds Ratio de la variable “Lugar”

Variable “Lugar”	O.R
Centro Parroquial	1,71
Gullanzhapa	0,49
Tutupali Chico	2,03

Fuente: (Yunga, 2018).

Tabla 6. Relación de la variable tipo de “residencia de los perros” frente al resultado.

Resultado		Tipo de residencia de perros		Total
		Hacienda	Domicilios	
Negativo	N° de animales	0 _a	95 _b	95
	%	0,0%	39,6%	38,2%
Positivo	N° de animales	9 _a	145 _b	154
	%	100,0%	60,4%	61,8%
Total	N° de animales	9	240	249
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Las letras diferentes indican significancia, χ^2 0,016

Fuente (Chuva, 2018)



Tabla 7. Odds ratio de la variable “Tipo de residencia hacienda o domicilios”

Variable tipo de residencia	O.R
Haciendas	1615469996,06
Domicilios	9,4E-10

Fuente: (Yunga, 2018)

Tabla 8. Relación de la variable “perros sueltos a su voluntad” frente al resultado.

Resultados	Perro Vive Suelto a su voluntad		Total
	No	Si	
Negativos	21 _a	74 _b	95
	63,6%	34,3%	38,2%
Positivos	12 _a	142 _b	154
	36,4%	65,7%	61,8%
Total	33	216	249
	100,0%	100,0%	100,0%

Las letras diferentes indican significancia, χ^2 0,001

Fuente: (Yunga, 2018)

Tabla 9. Odds Ratio de la variable “perros sueltos a su voluntad”.

Variable “vive suelto”	O. R
Si vive suelto a su voluntad	0,57
No vive suelto a su voluntad	3,36

Fuente: (Yunga, 2018)



Tabla 10. Tipificación de los serovares de leptospirosis con la técnica de MAT, indicando los serovares reaccionantes y títulos de anticuerpos alcanzados, en las comunidades de Tutupali Chico, Gullanzhapa y Centro Parroquial de la parroquia Tarqui.

Serovar	Perros Seropositivos						Total N
	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	>1/1600	
<i>L. bataviae</i> <i>vantienei</i>	-	33	39	6	1	-	79
<i>L. cynopteri</i>	-	7	10	7	9	-	33
<i>L. hebdomadis</i>	-	1	1	1	3	-	6
<i>L. tarassovi</i>	-	1	-	-	-	-	1
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	-	0	0	0	0	-	0
<i>L. saxkoebing</i>	-	9	35	3	1	-	48
<i>L. hardjo</i>	-	12	22	4	-	-	38
<i>L. Pomona</i>	-	7	11	2	-	-	20
<i>L. wolffi</i>	-	2	6	5	-	-	13
<i>L. autumnalis</i>	-	-	1	-	-	-	1
<i>L. canicola</i>	-	27	41	8	13	2	91
<i>L. grippotyphosa</i>	-	25	41	13	-	-	79
<i>L. bratislava</i>	-	6	5	-	-	-	11
<i>L. copenhageni</i>	-	7	26	6	3	-	42
<i>L. australis</i>	-	16	16	1	-	-	33
<i>L. sejroe</i>	1	17	24	19	-	-	61
<i>L. bataviae swart</i>	-	-	-	0	-	-	-
<i>L. djasiman</i>	-	-	-	1	-	-	-
Total	1	170	278	76	30	2	557

Fuente: (Yunga, 2018)

El serovar con mayor microaglutinación fue *L. Canicola* con títulos hasta de 1:51200.

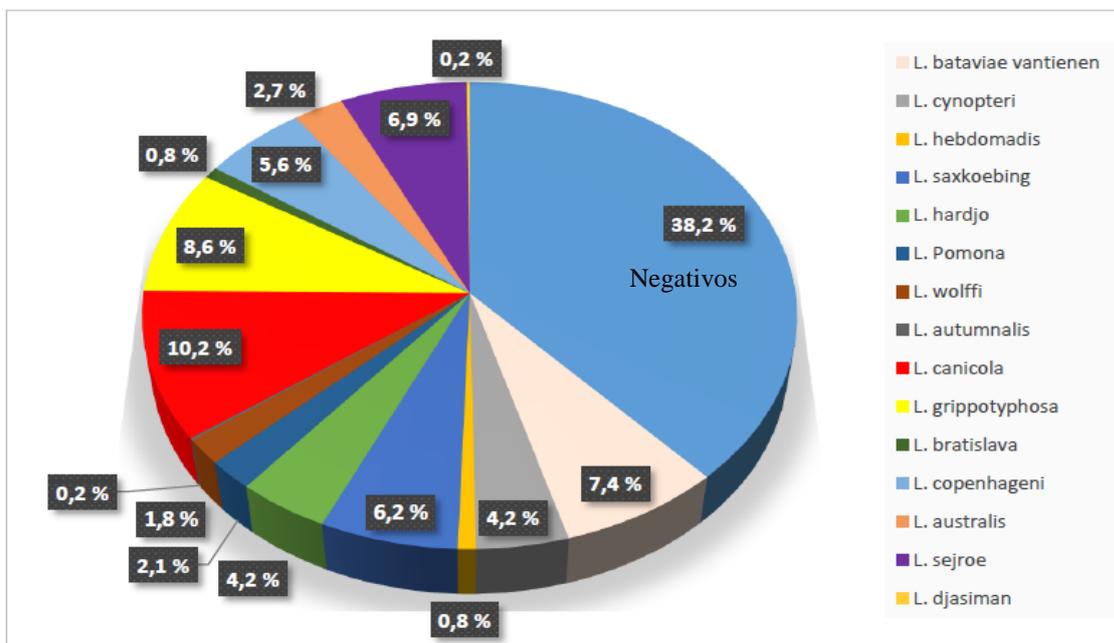


Figura 9. Casos positivos a leptospirosis mediante la tecnica de MAT en perros en las tres comunidades de Tarqui representado en fracciones del porcentaje total.

Fuente (Chuva, 2018)

Tabla 11. Número de Casos positivos en cada rango de edad para leptospirosis en las comunidades de Gullanzhapa, Tutupali Chico y Centro Parroquial de Tarqui. .

Parroquia	Rango Edad								Total	
	<1 año		1-3 años		4-7 años		> 8 años			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Centro Parroquial	10	6,49	16	10,39	15	9,74	7	4,55	48	31,17
Gullanzhapa	3	1,95	21	13,64	11	7,14	5	3,25	40	25,97
Tutupali Chico	12	7,79	23	14,94	23	14,94	8	5,19	66	42,86
Total	25	16,23	60	38,96	49	31,82	20	12,99	154	100,00

Fuente: (Chuva, 2018)



Tabla 12. Casos positivos a Leptospirosis en Gullanzhapa, Tutupali Chico y Centro parroquial de Tarqui indicando el número de casos encontrados para cada serovar, se detalla el porcentaje equivalente para los 249 perros muestreados en las tres comunidades.

Serovares >200	Parroquia							
	Centro Parroquial Tarqui		Gullanzhapa		Tutupali Chico		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
<i>L. bataviae vantienen</i>	13	17%	12	14%	21	25%	46	18%
<i>L. cynopteri</i>	7	9%	5	6%	14	16%	26	10%
<i>L. hebdomadis</i>	0	0%	1	1%	4	5%	5	2%
<i>L. saxkoebing</i>	10	13%	1	1%	28	33%	39	16%
<i>L. hardjo</i>	8	11%	4	5%	14	16%	26	10%
<i>L. Pomona</i>	0	0%	0	0%	13	15%	13	5%
<i>L. wolffi</i>	2	3%	3	3%	6	7%	11	4%
<i>L. autumnalis</i>	0	0%	0	0%	1	1%	1	0%
<i>L. canicola</i>	11	14%	17	19%	36	42%	64	26%
<i>L. grippotyphosa</i>	14	18%	7	8%	33	39%	54	22%
<i>L. bratislava</i>	0	0%	0	0%	5	6%	5	2%
<i>L. copenhageni</i>	7	9%	5	6%	23	27%	35	14%
<i>L. australis</i>	5	7%	2	2%	10	12%	17	7%
<i>L. sejroe</i>	6	8%	5	6%	32	38%	43	17%
<i>L. djasiman</i>	0	0%	0	0%	1	1%	1	0%
Total							386	

Fuente: (Chuva 2018)

6.2 ANÁLISIS ESPACIAL.

Dentro del análisis espacial se tomó en cuenta a los perros que resultaron seropositivos a la técnica de MAT y que estuvieron en contacto con roedores y fauna silvestre esto con el fin de poder observar como la bacteria se podría haber distribuido desde los roedores o animales silvestres a los perros, dentro de esta condición se encontró que en Tutupali Chico, de 88 perros muestreados en haciendas y domicilios 45 estuvieron en contacto con roedores de los cuales 34 fueron positivos a leptospirosis, en Centro Parroquial Tarqui de 76 perros muestreados 42 estuvieron en contacto con roedores de los cuales 27 fueron positivos mientras que en Gullanzhapa de 85 perros muestreados 26 estuvieron en contacto con roedores de los cuales 11 fueron positivos. Aunque no se encontró significancia al ser comparados a la prueba de chi cuadrado con los animales que no estuvieron en contacto con la fauna silvestre y así mismo con los roedores nos deja una clara preocupación de que la bacteria está altamente distribuida y a la espera de una investigación enfocada a esta problemática en especial a los animales de la fauna silvestre que no han sido tomados en cuenta con se observa en los siguientes mapas

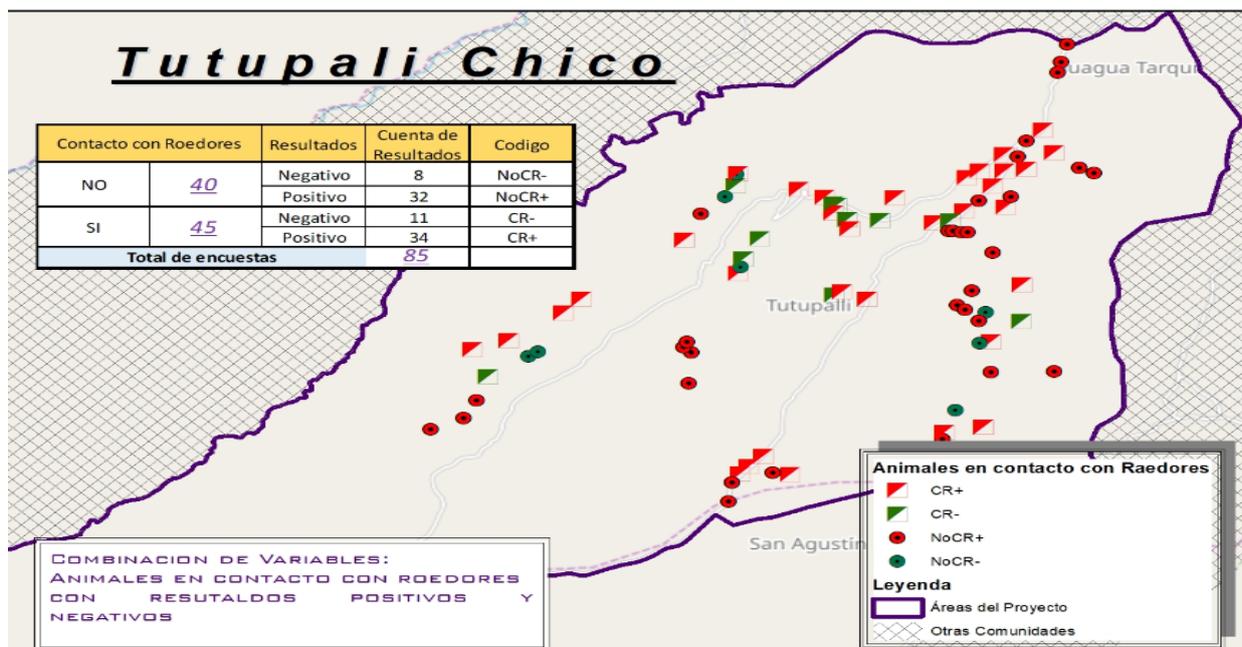


Figura 10. Análisis espacial de la comunidad Tutupali Chico de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con roedores frente al resultado.

Fuente: (López, 2018)

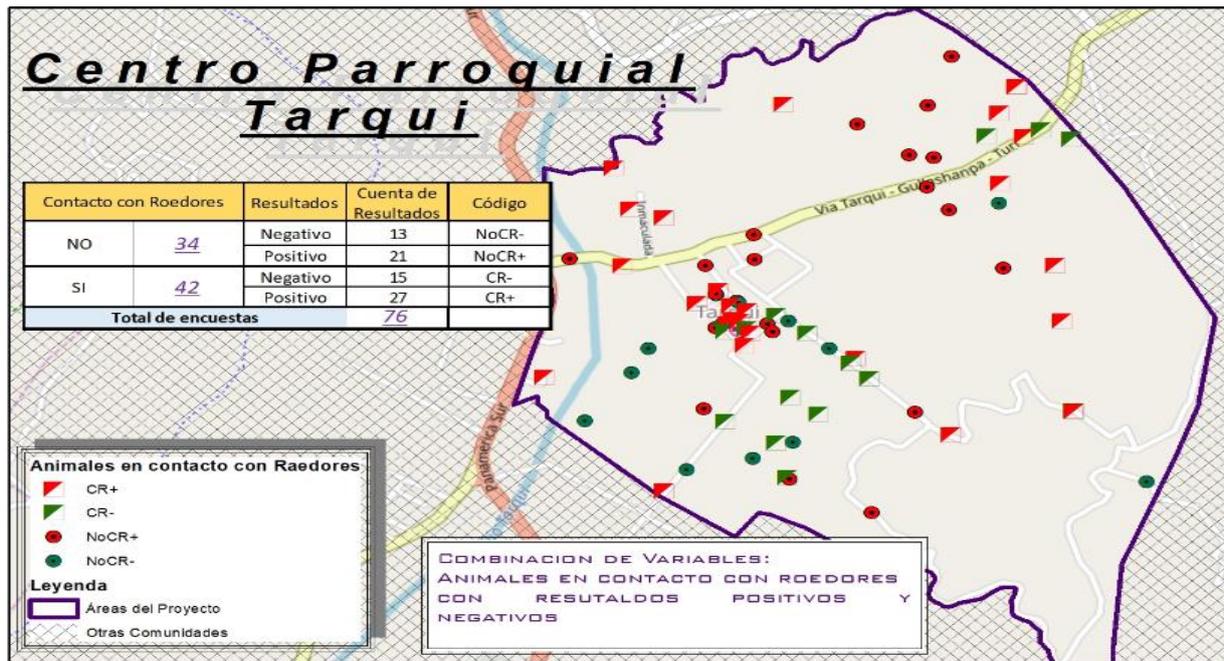


Figura 11. Análisis espacial de la comunidad Centro Parroquial Tarqui de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con roedores con el resultado de perros domicilios y haciendas

Fuente: (López, 2018)

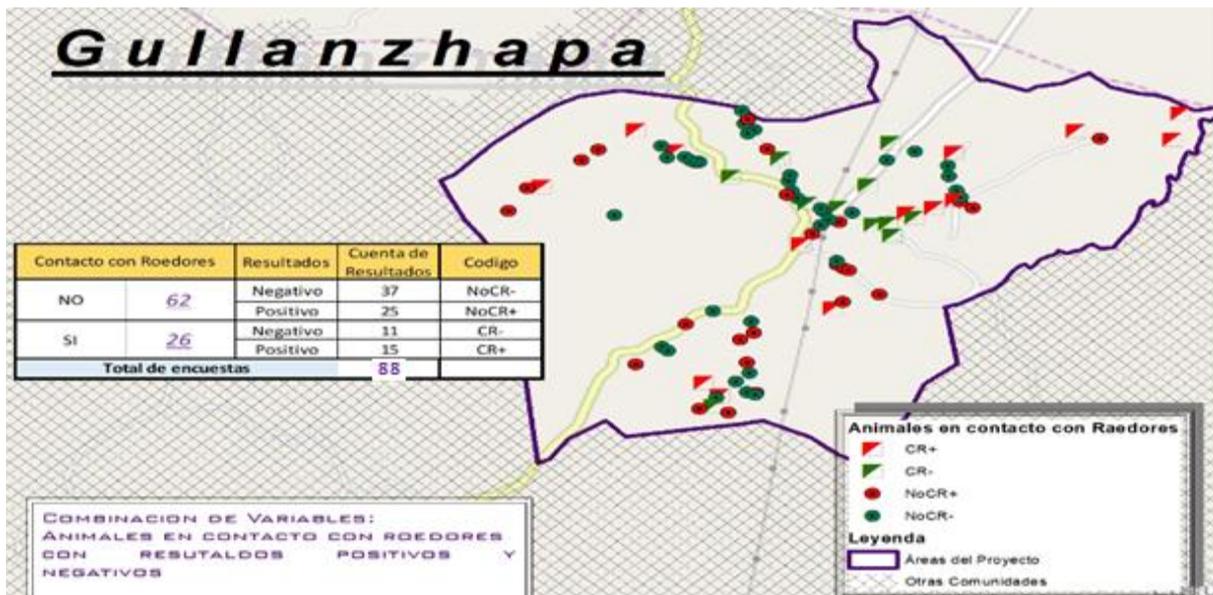


Figura 12. Análisis espacial de la comunidad Gullanzhapa de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con roedores con el resultado en perros de domicilios y haciendas

Fuente: (López, 2018)

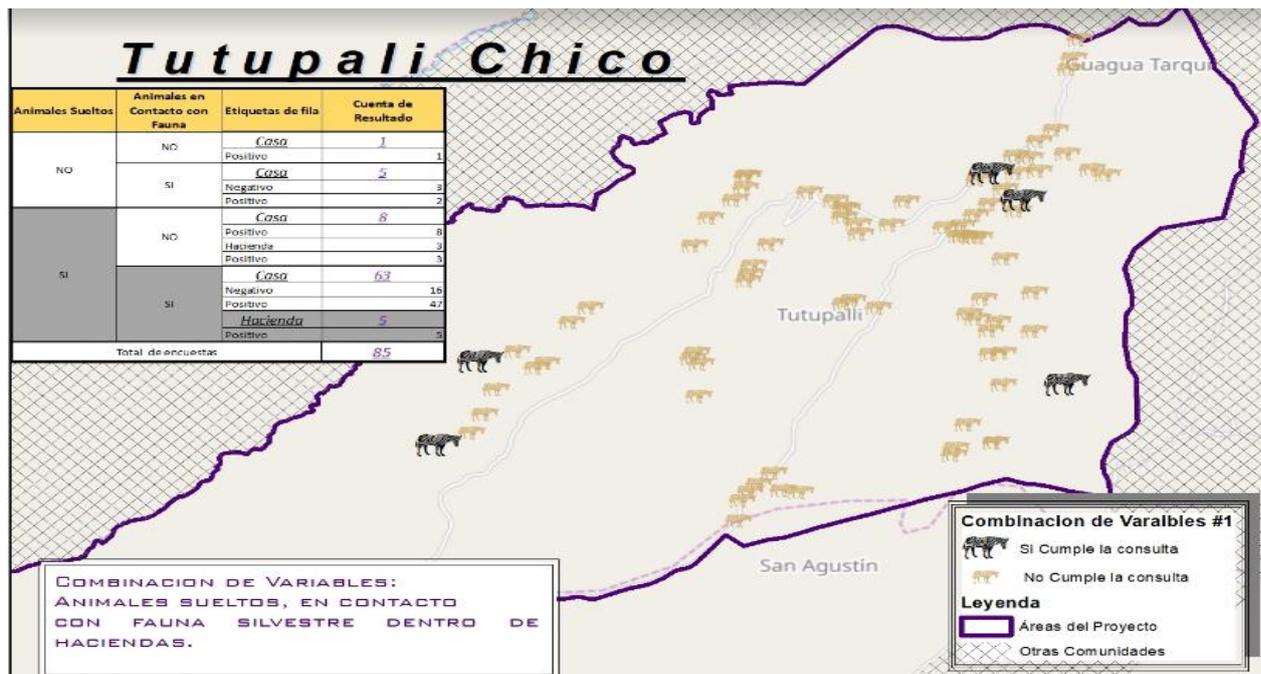


Figura 13. Análisis espacial de la comunidad Tutupali Chico de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con fauna silvestre con el resultado de perros de haciendas.

Fuente: (López, 2018)

El análisis espacial se tomó en cuenta solo a Tutupali Chico ya que en esta comunidad se hallan la mayoría de haciendas por lo que es representativo el gráfico a diferencia de las comunidades de Gullanzhapa que no existían haciendas y Centro Parroquial de Tarqui que existía una hacienda y por este motivo no es relevante. Ver Anexo 14 y15.



6.3 Tasa de prevalencia.

$$P = \frac{C}{N} \times 100$$

C= número de individuos afectados o positivos

N = número de individuos de un población total

$$P = \frac{154}{249} \times 100 = 61.84\%$$

Es decir, la tasa de prevalencia en esta población es igual a 6 perros infectados por cada 10 perros muestreados, en este estudio en la parroquia Tarqui un perro tiene el 61,8% de probabilidad que este infectado de algún serovar de *Leptospira*.

La prevalencia se obtuvo mediante un estudio epidemiológico observacional de tipo transversal con el uso de encuestas previas para determinar la población a ser estudiadas donde se obtuvo un valor de 61,8% (154/249) de casos positivo para uno o más serovares de *leptospira*.

Tabla 13. Prevalencia de leptospirosis en Gullanzhapa, Tutupali Chico y Centro parroquial de Tarqui.

Comunidad	No. positivos	Población	Prevalencia
Centro Parroquial	48	76	63.2 %
Gullanzhapa	40	88	45.5%
Tutupali Chico	66	85	77.6%

Fuente: (Chuva, 2018)

Para el 2018 la comunidad con mayor presencia de leptospirosis fue Tutupali Chico con 77.6 casos de cada 100 perros que habitan esta zona, mientras que la comunidad de Centro Parroquial Tarqui existe 63.2 casos positivos por cada 100 perros, siendo Gullanzhapa la comunidad que tiene la menor prevalencia con 45.5 casos en cada 100 perros que existen en esta zona



7. DISCUSIONES

En la presente investigación se tiene en cuenta los títulos mayores o iguales a 1/200 como reacciones positivas, no se tomó en cuenta los títulos 1/50 y 1/100 como reactores positivos a una titulación porque no tienen significación para la prueba de MAT, de las tres comunidades estudiadas se obtuvo un total de 61,8% de casos positivos correspondiente a 16 serovares en 154 sueros positivos. Estos resultados son mayores a los que se obtuvieron en estudios anteriores pero similares en estudios hechos en la actualidad en distintas ciudades de América

En un estudio realizado en la ciudad de Cuenca de los autores (Capozano & Carpio, 1999) encontraron una prevalencia de 3,1% de un total de 454 muestras procedentes de 14 parroquias urbanas, donde el serovar predominante fue, *hardjo* (1,1%) y *canicola* con (0,2%) encontrando un total de 7 serovares con una media de corte en el título de 1/100, dicho estudio se lo realizó en condiciones climáticas similares por lo que se puede asumir que la *leptospira* se ha incrementado y específicamente en zonas rurales de acuerdo a nuestro estudio con una prevalencia de 61.8% de 249 muestras siendo *L canicola* (10.2%) el serovar con mayor presencia

En un estudio similar realizado por (Rubel, Seijo, Cernigoi, Viale, & Wisnivesky-colli, 1997) en la ciudad de Buenos Aires, Argentina en una población canina suburbana de 223 perros el 57% fueron seropositivos a uno o varios serovares. En nuestra investigación de la parroquia de Tarqui de 249 perros muestreado se identificó 154 casos positivos que representa 61.8 % de sueros positivos encontrándose una similitud en los resultados obtenidos

En un estudio realizado por (Hernández, Carlos; Gaxiola, Zoila; Osuna, 2017), en 165 perros de Culiacan, Sinaloa de México en el cual se estudió la prevalencia de leptospirosis utilizando el método de MAT para la observación de los casos positivos, la Prevalencia de *leptospira* fue de 9% (15/165), se encontraron 7 serovares, siendo el de mayor presencia el serovar *L. canicola* con un 46% siendo los factores que influyeron la residencia permanente de la mascota en patios y la presencia de aguas almacenadas en recipientes y cuencas, encontrándose una similitud referente a el estudio presente donde se encontraron 16 serovares siendo el serovar de mayor presencia es al *L. Canicola* con un 25.7%(64/249) y los factores de



riego que influyeron para la presencia de la enfermedad fueron si el perro vive suelto a voluntad, el lugar y el tipo de vivienda.

En un estudio similar realizado por (Ramírez Victor, Camacho, Enríquez, & Ramírez, 2017) en 106 perros de Culiacán, Sinaloa de México, el cual determinó los serovares mediante la prueba de MAT para leptospirosis, al igual que los factores de riesgo mediante cuestionarios, se encontró que los perros que resultaron ser positivos el 76,56 % tenían acceso a la calle, mientras que los que no tenían acceso a la calle solo representaron un 29,44% de positivos demostrando que los perros que tenían acceso a la calle tenían un riesgo mayor de infectarse por *leptospira*. De esta manera se corrobora con uno de los factores de riesgo que encontramos en nuestro estudio, que los perros que viven sueltos a su voluntad el 65,7% son positivos.

En un estudio realizado por (Morales Muñoz, 2012) en las ciudades de Máfil y Puerto Montt de Chile en 260 perros muestreados que habitaban en predios lecheros se encontró una prevalencia de 8,1% de infectados y un 0,4% de sospechosos de infección, estos resultados contrastan con nuestro estudio que demostró que el 100% de haciendas lecheras son positivos a diferentes serovares, estas diferencias aparentes podrían explicarse debido a que los perros de las haciendas de nuestro estudio permanecían en contacto con diferentes animales de producción, fauna silvestre.

En un estudio de caso control realizado en la ciudad de Lima sobre los factores de riesgo para la presentación de la enfermedad de Leptospirosis Canina de los autores (Huerta, Chilón, & Díaz, 2013) donde analizaron datos de historias clínicas y resultados serológicos entre los años 2002 y 2007, se consideraron todos los pacientes que presentaban signos clínicos de enfermedad renal o hepática, que no fueron vacunados en los últimos 3 meses y que al análisis de MAT dieron títulos iguales o mayores a 1/400 en 54 perros estudiados donde se encontró los factores de riesgo asociado a la enfermedad fueron “sexo” (68.5% fue macho.), ” Tamaño” (41.8% fue grande) y “edad” (25.9% fueron perros mayores de 7 años), el serovar con mayor presencia fue *L canicola* con el 50 %, estos resultados se asemejan a los encontrados en nuestro estudio, como el serovar *L. canicola* 26 %, aunque difiere en la media de corte de los títulos puesto que en la parroquia Tarqui ya que se consideraron los títulos 1/200.



En otro estudio realizado en las parroquias de Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete del cantón Cuenca en Bovinos de los autores (Chicaiza & Crespo, 1988) identificaron solo en la parroquia Tarqui de 127 animales se identificó una prevalencia del 27%, siendo la de mayor presencia *L. Sejroe*, *L. Hardjo*, *L. Wolfi*, este estudio es importante ya que los perros son reservorios naturales y en nuestro estudio se encontraron serovares correspondientes a otra especie (*L. grippotyphosa* 22 %).

En un estudio que realizaron (Rojas Hoyos et al., 2017) en el municipio de Boyeros de La Habana, Cuba sobre prevalencia de anticuerpos a diferentes serovares de *Leptospirosis interrogans* en 160 perros mayores de un año donde se consideró positivos los sueros que reaccionaron a partir de 1/100, donde se encontró que la prevalencia fue de 63.1% (101/160) y el serovar de mayor presencia fue *L. icterohaemorrhagiae* con 58,8 % (94/160), seguido de *L. canicola* con 47,5 % (76/160), que son datos que coincide ampliamente con nuestro estudio indicando que la leptospirosis canina está ampliamente distribuida. Existiendo una prevalencia del 61.8 % con el serovar de mayor presencia *L canicola* 26 % (64/249)



8. CONCLUSIONES

En el presente estudio se caracterizó la seroepidemiología y los factores de riesgo para la leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de Tutupalichico, Gullanzhapa y Centro Parroquial a través de análisis espacial, tamizado y prueba de aglutinación microscópica para conocer la propagación potencial de la mencionada enfermedad en la cual se obtuvo resultado que demuestran que las tres comunidades presentan una alta prevalencia de leptospirosis tanto en haciendas como en los domicilios.

De los 18 serovares presentes en el laboratorio de Bacteriología del INSPI de la ciudad de Guayaquil, se encontraron 16 serovares que fueron positivos a la técnica MAT provenientes de muestras de suero sanguíneo de 249 perros muestreados de la parroquia Tarqui siendo la más frecuente la *L. canicola* con 64 casos (10.5%)

De 249 perros estudiados en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarqui dan como resultado que el 61.8% es positivo es decir que presenta antígenos a algún serovar de *leptospira*, mientras que el 38.2% dio negativo.

Los factores de riesgo asociados a la infección de leptospirosis canina fueron el modo de vida (“suelos a voluntad”), el tipo de residencia (“haciendas o domicilios”) y la comunidad donde vive (“lugar”).

En el análisis espacial se graficaron mapas donde se indica los casos positivos a leptospirosis y los factores que estuvieron asociados al contagio y distribución de la leptospirosis como la fauna silvestre y la presencia de roedores.

La tasa de prevalencia en las tres comunidades de la Parroquia Tarqui en el 2018 es igual 61.8%



9. RECOMENDACIONES

Se recomienda que de parte de entidades públicas o privadas den énfasis a la concientización en cuanto a la enfermedad para que se realice la inmunización en los perros y así controlar de alguna manera y no sea perjudicial para el resto de habitantes de las zonas que se estudio

Ampliar el estudio en todas las parroquias urbanas de Cuenca para tener datos específicos sobre la enfermedad para establecer como es la propagación real ya que ultimamente se ha venido dando más casos positivos sin importar el lugar como climas fríos, ya que antes se creía que la enfermedad era de climas cálidos.

Realizar estudios de prevalencia de tal manera que sepamos con números exactos cuántos casos nuevos hay y estimar como se distribuye la enfermedad para establecer controles epidemiológicos en zonas con mayor riesgo de la enfermedad.

Se recomienda a las instituciones públicas y privadas realizar estudios sobre leptospirosis en humanos ya que la bacteria se encuentra ampliamente distribuida en perros por lo que su estudio en la especie humana es importante para saber si la bacteria está presente en las personas puesto que es una enfermedad zoonótica.

Realizar un estudio donde se abarque *leptospiras* de otras especies domésticas y de producción, ya que se encontraron cepas en perros correspondientes a especies domésticas y de producción como bovinos y porcinos ya que afecta directamente en la productividad de estas especies.



10. Bibliografía

- Ayral, F., Bicout, D., Pereira, H., Artois, M., & Kodjo, A. (2014). Short Report: Distribution of *Leptospira* Serogroups in Cattle Herds and Dogs in France. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 91(4), 756-759.
- Azócar-Aedo, L., Smits, H., & Monti, G. (2014). Leptospirosis in dogs and cats: Epidemiology, clinical disease, zoonotic implications and prevention. *Arch Med Vet*, 46, 337-348.
- Bier, D. (2012a). *Distribuição Espacial e Fatores de Risco para Leptospirose Canina na Vila Pantanal, Curitiba, Paraná, Brasil*. (Tese Mestre em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Bier, D., Toledo, F., Midori, V., Ullmann, S., Kikuti, M., Langoni, H.,...Beltrão, M. (2012b). Spatial Distribution of Seropositive Dogs to *Leptospira* spp., and Evaluation of Leptospirosis Risk Factors Using a Decision Tree. *Acta Scientiae Veterinariae*, 40(3), 1-7. Bradley, M., Kutz, S., Jenkins, E., & O'Hara, T. (2005). The potential impact of climate change on infectious diseases of Arctic fauna. *International Journal of Circumpolar Health*, 64(5), 468-477.
- Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Morse, S., & Mietzner, T. (2013). *Medical Microbiology* (TwentySixth ed.). New York: McGraw-Hill.
- Capozano, B., & Carpio, F. (1999). *Prevalencia de Leptospirosis canina en la ciudad de Cuenca por el metodo de microagluticación*. Cuenca
- Celemín, J. (2010). *Autocorrelación espacial e indicadores locales de asociación espacial. Importancia, estructura y aplicación*. Mar del Plata:
- Chicaiza, R., & Crespo, F. (1988). Prevalencia de Leptospirosis Bovina en las Parroquias de Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete del Canton Cuenca. Cuenca.
- Chiriboga, J., Barragan, V., Arroyo, G., Sosa, A., Birdsell, D., España, K., . . . Trueba, G. (2015). High Prevalence of Intermediate *Leptospira* spp. DNA in Febrile Humans from Urban and Rural Ecuador. *Emerging Infectious Diseases*, 21(12), 1-7.
- Cuéllar, A. (sf). *Spatial Analysis Applied to Epidemiology: Seminar Final Report*.
- Dhama, K., Verma, A., Tiwari, R., Chakraborty, S., Vora, K., Kapoor, S., . . . Natesan, S. (2013). A perspective on applications of geographical information system (GIS); and



- advanced tracking tool for disease surveillance and monitoring in veterinary epidemiology. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 1(1), 14-24.
- DREYER, M. S. (1956). Enfermedades infecciosas. *Prensa Médica Argentina*, 43(44), 3284–3302.
- Druck, S., Carvalho, S., Câmara, G., & Monteiro, A. (2005). Análise Espacial de Dados Geográficos. *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro*, 21(4), 1292-1298.
- Ellis, W. (2015). Animal Leptospirosis. In B. Adler (Ed.), *Leptospira and Leptospirosis* (Vol. 387, pp. 99-137). Melbourne: Springer.
- Ferreira, M., & Abiko, A. (2016). Neighborhood impact assessments using numerical matrices. *Ambiente Construído, Porto Alegre*, 16(3), 23-38.
- Fontaine, A. (2013). Diagnosis algorithm for leptospirosis in dogs: disease and vaccination effects on the serological results. *Veterinary Record*, 1-5.
- Ford, R., & Litster, A. (2016). Infectious diseases. In M. Schaer & F. Gaschen (Eds.), *Clinical Medicine of the Dog and Cat* (3rd ed., pp. 909-915). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Gobierno Parroquial de Tarqui. (2010). Obtenido de <https://docplayer.es/31143604-Gobierno-autonomo-descentralizado-parroquial-de-tarqui.html>
- Ghneim, G., Viers, J., Chomel, B., Kass, P., Descollonges, D., & Johnson, M. (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.
- Goarant, C. (2016). Leptospirosis: Risk factors and management challenges in developing countries. *Research and Reports in tropical Medicine*, 2016(7), 29-62.
- Greene, C., Sykes, J., Moore, G., Goldstein, R., & Schultz, R. (2012). Leptospirosis. In C. Greene (Ed.), *Infectious Diseases of the dog and cat* (Fourth ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Guernier, V., Richard, V., Nhan, T., Rouault, E., Tessier, A., & Musso, D. (2017). Leptospira diversity in animals and humans in Tahiti, French Polynesia. *PLoS Negl Trop Dis*, 11(6), 1-16.
- Hernández, Carlos; Gaxiola, Zoila; Osuna, I. (2017). Veterinaria México OA Prevalence and risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs, 4(2).



<https://doi.org/10.21753/vmoa.4.2.369>

- Hookey, J. V. (1991a). *Leptospira* and leptospirosis. *Journal of Biological Education*, 25(3), 169–172. <https://doi.org/10.1080/00219266.1991.9655201>
- 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(1), 111-117.
- Kikuti, M., Langoni, H., Nobrega, D., Corrêa, A., & Ullmann, L. (2012). Occurrence and Risk factors associated with canine leptospirosis. *J Venom Anim Toxins incl. Trop Dis*, 18(1), 124-127
- Kim, M. (2013). Leptospirosis in the Republic of Korea: Historical Perspectives, Current Status and Future Challenges. *Infect Chemother*, 45(2), 137-144.
- Lau, S., Low, K., Khor, K., Roslan, M., Bejo, S., Radzi, R., & Bahaman, A. (2016). Prevalence of leptospirosis in healthy dogs and dogs with kidney disease in Klang Valley, Malaysia. *Tropical Biomedicine*, 33(3), 469–475.
- Lee, H., Guptill, L., Johnson, A., & Moore, G. (2014). Signalment Changes in Canine Leptospirosis between 1970 and 2009. *J Vet Intern Med*, 28, 294–299.
- Lefebvre, R. (2013). Spiral-Curved Organisms V: *Leptospira*. In S. McVey, M. Kennedy, & M. Chengappa (Eds.), *Veterinary Microbiology* (Third ed., pp. 180): Wiley BlackWell.
- López, F., & Palacios, A. (2000). *Distintos modelos de dependencia espacial. Análisis de autocorrelación*. Oviedo: Universidad de Oviedo. Anales de Economía Aplicada: Comunicaciones XIV Reunión.
- Major, A., Schweighauser, A., & Francey, T. (2014). Increasing Incidence of Canine Leptospirosis in Switzerland. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11, 7242-7260.
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., & Maguire, D. 2013. *Clinical Veterinary Microbiology*. China: MOSBY ELSEVIER.
- Martin, W., Meek, A., & Willeberg, P. (1987). *Chapter 9: Animal Health Economics*. Ames: Iowa State University Press.



- Martínez, I., Alpizar, E., Gavaldón, D., Moles, L., Gutiérrez, M., García, R., . . . Fernández, A. (2016). Canine Leptospirosis Serology in Southern Mexico City. *Scientific Research Publishing*, 6, 171-180.
- Mayer, A., Luge, E., Draeger, A., Nöckler, K., & Kohn, B. (2013). Distribution of Leptospira Serogroups in Dogs from Berlin, Germany. *VECTOR-BORNE AND ZOONOTIC DISEASES*, 13(3), 200-202.
- Meeyam, T., Tablerk, P., Petchanok, B., Pichpol, D., & Padungtod, P. (2006). Seroprevalence and Risk Factors Associated with Leptospirosis in Dogs. *Southeast Asian J. Tro. Med. Public Health*, 37(1), 148-153.
- Mora, R., Céspedes, M., Pérez, J., & Pérez, R. (Junio 2015.). *The Kernel Density Estimation for the visualization of Spatial Patterns in Urban Studies*. Paper presented at the Conferencia: 15th International Multidisciplinary Scientific GeoConferences SGEM2015, University of Alicante, Spain.
- Morales Muñoz, A. C. (2012). Prevalencia de leptospirosis en perros y gatos de predios lecheros del sur de Chile.
- Moore, G., Guptill, L., Glickman, N., Caldanaro, R., Aucoin, D., & Glickman, L. (2006). Canine Leptospirosis, United States, 2002–2004. *Emerging Infectious Diseases*, 12(3), 501-503.
- Moreno, O., Trujillo, C., Maia, C., & Torres, J. (2015). Diagnóstico y monitoreo de leptospirosis en Latinoamérica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6(2), 8596.
- Patel, A., & Waters, N. (2012). Using Geographic Information Systems for Health Research. In B. Monwar (Ed.), *Application of Geographic Information Systems*: Intech.
- Petrakovsky, J., Bianchi, A., Fisun, H., Nájera, P., & Pereira, M. (2014). Animal Leptospirosis in Latin America and the Caribbean Countries: Reported Outbreaks and Literature Review (2002–2014). *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11, 10770-10789.
- Pieracci, E., Hall, A., Gharpure, R., Haile, A., Walelign, E., Deressa, A., . . . Belay, E. (2016). Prioritizing zoonotic diseases in Ethiopia using a one health approach. *Elsevier*, 131135.



- Quinn, P., Markey, B., Leonard, F., & Hartigan, P. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (Second ed.). Ames: Wiley-BlackWell.
- Quinn, P., Markey, B., Leonard, F., Fitzpatrick, E., & Fanning, S. 2016. *Concise Review of Veterinary Microbiology*. Ames: Wiley-Blackwell.
- Raghavan, R., Brenner, K., Higgins, J., Shawn, J., & Harkin, K. (2012). Neighborhood-level socioeconomic and urban land use risk factors of canine leptospirosis: 94 cases (2002– 2009). *Preventive Veterinary Medicine*, 106, 324-331.
- Ramírez Victor, C. H., Camacho, M. G., Enríquez, I., & Ramírez, I. O. (2017). Prevalence and risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs , related human seropositive, 6(2), 275–279. <https://doi.org/10.15406/jdvar.2017.06.00174>
- Revich, B., Tokarevich, N., & Parkinson, A. (2012). Climate change and zoonotic infections in the Russian Arctic. *International Journal of Circumpolar Health*, 71(1), 1-8.
- Rijks, J., Cito, F., Cunningham, A., Rantsios, A., & Giovannini, A. (2016). Disease Risk Assessments Involving Companion Animals: an Overview for 15 Selected Pathogens Taking a European Perspective. *J Comp Path*, 155, S75-S97.
- Rodrigues, T., Carvalho, E., Isaac, L., & Silva, A. (2015). *Leptospira* and Leptospirosis. In Y. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartzman (Eds.), *Molecular Medical Microbiology* (Second ed., Vol. I, pp. 1973-1990). San Diego: Elsevier.
- Rodríguez, A., & Delgado, C. (2012). Impact of Climate Change on Zoonotic Diseases in Latin America. In W. o. Science (Ed.), *Human and Social Dimensions of Climate Change* (pp. 265-286). Rijeka, Croatia: Intech.
- Rodriguez-Morales, A., & Castañeda-Hernandez, D. (2014). *Espirochetes*, 2, 189–193. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00131-1>.
- Rojas, N., Álvarez, M., Rodríguez, D., Torres, M., Cuba, Y., & Gainza, N. (2017). Prevalencia de anticuerpos a diferentes serovares de *Leptospira interrogans* en caninos del municipio Boyeros, La Habana, Cuba. *Rev. Salud Anim*, 39(1), 35-42.
- Romero, M. H., Astudillo, M., & Lucio, I. D. (2018). Evidencia serológica de leptospirosis canina en la comunidad indígena Kamentsá , Putumayo , Colombia, 29(2), 625–634.
- Romero-vivas, C. M., & Falconar, A. K. (2016). *Leptospira spp .* and human leptospirosis, 32(5), 123–143



- Rubel, D., Seijo, A., Cernigoi, B., Viale, A., & Wisnivesky-colli, C. (1997). *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires : variables asociadas con la seropositividad 1, 2(2), 102–106.
- Saegerman, C., Speybroeck, N., Roels, S., Vanopdenbosch, E., Thiry, E., & Berkvens, D. (2004). Decision Support Tools for Clinical Diagnosis of Disease in Cows with Suspected Bovine Spongiform Encephalopathy. *J. CLIN. MICROBIOL.*, 42(1), 1–72178.
- Samir, A., Soliman, R., El-Hariri, M., Abdel-Moein, K., & Essam-Hatem, M. (2015). Leptospirosis in animals and human contacts in Egypt: broad range surveillance. *Rev Soc Bras Med Trop*, 48(3), 272-277.
- Sánchez-Pedraza, R., Gamboa, O., & Díaz, J. (2008). Modelos empleados para la Toma de Decisiones en el Cuidado de la Salud. *Rev salud pública*, 10(1), 178-188
- Sathiyamoorthy, A., Selvaraju, G., Palanivel, K., & Srinivasan, P. (2017). Seroprevalence of Canine Leptospirosis in Namakkal, Tamil Nadu by Microscopic Agglutination Test. *J. Cell Tissue Research*, 17(1), 5991-5996.
- Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J., & Sykes, J. (2015). European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 56, 159-179.
- Shi, D., Liu, M., Guo, S., Liao, S., Sun, M., Liu, J., . . . Chai, T. (2012). Serological Survey of Canine Leptospirosis in Southern China. *Pak Vet J*, 32(2), 280-282.
- Silva, R. F., & Riedemann, S. (2007). Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 39(3), 269–274. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2007000300011>
- Siuce, J., Calle, S., Pinto, C., Pacheco, G., & Salvatierra, G. (2015). Identificación de Serogrupos Patógenos de *Leptospira* en Canes Domésticos. *Rev Inv Vet Perú*, 26(4), 664-675.
- Smith, R., & Slenning, B. (2000). Decision analysis: dealing with uncertainty in diagnostic testing. *Preventive Veterinary Medicine*, 45, 139-162.



- Soler, Y., Cárdenas, M., Aguirre, R., Ramírez, W., & Flores, A. (2017). Vigilancia epidemiológica asistida por los Sistemas de Información Geográfica. *REDVET*, 18(6), 1-14.
- Štritof, Z., Habuš, J., Milas, Z., Mojčec, V., Starešina, V., & Turk, N. (2012). Serological survey of canine leptospirosis in Croatia-the changing epizootiology of the disease. *Vet arhiv*, 82(2), 183-191.
- Suepaul, S., Carrington, C., Campbell, M., Borde, G., & Adesiyun, A. (2014). Seroepidemiology of leptospirosis in dogs and rats in Trinidad. *Tropical Biomedicine*, 31(4), 853-861.
- Suice M., J., Calle E., S., Pinto J., C. E., Pacheco S., G., & Salvatierra R., G. (2015). Identification of pathogenic leptospira serogroups in domestic dogs. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 26(4), 664–675. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i4.11221>
- Sykes, J., Hartmann, K., Lunn, K., Moore, G., Stoddard, R., & Goldstein, R. (2011). Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. *J Vet Intern Med*, 25, 1-13.
- Tuemmers, C., Lüders, C., Rojas, C., Serri, M., Espinoza, R., & Castillo, C. (2013). Prevalencia de leptospirosis en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, 2011. *Rev Chilena Infectol*, 30(3), 252-257.
- Veltrini, U., & Langoni, H. (2012). Geographic analysis on the occurrence of human and canine leptospirosis in the City of Maringá, State of Paraná, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 45(1), 100-105.
- Vinodh, O., Sinha, D., & Singh, B. (2016). Use of Geographic information system (GIS) in Veterinary Science. In S. Narain & S. Kumar (Eds.), *Innovative Technology for Sustainable Agriculture Development* (pp. 471-486). New Delhi: Biotech Books,.
- White, A., Zambrana, C., Allen, T., Rostal, M., Wright, A., Ball, E., . . . Karesh, W. (2017). Hotspots of canine leptospirosis in the United States of America. *The Veterinary Journal*, 222, 29-35.
- Zunino Martini, E., & Pizarro P., R. (2007). Leptospirosis. A literature review . *Leptospirosis. Puesta Al Día*, 24(3), 220–226. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-34250380046&partnerID=40&md5=b92ba3ce19b3364b7e1978a448ccd050>.

11. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de encuestas para estimar la población de perros a estudiar en domicilios

☒ **Población de caninos en la Parroquia Tarqui, por Domicilio**

Lugar	Tipología de Domicilios: Residencias, Establecimientos comerciales, Establecimientos industriales, Refugios.	Nombre del Propietario y Dirección	Cachorros				Adultos				TOTAL
			Machos	Edad meses	Hembras	Edad meses	Machos	Edad años	Hembras	Edad años	
Domicilio 1											
Domicilio 2											
Domicilio 3											
Domicilio 4											
Domicilio 5											
Domicilio 6											
Domicilio 7											
Domicilio 8											
TOTAL											

Fuente: Chuva, 2018

Anexo 2. Hoja de encuestas para estimar la población de perros a estudiar en haciendas

☒ **Población de caninos en la Parroquia Tarqui, por hacienda**

Lugar	Tipología de Haciendas: Grandes, Medianas y Pequeñas	Nombre del Propietario y Dirección Tarqui Centro	Cachorros				Adultos				TOTAL
			Machos	Edad	Hembras	Edad	Machos	Edad	Hembras	Edad	
Hacien a 1											
Hacien a 2											
Hacien a 3											
Hacien a 4											
Hacien a 5											
Hacien a 6											
Hacien a 8											
TOTAL											

Fuente: Chuva, 2018

Anexo 3. Población de caninos en haciendas.**POBLACIÓN DE CANINOS****EN HACIENDAS.****COMUNIDAD TUTUPALI CHICO DE LA PARROQUIA TARQUÍ.**

Perros por hacienda	
Clasificación	Número
Cachorros machos	1
Cachorros hembras	2
Adultos machos	15
Adultos hembras	3
TOTAL	21

COMUNIDAD CENTRO PARROQUIAL DE LA PARROQUIA TARQUÍ.

Perros por hacienda	
Clasificación	Número
Cachorros machos	0
Cachorros hembras	0
Adultos machos	1
Adultos hembras	1
TOTAL	2

Fuente: (Chuva, 2018)

Anexo 4. Población de caninos domicilios.**POBLACIÓN DE CANINOS****EN DOMICILIOS****COMUNIDAD CENTRO PARROQUIAL DE LA PARROQUIA TARQUI**

Perros por domicilio	
Clasificación	Número
Cachorros machos	38
Cachorros hembras	14
Adultos machos	137
Adultos hembras	30
TOTAL	219

COMUNIDAD TUTUPALI CHICO DE LA PARROQUIA TARQUI

Perros por domicilio	
Clasificación	Número
Cachorros machos	30
Cachorros hembras	10
Adultos machos	136
Adultos hembras	41
TOTAL	217

COMUNIDAD GULLANZHAPA DE LA PARROQUIA TARQUI

Perros por domicilio	
Clasificación	Número
Cachorros machos	21
Cachorros hembras	11
Adultos machos	155
Adultos hembras	60
TOTAL	247

Fuente: (Yunga, 2018)

Anexo 5. Tamaño de muestra

TAMAÑO DE LA MUESTRA

$$n = \frac{N * Z^2 * P (1 - P)}{(N * e^2) + (Z^2 * P * (1-P))}$$

$$N = 706$$

$$Z^2 = (1,96)^2$$

$P = 0,5$ porque se desconoce la probabilidad de acierto

$$e = 0,05$$

$$n = \frac{706 * 3,8416 * 0,5 (1-0,5)}{(706 * 0,0025) + (3,8416 * 0,25)} = 249$$

$$n = 249$$

Anexo 6. Muestreo Aleatorio estratificado.

MUESTREO ALEATORIO ESTRATIFICADO

N = 706

n = 249

ESTRATO	CLASIFICACIÓN	NÚMERO	PROPORCIÓN POR ESTRATO	MUESTRA PROPORCIONAL
1	Cachorros machos	90	0,127	$249 \times 0,127 = 32$
2	Cachorros hembras	37	0,052	$249 \times 0,052 = 13$
3	Adultos machos	444	0,629	$249 \times 0,629 = 156$
4	Adultos hembras	135	0,191	$249 \times 0,191 = 48$
TOTAL		706	1	

Fuente: (Yunga, 2018)



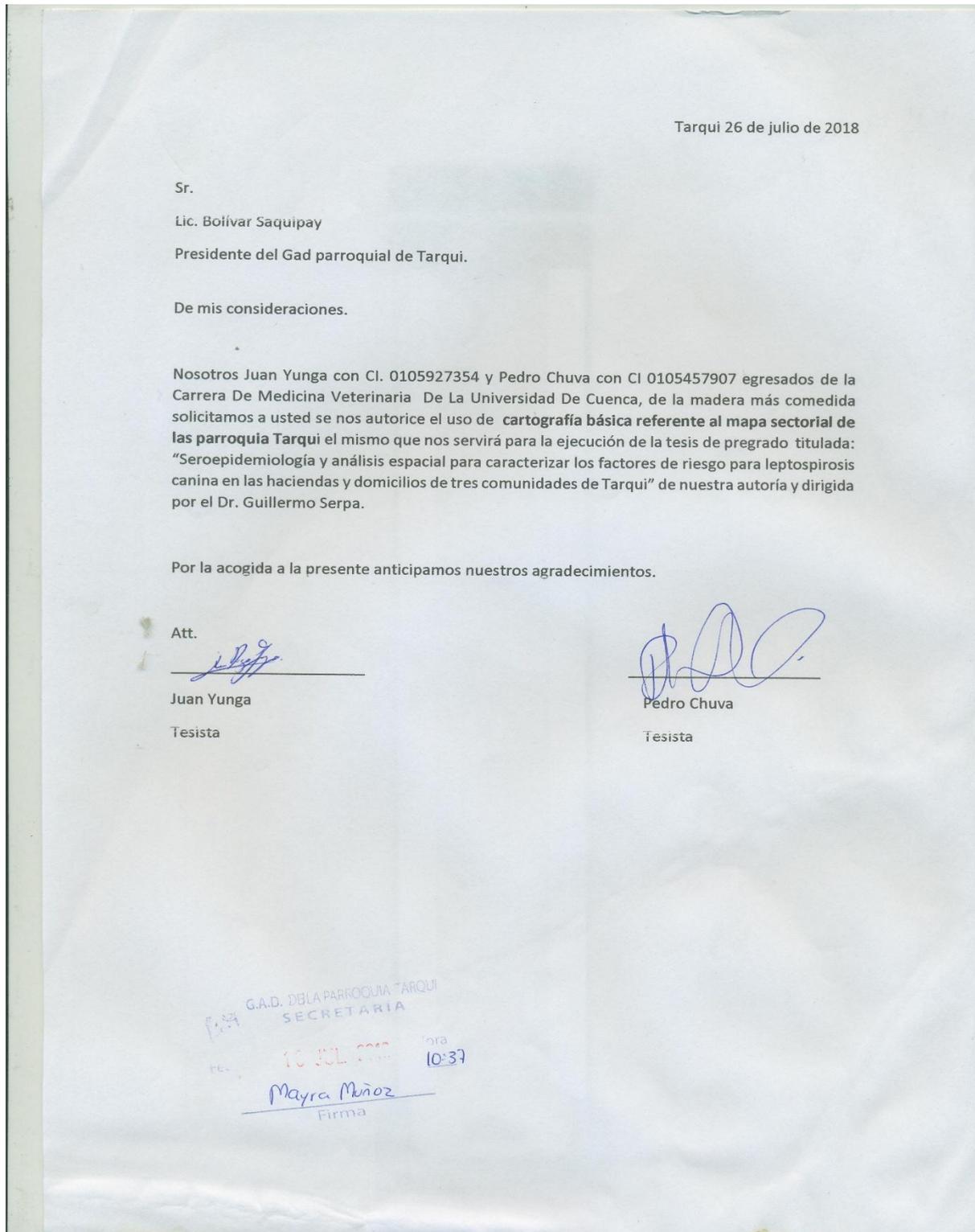
Anexo 7. Oficio dirigido al presidente del GAD Tarqui para poder realizar el presente estudio de Tesis.



Fuente: (Chuva, 2018)



Anexo 8. Oficio dirigido al Presidente del GAD Tarqui para la obtención de cartografía básica de la parroquia.



Fuente: (Yunga, 2018)



Anexo 9. Cronograma de actividades realizadas en laboratorio del INSPI de la ciudad de Guayaquil.

LABORATORIO DE ZONOSIS,

Memorando Nro. INSPI-DTLVERN-LZ-2018-0023-M

Guayaquil, 04 de septiembre de 2018

PARA: Sr. MVz. Emilio Paul Ochoa Mejía, Tsp. Responsable del Centro de Referencia Nacional de Zoonosis CZ6-INSPI "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez"

ASUNTO: Solicitud fecha de inicio fase laboratorial - Tesis pregrado Leptospira

De mi consideración:

Reciba un cordial saludo, en relación al memorando de referencia INSPI-CZ6-GVERN-CRZ-2018-0132-M, en la que se indica ... en relación a la tesis de pre grado titulada "Seroepidemiología y análisis espacial para caracterizar los factores de riesgo para leptospirosis canina en las haciendas y domicilios de tres comunidades de Tarqui", de los estudiantes Pedro Chuva Castillo y Juan Yunga Bacuilima de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Cuenca, la cual fue aprobada con fecha 22 de Junio del 2018, a través del Memorando Nro. INSPI-CZ6-GVERN-CRZ-2018-0079-M.

Con estos antecedentes, me permito solicitar de la manera más comedida la planificación de una fecha para que denominados estudiantes se trasladen a los laboratorios de Zoonosis de la ciudad de Guayaquil y con asesoría del técnico a fin continúen con su trabajo de pre grado, con la finalidad de continuar con las fases planteadas en la investigación.

Debo indicar a usted que se trabajará en la semana de manera continua a partir del 11 de septiembre del presente:

Semana de trabajo	Total de muestras analizadas
Del 11 al 13/septiembre	60 muestras
Del 18 al 20/septiembre	70 muestras
Del 25 al 27/septiembre	70 muestras

Cronograma que pongo a su conocimiento a fin de que no se interrumpan las actividades de vigilancia, la analista encargada del acompañamiento de la tesis será la Q.F. Luisa De la Cruz.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Fuente: (Chuva, 2018)

Anexo 10. Certificado de elaboración de la fase práctica otorgado por el INSPI.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA INSPI
DR. LEOPOLDO IZQUIETA PÉREZ

COORDINACIÓN ZONAL 6 INSPI

Cuenca, 25 de enero de 2019

Yo, Dra. María Cristina Pacurucu, Coordinadora Zonal 6-INSPI "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez" (E)

CERTIFICO

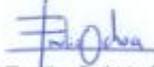
Que el Sr. **JUAN DIEGO YUNGA BACUILIMA** con CI.0105927354, realizó la Fase Práctica de la tesis "SEROEPIDEMIOLOGÍA Y ANÁLISIS ESPACIAL PARA CARACTERIZAR LOS FACTORES DE RIESGO PARA LEPTOSPIROSIS CANINA EN LAS HACIENDAS Y DOMICILIOS DE TRES COMUNIDADES DE TARQUI" en los laboratorios de Zoonosis de la Coordinación Zonal 6 y Sede Central del INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA INSPI "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez".

Se expide el presente certificado a petición del interesado, para los fines pertinentes.

Atentamente


Dra. María Cristina Pacurucu
COORDINADORA ZONAL 6 (E)


COORDINACIÓN ZONAL 6 - INSPI (E)


Mz. Emilio Ochoa Mejía, Esp.
RESPONSABLE DEL CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL DE ZONOSIS - CZ6-INSPI "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez"

Av. Huayra Cápac T-212
Teléfono: 0741082982 - 0741082993 - 07419006
www.inspi.gub.ve

Fuente: (Yunga, 2018)

Pedro Esteban Chuva Castillo
Juan Diego Yunga Bacuilima

Anexo 11. Certificado de elaboración de la fase práctica otorgado por el INSPI.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA INSPI
DR. LEOPOLDO IZQUIETA PÉREZ

COORDINACIÓN ZONAL 6 INSPI

Cuenca, 25 de enero de 2019

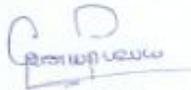
Yo, Dra. María Cristina Pacurucu, Coordinadora Zonal 6-INSPI "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez" (E)

CERTIFICO

Que el Sr. PEDRO ESTEBAN CHUVA CASTILLO con CI.0105457907, realizó la Fase Práctica de la tesis "SEROEPIDEMIOLOGÍA Y ANÁLISIS ESPACIAL PARA CARACTERIZAR LOS FACTORES DE RIESGO PARA LEPTOSPIROSIS CANINA EN LAS HACIENDAS Y DOMICILIOS DE TRES COMUNIDADES DE TARQUI" en los laboratorios de Zoonosis de la Coordinación Zonal 6 y Sede Central del INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA INSPI "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez".

Se expide el presente certificado a petición del interesado, para los fines pertinentes.

Atentamente


Dra. María Cristina Pacurucu
COORDINADORA ZONAL 6 (E)


Mz. Emilio Ochoa Mejía, Esp.
RESPONSABLE DEL CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL DE ZONOSIS - CZ6-INSPI "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez"

Av. Ruzena Cajas 3-212
Teléfono: 074108202 - 074108203 - 074108205
www.investigacionen salud.gub.ec

Fuente: (Chuva, 2018)

Pedro Esteban Chuva Castillo
Juan Diego Yunga Bacuilima

Anexo 12. Elaboración de encuestas



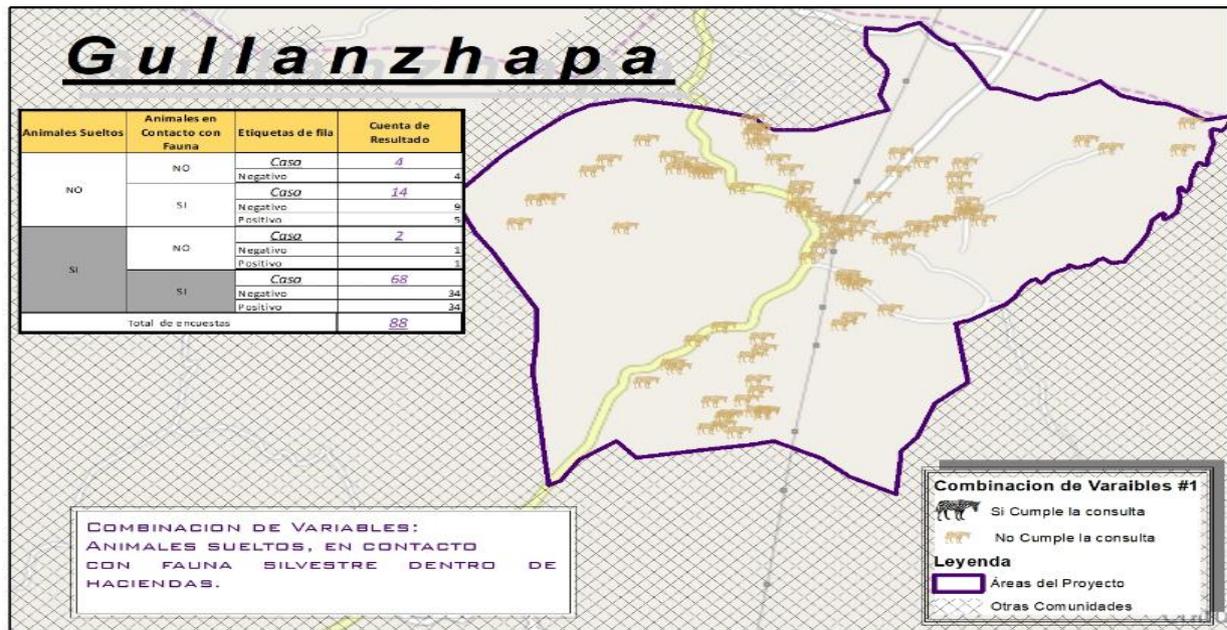
Fuente: (Chuva, 2018)

Anexo 13. Personal técnico de INSPI Guayaquil.



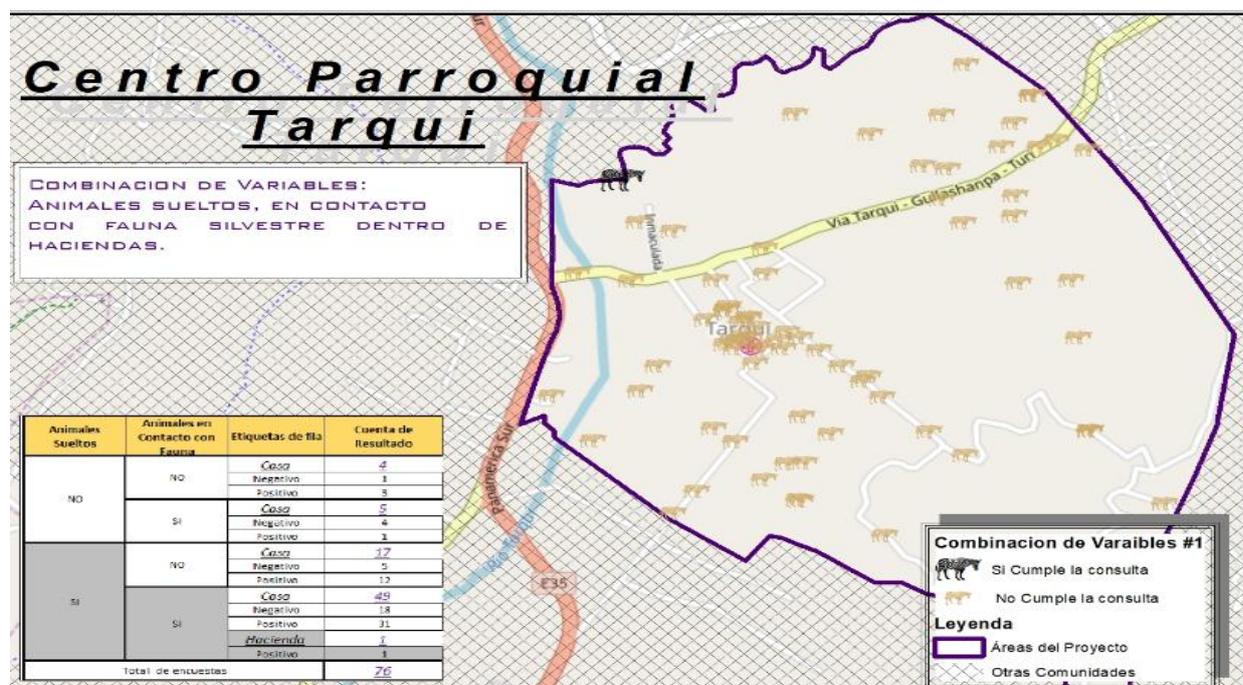
Fuente: (Chuva, 2018)

Anexo 14. Análisis espacial de la comunidad Gullanzhapa de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con fauna silvestre con el resultado de perros de haciendas.



Fuente: (López, 2018)

Anexo 15. Análisis espacial de la comunidad Centro parroquial de la parroquia Tarqui mostrando una relación de las variables: animales en contacto con fauna silvestre con el resultado de perros de haciendas.



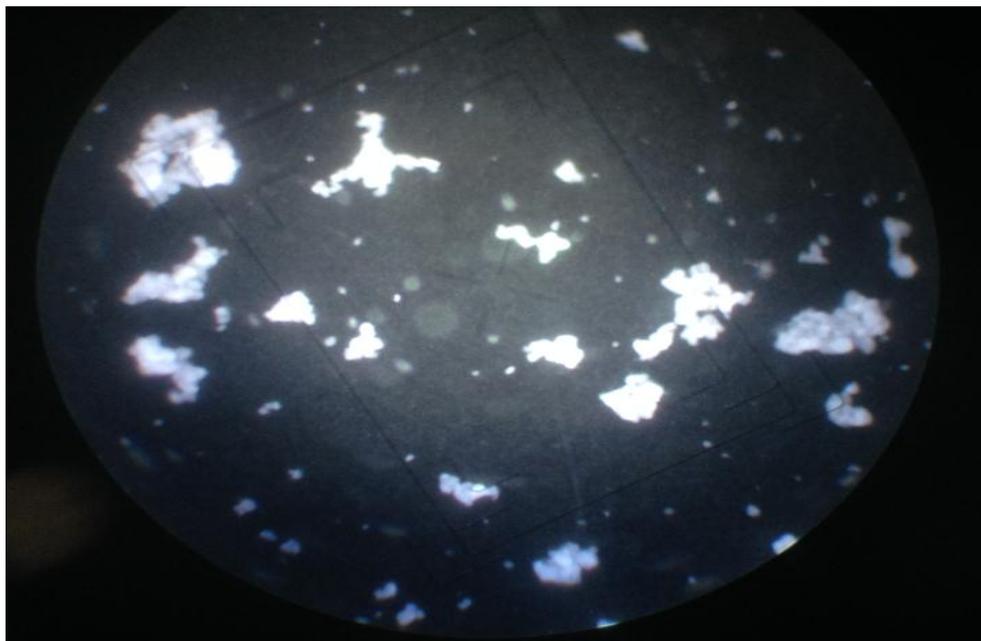
Fuente: (López, 2018)

Anexo 16. Toma de muestra de sangre en la vena cefálica.



Fuente: Chuva, 2018

Anexo 17. Aglutinación de cepa de *leptospiras* vivas con suero sanguíneo de perros observada en microscopio de campo oscuro.



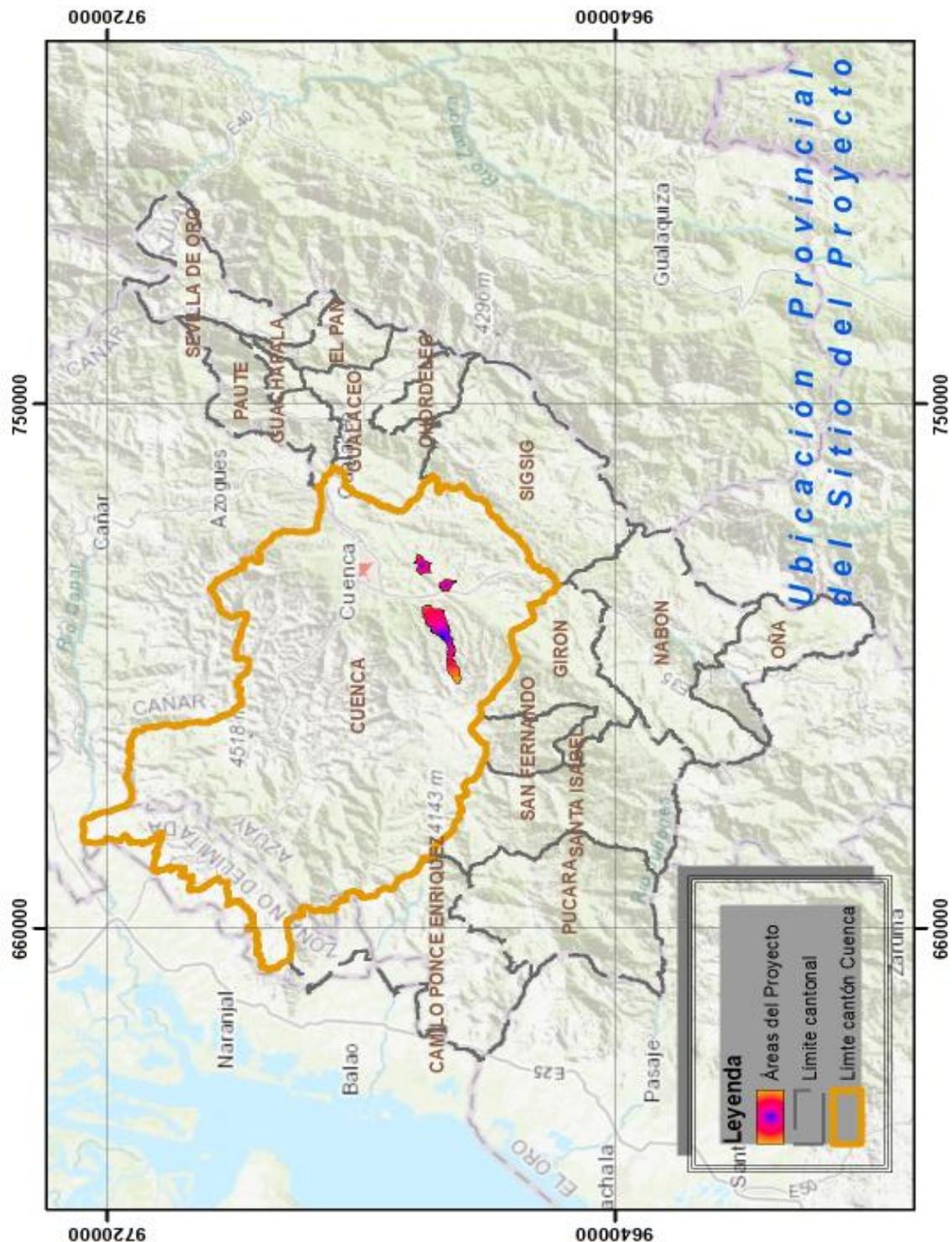
Fuente (Chuva, 2018)

Anexo 18. Cepa de *leptospira* viva observada en microscopio de campo oscuro que no aglutinaron con la adición de suero sanguíneo de perros.



Fuente: (Chuva, 2018)

Anexo 19. Mapa de la ubicación en la provincia del Azuay de las comunidades estudiadas en la parroquia Tarqui.



Fuente: (López, 2018)



Anexo 20. Hoja de registro para tamizaje y titulación para la prueba de MAT utilizada por el laboratorio del INSPI.

 INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA Dr. Leopoldo Izquierdo Pérez	Registro para tamizaje y titulación de la prueba de MAT		Código:	F-ZNS-028
			Edición:	00
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Zoonosis	Fecha Aprobación:	06/09/2018

Código muestra: Técnico responsable:.....

Fecha análisis: Fecha de repique de serovares de trabajo:

	Serovar	Control antígeno	Dilución	Serovar	Control antígeno	Dilución
			1:50			1:50
1				14	L. grippotyphosa	
2	L. bataviae van tinen			15		
3	L. cynopteri			16	L. bratislava	
4	L. hebdomadis			17		
5	L. tarassovi			18		
6	L. icterohaemorrhagiae			19	L. copenhageni	
7	L. saxkoebing			20		
8	L. hardjo			21		
9	L. pomona			22	L. australis	
10	L. wolffi			23	L. sejroe	
11	L. autumnalis			24	L. bataviae swart	
12	L. canicola			25	L. djasiman	
13						

a) Tamizaje

b) Titulación

Serovar	Control antígeno	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	Observaciones

Firma técnico responsable del ensayo:

Fuente: (INSPI, 2018)

Anexo 21. Hoja de encuesta para contexto espacial

CONTEXTO ESPACIAL

ECOLOGÍA DEMOGRÁFICA

Posee perros Sí... NO... Cuántos perros tiene en el domicilio o hacienda?.....

Cuál es el tipo de residencia de los perros? Casa... Establo...
Bodega...

El perro vive en el interior de su residencia? Sí... NO...

El perro vive suelto a voluntad? Sí... NO...

Según American Kennel Club Inc., de qué raza son sus perros?

Perros criollos...	Perros de pastoreo...	Perros sabuesos...	Perros no deportivos
Perros deportivos...	Perros terrier...	Perros juguete...	Perros de trabajo

ESTADO SOCIOECONÓMICO

Su vivienda tiene agua potable Sí... NO...

Su vivienda tiene energía eléctrica Sí... NO...

Su vivienda tiene teléfono Sí... NO...

Su vivienda tiene Internet Sí... NO...

Cuál es la disposición de las excretas en su vivienda:

Alcantarillado... Pozo negro... Letrina...

Cuál es el método de recolectar la basura:

Carro municipal... Incineración... Otro:...

Cómo es su tipo de vivienda:

Ladrillo... Mampostería... Madera... Otro...

En qué condiciones se encuentra su domicilio?

Excelente... Muy bueno... Bueno... Regular...
Malo...

Cuál es su grado de escolaridad: Primaria... Secundaria... Universitaria...

Fuente: (Yunga, 2018)



Anexo 22. Hoja de encuesta para la toma de datos del propietario y antecedentes epidemiológicos

II.4 ENCUESTA

DATOS DEL PROPIETARIO Y/O TENEDOR RESPONSABLE

Propietario SÍ... NO... Nombre y Apellido

.....

Dirección del propietario.....

Teléfono.....

ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

EXAMEN CLÍNICO

Presencia de signos clínicos SÍ... NO...

Cuáles?

.....

Signos observados por el dueño SÍ... NO...

Cuáles?

.....

NUTRICIONAL

Ración industrial... Comida casera cocinada... Carne fresca... Carne cocinada...

Visceras sin cocinar... Visceras cocinadas... Leche... Otros...

AMBIENTALES

Su (s) perro (s) tiene (n) contacto con roedores alrededor de la casa? SÍ... NO...

Su (s) perro (s) tiene (n) contacto con roedores al interior de la casa? SÍ... NO...

Su (s) perro (s) tiene (n) contacto con animales enfermos? SÍ... NO...

Su (s) perro (s) tiene (n) contacto con animales silvestres? SÍ... NO...

Su (s) perro (s) tiene (n) contacto con aguas estancadas? SÍ... NO...

Su (s) perro (s) tiene (n) contacto con basurales? SÍ... NO...

Su (s) perro (s) tiene (n) contacto con animales de la calle? SÍ... NO...

Su (s) perro (s) han recibido vacuna para leptospirosis? SÍ... NO...

Fecha de aplicación de la vacuna.....

DEMOGRÁFICOS

Nombre del lugar.....

Número de personas en el hogar.....

Estado civil: Casado... Soltero... Viudo... Divorciado... Unión libre...

Ocupación.....

Fuente: (Yunga, 2018).