

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ESTUDIO SOBRE LA SEROEPIDEMIOLOGÍA, LOS FACTORES DE RIESGO Y EL AISLAMIENTO DE LA LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES DOMÉSTICOS, SILVESTRES Y HUMANOS DEL NORESTE DE MÉXICO

POR

Jesús Francisco Chávez Sánchez

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

2025

**ESTUDIO SOBRE LA SEROEPIDEMIOLOGÍA, LOS FACTORES DE RIESGO Y
EL AISLAMIENTO DE LA LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES DOMÉSTICOS,
SILVESTRES Y HUMANOS DEL NORESTE DE MÉXICO**

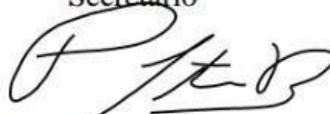
Comité de Tesis



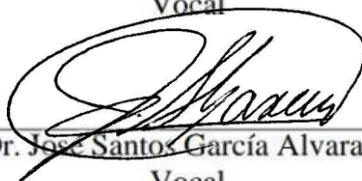
Dr. Lucio Galaviz Silva
Presidente



Dra. Itza Eloisa Luna Cruz
Secretario



Dr. Pablo Zapata Benavides
Vocal



Dr. José Santos García Alvarado
Vocal



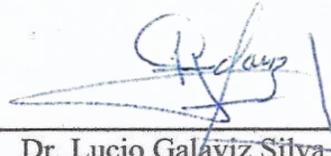
Dr. Ricardo Alberto Gómez Flores
Vocal



SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO
Dra. Katiushka Arévalo Niño
Subdirector de Posgrado

**ESTUDIO SOBRE LA SEROEPIDEMIOLOGÍA, LOS FACTORES DE RIESGO Y
EL AISLAMIENTO DE LA LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES DOMÉSTICOS,
SILVESTRES Y HUMANOS DEL NORESTE DE MÉXICO**

Dirección de Tesis



Dr. Lucio Galaviz Silva
Director



Dr. Ramiro Ávalos Ramírez
Director externo

DERECHOS RESERVADOS©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de vídeos y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionado al autor o autores.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Departamento de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León por su acogimiento durante los cuatro años de duración del doctorado. A todos mis compañeros y amigos pertenecientes a este departamento: Leslee de la Rosa, Alejandra Pescador, Arlene Torres y Armando Busqueta por todos los momentos que compartimos a lo largo de este periodo.

A la MVZ Tatiana de los Reyes por ayudarme en la obtención de las cepas de *Leptospira* utilizadas durante este trabajo de investigación.

A todos los productores y dueños de animales que amablemente colaboraron para la obtención de las muestras, así como la confianza brindada por parte de estos al manipular a los animales.

Al Dr. Marco Antonio Cantú, por la facilitación del microscopio de campo oscuro para poder realizar mis experimentos.

A mi asesor Dr. Lucio Galaviz Silva por haberme aceptado como su asesorado y por todo el apoyo brindado durante esta etapa de mi vida. A la Dra. Zinnia Judith Molina Garza por los consejos brindados que resultaron de mucha ayuda para la realización de esta tesis.

Agradezco especialmente al CONSEJO NACIONAL de HUMANIDADES, CIENCIAS y TECNOLOGÍAS (CONAHCYT) por el apoyo económico de manutención otorgado para realizar este trabajo de investigación.

Finalmente quiero agradecer a todos los estudiantes de servicio social que me brindaron su ayuda a la toma y procesamiento de muestras de los animales.

DEDICATORIA

A mis padres Jesús Francisco Chávez Granados y Clara Guadalupe Sánchez Reyna por alentarme a seguir adelante durante esta etapa de mi vida y apoyarme durante todas las fases de mi vida.

A mi hermano menor José Gabriel Chávez Sánchez por su apoyo y compañía durante toda mi vida.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA.....	vi
ÍNDICE.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ABREVIATURAS	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES.....	3
<i>Leptospira</i>	3
Características taxonómicas	3
Historia de la enfermedad.....	3
Leptospirosis en México.....	4
Epidemiología.....	5
Factores de riesgo	6
Tratamiento.....	6
Diagnóstico	7
Diagnóstico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	7
Diagnóstico por cultivo bacteriano.....	8
Diagnóstico por microaglutinación en placa (MAT).....	8
Patogénesis	9
Concepto “una sola salud”	9
Ecorregiones.....	10
JUSTIFICACIÓN	12
HIPOTESIS	13
OBJETIVO GENERAL.....	14
OBJETIVOS ESPECIFICOS	14
MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
Área de estudio y tamaño de muestra	15

Captura y manejo de animales silvestres	18
oso negro (<i>Ursus americanus</i>)	18
Armadillo de nueve bandas (<i>Dasypus novemcitus</i>).....	19
Zorro gris (<i>Urocyon cinereoargentus</i>)	19
Neotoma nopalera (<i>Neotoma leucodon</i>)	19
Rata doméstica (<i>Rattus norvegicus</i>) y ratón común (<i>Mus musculus</i>).....	20
Tipos de muestras colectadas	20
Muestras de suero.....	20
Muestras de orina	21
Muestras medioambientales.....	21
Preparación de medios de cultivo de mantenimiento de cepario.....	21
Mantenimiento de viabilidad del cepario.....	22
Purificación del cepario de <i>Leptospira</i>.....	22
Preparación del medio de cultivo para aislamiento de <i>Leptospira</i>.....	22
Preparación de la Solución tampón salina de fosfatos modificado (PBS).....	23
Criterio de uso de prueba serológica	23
Batería de antígeno de <i>Leptospira</i>	23
Procedimiento de realización de prueba de microaglutinación en placa (MAT)	24
Preparación de dilución inicial	24
Trabajo en microplaca	24
Colocación de la batería de <i>Leptospira</i> en placa.....	24
Prueba bacteriológica de aislamiento	25
Análisis estadístico.....	25
RESULTADOS.....	26
Detección serológica de <i>Leptospira</i>.....	26
Seroprevalencia por Estados	30
Seroprevalencia por Ecorregión	33
Distribución espacial.....	34
Distribución de la seroprevalencia en municipios de Nuevo León	34
Distribución de la seroprevalencia en municipios de Tamaulipas.....	35
Distribución de la seroprevalencia en municipios de Coahuila de Zaragoza	35
Distribución de las serovariedades Hardjoprajitno, Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Pyrogenes en el Noreste de México	36

Factores de riesgo	37
Factores de riesgo en caprinos.....	37
Factores de riesgo en ovinos.....	38
Factores de riesgo en cerdos	38
Factores de riesgo en caninos domésticos	38
Factores de riesgo en humanos	38
Factores de riesgo en bovinos	39
Factores de riesgo por Estado del Noreste de México	39
Factores de riesgo por ecorregiones	39
Análisis bacteriológico	41
Caracterización serológica	41
Cultivo en medio sólido Fletcher modificado.....	42
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIÓN	63
PERSPECTIVAS.....	64
REFERENCIAS	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de serovariedades utilizadas para la prueba de MAT	233
Tabla 2. Seroprevalencia general de leptospirosis por especie en el Noreste de México .	266
Tabla 3. Frecuencia de aglutininas anti- <i>Leptospira</i> acorde a la titulación máxima a nivel individual en animales silvestres, domésticos y seres humanos del Noreste de México	288
Tabla 4. Seroprevalencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> spp. en municipios de Nuevo León	311
Tabla 5. Seroprevalencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> spp. en municipios de Tamaulipas	322
Tabla 6. Seroprevalencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> spp. en el municipio de Coahuila de Zaragoza.....	322
Tabla 7. Análisis multivariado de factores de riesgo de leptospirosis en caprinos, ovinos, cerdos y seres humanos en el Noreste de México.....	399

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Municipios de estudio en el estado de Nuevo León, México.....	155
Figura 2. Municipios de estudio en la zona centro y sur del estado de Tamaulipas, México	166
Figura 3. Municipios de estudio en el estado de Coahuila de Zaragoza, México.....	177
Figura 4. Ecorregiones correspondientes con el Noreste de México.....	177
Figura 5. Mapa coroplético de la distribución de la seroprevalencia de leptospirosis en los municipios de Nuevo León.....	344
Figura 6. Mapa coroplético de la distribución de la seroprevalencia de leptospirosis en los municipios de Tamaulipas	355
Figura 7. Mapa coroplético de la distribución de la seroprevalencia de leptospirosis en los municipios de Coahuila de Zaragoza.....	355
Figura 8. Mapa puntual de la distribución de las serovariedades Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Bratislava en el estado de Nuevo León	366
Figura 9. Mapa puntual de la distribución de las serovariedades Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Pyrogenes en el estado de Tamaulipas	377
Figura 10. Mapa puntual de la distribución de las serovariedades Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes en el estado de Coahuila de Zaragoza.....	377
Figura 11. Bacterias de <i>L. interrogans</i> aisladas a partir de una muestra de orina de canino	41

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
IC	Índice de confianza
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
INDRE	Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
MAT	Microaglutinación en placa (Microagglutination test)
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
WOAH	Organización Mundial de Sanidad Animal (World Organization of Animal Health)

RESUMEN

La leptospirosis es una de las principales enfermedades zoonóticas de mayor impacto en la salud humana y animal a nivel global. Para contribuir al estudio epidemiológico de la leptospirosis en México, el presente estudio se llevó a cabo con el propósito de conocer la frecuencia de seropositividad, los factores de riesgo asociados, el aislamiento y la distribución de las serovariedades patógenas de *Leptospira* spp circulantes en animales domésticos, salvajes y seres humanos del noreste del país. Se confrontaron 1738 sueros de especies de animales domésticos (*Ovis orientalis aries*, ovino, n = 613; *Capra aegagrus hircus*, caprino, n = 560; *Bos Taurus*, vacuno, n = 148; *Sus scrofa domesticus*, cerdo, n = 93; *Equus ferus caballus*, caballo, n = 61; *canis lupus familiaris*, perros, n = 40; *Rattus norvegicus*, rata parda, n = 20; *Gallus gallus domesticus*, gallina, n = 18 y *Mus musculus*, ratón común, n = 15), silvestres (*Ursus amaricanus*, oso negro, n = 35; *Neotoma mexicana*, rata magueyera mexicana, n = 25; *Dasypus novemcinctus*, Armadillo de nueve bandas, n = 6 y *Urocyon cinereoargenteus*, zorra gris, n = 1) y de humanos (*Homo sapiens*, n = 120) contra 10 serovariedades patógenas de *Leptospira* spp, mediante la técnica de microaglutinación en placa (MAT). Se obtuvo una prevalencia general de 22.04% entre todas las especies animales y humanos contra las serovariedades patógenas, considerando positivos los sueros con aglutinación ≥ 50 de bacterias vivas a una dilución de 1:100. Se detectó seroreacción contra todas las serovariedades, siendo las de mayor frecuencia en orden decreciente Hardjoprajtino (38%), Bratislava (13.3%), Icterohaemorrhagiae (12.5%), Canicola (8.3%) y Pyrogenes (8.1%). La frecuencia serológica por especie animal en orden decreciente fue de 100% en zorra gris, 50.68% en bovinos, 38.89% en gallinas, 32.75% en equinos, 32.50% en caninos, 25% en ratas, 24.64% en caprinos, 23.66% en cerdos, 21.67% en seres humanos, 20% en ratón, 14.29% en osos negros y 12.23% en ovinos. Los armadillos y la rata neotoma mexicana no mostraron aglutininas frente a las 10 serovariedades de *Leptospira* spp. La seroprevalencia por estado fue de 30.41% en Nuevo León, 17.81% en Tamaulipas y 16.38% en Coahuila de Zaragoza. La seroprevalencia por ecorregión fue de 27.56% en grandes llanuras de Norteamérica, 18.73% en selvas cálido-secas, 17.48% en desiertos de Norteamérica y 16.67% en sierras templadas. Los análisis de regresión logística arrojaron que los factores de riesgo asociados a la presencia de *Leptospira* en el Noreste de México fueron los siguientes: ausencia de cuarentena (OR: 3.328), contacto con cerdos ferales (OR:

3.058), ausencia de médico veterinario (OR:2.175), contacto con bovinos (OR: 2.118), sistema de producción de carne (OR: 2.097) y bajo peso al nacer (OR: 2.074) en caprinos; contacto con bovinos (OR: 4.089), ≥ 100 animales por corral (OR: 3.235), anomalías congénitas (OR: 3.125), contacto con cerdos ferales (OR: 3.113), sistema de producción de carne (OR: 2.587), $< 50\%$ índice de preñez 2.497 y ausencia de médico veterinario (OR: 2.312) en ovinos; ausencia de tratamiento de agua para consumo (OR:6.324), alimentación con desperdicio (OR: 4.289), presencia de roedores (OR: 2.715) y ausencia de médico veterinario (OR: 2.169) en cerdos; acceso al exterior (OR: 15.000), caninos urbanos (OR: 6.875), contacto con roedores (OR: 5.343), época de lluvias (OR: 4.000) en caninos; ausencia de bioseguridad en el trabajo (OR: 6.324), falta de higiene en el área de trabajo (OR: 4.289), presencia de roedores en el hogar y/o trabajo (OR:2.715), no visita al médico (OR:2.169) en el ser humano; ausencia de médico veterinario (OR: 4.342), ausencia de vacunación (OR: 3.570) y sistema de producción semi-intensivo (OR: 2.289) en bovinos. Por estado se encontró que los animales de Nuevo León poseen 2.12 veces mayor probabilidad de infectarse con leptospirosis, así mismo los animales localizados en la ecorregión de grandes praderas poseen 1.748 veces más probabilidad de adquirir la infección por leptospirosis. Se logró el aislamiento de cuatro cepas de *Leptospira* spp (*L. interrogans* serovar Hardjoprajitno en dos bovinos, una cabra y una co-infección en caninos; *L. interrogans* serovar Bratislava en tres cerdos; *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae en tres caninos y un ratón y *L. borgpetersenii* en una muestra de río).

Los resultados de este estudio demuestran la evidencia en la amplia circulación y distribución de *Leptospira* spp. en los animales domésticos, silvestres y seres humanos del Noreste de México, así como los factores de riesgo asociados a la seropositividad y presencia de esta espiroqueta en esta región. Por lo que es necesario establecer programas de monitoreo, prevención y control de la leptospirosis en los animales domésticos y silvestres para con esto limitar la propagación de la enfermedad en el Noreste de México.

ABSTRACT

Leptospirosis is one of the main zoonotic diseases with a significant impact on human and animal health globally. To contribute to the epidemiological study of leptospirosis in Mexico, the present study was conducted to know the frequency of seropositivity, the associated risk factors, and the isolation and the distribution of the pathogenic serovars of *Leptospira* spp circulating in domestic and wild animals and humans in the northeast of Mexico. **A total of 1738 sera from species of domestic (*Ovis orientalis aries*, sheep, n = 613; *Capra aegagrus hircus*, goat, n = 560; *Bos Taurus*, cattle, n = 148; *Sus scrofa domesticus*, pig, n = 93; *Equus ferus caballus*, horse, n = 61; *canis lupus familiaris*, dog, n = 40; *Rattus norvegicus*, brown rat, n = 20; *Gallus gallus domesticus*, hen, n = 18, and *Mus musculus*, mouse, n = 15) and wild (*Ursus amarus*, black bear, n = 35; *Neotoma mexicana*, Mexican woodrat, n = 25; *Dasypus novemcinctus*, nine-banded armadillo, n = 6 y *Urocyon cinereoargenteus*, gray fox, n = 1) animals, and humans (*Homo sapiens*, n = 120) against 10 pathogenic serovars of *Leptospira* spp, using the microagglutination plate technique (MAT). An overall prevalence of 22.04% was obtained among all animal species and humans against pathogenic serovars, considering positive sera with agglutination ≥ 50 of live bacteria at a dilution of 1:100. Sero-reaction was detected against all serovars, the most frequent being, in decreasing order, Hardjoprajitno (38%), Bratislava (13.3%), Icterohaemorrhagiae (12.5%), Canicola (8.3%) and Pyrogenes (8.1%). The serological frequency by animal species in decreasing order was 100% in gray foxes, 50.68% in cattle, 38.89% in chickens, 32.75% in horses, 32.50% in dogs, 25% in rats, 24.64% in goats, 23.66% in pigs, 21.67% in humans, 20% in mice, 14.29% in black bears, and 12.23% in sheep. Armadillos and the Mexican woodrat did not show agglutinins against the 10 serovars of *Leptospira* spp. The seroprevalence by state was 30.41% in Nuevo León, 17.81% in Tamaulipas, and 16.38% in Coahuila de Zaragoza. Seroprevalence by ecoregion was 27.56% in the Great Plains of North America, 18.73% in warm-dry forests, 17.48% in the deserts of North America, and 16.67% in temperate mountain ranges. Logistic regression analysis showed that the risk factors associated with the presence of *Leptospira* in northeastern Mexico were the following: absence of quarantine (OR: 3.328), contact with feral pigs (OR: 3.058), absence of a veterinarian (OR: 2.175), contact with cattle (OR: 2.118), meat production system (OR: 2.097), and low birth weight (OR: 2.074) in goats, contact with cattle (OR: 4.089), ≥ 100 animals per pen (OR: 3.235), congenital abnormalities (OR: 3.125), contact with feral pigs (OR: 3.113), meat production system (OR: 2.587), $< 50\%$ pregnancy rate 2.497 and absence of veterinarian (OR: 2.312) in sheep; absence of water treatment for consumption (OR: 6.324), feeding with waste (OR: 4.289), presence of rodents (OR: 2.715) and absence of veterinarian (OR: 2.169) in pigs; access to the outside (OR: 15.000), urban canines (OR: 6.875), contact with rodents (OR: 5.343), rainy season (OR: 4.000) in canines; absence of biosecurity at work (OR: 6.324), lack of hygiene in the work area (OR: 4.289), presence of rodents at home and/or work (OR: 2.715), no visit to the doctor (OR: 2.169) in humans; absence of a veterinarian (OR: 4.342), absence of vaccination (OR: 3.570) and semi-intensive production system (OR: 2.289) in cattle. By state, it was found that animals in Nuevo León have a 2.12 times greater probability of being infected with leptospirosis. Furthermore, animals located in the Great Prairies**

ecoregion have 1.748 times more probability of acquiring the leptospirosis infection. Four strains of *Leptospira* spp. were isolated (*L. interrogans* serovar Hardjoprajitno in two cattle, one goat, and one canine co-infection; *L. interrogans* serovar Bratislava in three pigs; *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae in three canines and one mouse; and *L. borgpetersenii* in a river sample).

Results of this study demonstrate evidence of the wide circulation and distribution of *Leptospira* spp. in domestic and wild animals and humans in Northeastern Mexico, as well as the risk factors associated with seropositivity and the presence of this spirochete in this region. Therefore, it is necessary to establish monitoring, prevention, and control programs for leptospirosis in domestic and wild animals to limit the spread of the disease in Northeastern Mexico.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica bacteriana que es considerada como una de las principales enfermedades tropicales desatendidas en América Latina, además de ser la zoonosis con mayor morbilidad en el mundo (Karpagam y Ganesh 2020). Esta enfermedad zoonótica posee una alta incidencia en zonas con clima tropical y subtropical de países en vías de desarrollo. Sin embargo, se ha comenzado a observar un incremento en los índices de prevalencia en zonas de clima templado y semiáridos. Afecta principalmente a la población rural, con una incidencia global de 1.03 millones de personas enfermas y 58,900 muertes (Costa et al. 2015). Aun así, esta cifra está subestimada, ya que la leptospirosis suele ser mal diagnosticada y confundida con otras enfermedades febriles como dengue, paludismo y Chikunguña, por lo que es probable que no se notifiquen todos los casos, especialmente en las zonas rurales donde el acceso a los centros de salud es limitado y el conocimiento de la enfermedad es escaso (Yescas-Benitez et al. 2023).

La leptospirosis es causada por especies patógenas de *Leptospira*, principalmente *Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenni* y *L. noguchi*, los cuales poseen aproximadamente 250 serovariedades agrupadas en 26 serogrupos antigénicamente relacionados (Chadsuthi et al. 2017). Cada serogrupo está adaptada a uno o más especies animales, por ejemplo, los bovinos y pequeños rumiantes actúan como hospederos del serogrupo Sejroe, los caninos del grupo Canicola, los cerdos del serogrupo Pomona y Australis y roedores al serogrupo Icterohaemorrhagiae (Adler 2015). Generalmente, los animales que son hospederos naturales de estos serogrupos suelen ser portadores asintomáticos. Sin embargo, los hospederos incidentales suelen presentar un cuadro clínico severo. Los rumiantes, cerdos y equinos presentan cuadros reproductivos caracterizados por abortos y mortinatos ocasionando grandes pérdidas económicas a los productores en el sector pecuario (Martins y Lilenbaum 2013).

Las infecciones en el ser humano ocurren al entrar en contacto directo con orina de animales infectados y a la exposición de objetos contaminados como suelo y cuerpos de agua (Adler 2015). Las bacterias pueden sobrevivir en ambientes húmedos por semanas, aunque la

principal fuente de diseminación son los animales domésticos y silvestres que liberan bacterias constantemente en el medio ambiente a través de la orina (Flores et al. 2017).

Los sistemas de vigilancia son una estrategia importante para la prevención y control de enfermedades, especialmente para la detección precoz y oportuna, la identificación de zonas de riesgo, la detección de serovariedades específicas de una región y la aplicación de medidas de control posterior a fenómenos meteorológicos como inundaciones o lluvias torrenciales. En México, la leptospirosis es una enfermedad de reporte obligatorio, por lo que se implementan sistemas de vigilancia para llevar un mejor censo de infectados. Los casos en el país se confirman por pruebas de laboratorio (Yescas-Benitez 2023). La prueba de oro para la detección de leptospirosis es la prueba de microaglutinación (MAT) la cual establece muestras positivas a través de la detección de anticuerpos específicos a diferentes serovariedades representantes de diferentes serogrupos. Sin embargo, esta técnica posee varias limitaciones incluyendo altas tasas de reacciones cruzadas entre serovariedades miembros de un mismo serogrupo, además de poseer alto riesgo debido a la manipulación de antígeno vivo (WOAH 2021).

ANTECEDENTES

Leptospira

Características taxonómicas

Las bacterias del género *Leptospira* pertenecen a la familia *Leptospiraceae* orden *Leptospirales*, clase *Spirochaetia*, filo *Spirochaetota*. Estas tienen la singularidad de poseer una morfología en espiral. Los expertos han clasificado a *Leptospira interrogans* como las bacterias patógenas y a *Leptospira biflexa* como las no patógenas. Sin embargo, por cuestiones epidemiológicas, se ha sugerido una clasificación mucho más específica dependiendo del grado de patogenicidad. Siendo esta clasificación en patógena, intermedia y no patógenas o saprofitas. Entre las bacterias patógenas se encuentran *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. weilli* y *L. wolffi*. En las intermedias se localizan *L. inadai*, *L. fanai* y *L. venezuelensis* y las saprofitas cuentan con *L. biflexa*, *L. woolbachii*, *L. meyeri* y *L. yanagawe* (Bharti et al. 2003).

Historia de la enfermedad

La historia de leptospirosis se remonta a 1886 donde se describe por primera vez un caso inusual de ictericia acompañado con esplenomegalia, insuficiencia renal, conjuntivitis y erupción cutánea no purulenta. A este padecimiento se le denominó síndrome o enfermedad de Weil en honor a la persona que los descubrió, Adolph Weil. La etiología de esta enfermedad era desconocida, pero se pensaba que era de carácter infeccioso y se le asociaba a empleos donde la gente tenía contacto con cuerpos de agua en alcantarillas, arrozales y minas de carbón (Adler 2015).

Se tienen registros en los cuáles se describen sintomatologías similares a la leptospirosis en escritos chinos, donde mencionan una ictericia en trabajadores de los campos de arroz. En Japón se describieron cuadros clínicos que tenían similitud con leptospirosis y fueron denominados como “Fiebre de otoño” o “Fiebre de los siete días” (Kitamura y Hara 1918). En Europa este padecimiento se asoció a empleos ordinarios donde se le denominó fiebre del hato suino, enfermedad de los cortadores de caña y fiebre del lodo (Alstom y Broom 1958). En el siglo XX Stimson demostró la existencia de la bacteria *Leptospira*, utilizando una

tinción a base de plata descrita por Levaditi en 1907. Stimson observó bacterias espirales en tejido de riñón de un paciente que se creía había muerto de fiebre amarilla. A estas bacterias las llamó “*Spirocheta interrogans*” debido a su morfología en forma de signo de interrogación que, hoy se sabe que es debido a sus flagelos periplásmicos que le conceden esta terminación de gancho (Trueba et al. 1992).

En Japón se comenzaron investigaciones donde inyectaron sangre de pacientes con síndrome de Weil en conejillos de indias donde lograron replicar los signos clínicos de una infección aguda. Estos animales presentaron ictericia, conjuntivitis, hemorragias generales, anemia y albuminuria. A través del microscopio se lograron identificar estas bacterias en los animales infectados siendo riñón e hígado las que presentaban mayor carga bacteriana (Ido *et al.* 1916). Este trabajo pudo resaltar la resistencia natural de los conejos, ratas y ratones a la leptospirosis. Meses después se cultivó por primera vez esta bacteria en un medio a base de tejido renal de cobayo emulsificado e incubado a 25 °C, teniendo una pérdida de viabilidad a 37 °C. A esta bacteria aislada se le denominó “*Spirocheta icterohaemorrhagiae*” posteriormente llamada *Leptospira interrogans* serovariedad *Icterohaemorrhagiae* (Inada et al. 1917).

A mediados del siglo XX se incrementó la información obtenida acerca de la leptospirosis, siendo las contribuciones realizadas por Van Thiel en 1948 y Alstom y Broom en 1958, donde se reconoció a la leptospirosis como una enfermedad infecciosa que afecta a la mayoría de los mamíferos y el papel que tiene los animales domésticos y los roedores como portadores y fuentes de infección para el ser humano (Adler 2015).

Leptospirosis en México

El primer reporte de leptospirosis en México se remonta a 1920, en Mérida, Yucatán, donde se sospechaba de un brote de fiebre amarilla (Noguchi y Kigler 1920). En años posteriores, surgieron encuestas serológicas que identificaron pacientes seropositivos en los estados de Tabasco, Campeche, Veracruz, Ciudad de México y Tamaulipas (Varela et al. 1954; Varela et al. 1958; Varela y Zavala 1961). No obstante, los intereses por conocer el alcance de la enfermedad en México comenzaron en la década de los noventa. En 1995, Galvadón et al.

realizaron un estudio donde encontraron una frecuencia de 7% en 206 donantes frente a 7 serovariedades diferentes de *Leptospira* (Galvadón et al. 1995). De 1990 a 1995 investigaciones realizadas en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicas (INDRE) de la secretaria de Salud (SSA), demostraron una prevalencia de 46% en 446 muestras de pacientes sospechosos de leptospirosis (Carrada-Bravo 2005).

La tasa de prevalencia en México ha sido variable, debido al empleo de diferentes pruebas diagnósticas y a la creación de nuevos laboratorios de referencia sin una regulación en el criterio de la interpretación de los resultados (Velasco-Castrejón et al. 2007). En 1998, el INDRE reportó 119 casos positivos distribuidos principalmente en Hidalgo, Guerrero y la Ciudad de México. Durante el periodo 2003-2008, la tasa de incidencia fue de 2.1 casos / 10,000 habitantes (Consejo Nacional de Población 2008). En la década siguiente, la incidencia se elevó a 10 casos/10,000 habitantes, acumulándose un total de 483 casos nuevos, concentrándose principalmente en los estados de Campeche, Tabasco, Baja California Sur y Colima. En 2012, la SSA comprobó 481 casos de leptospirosis, siendo Tabasco el más afectado con 255 pacientes (Torres-Castro 2016). Se reportó un caso de leptospirosis en una adolescente de 13 años con un cuadro clínico inespecífico la cuál fue evolucionando durante 8 meses. Lamentablemente, el personal médico en México no está familiarizado con esta enfermedad y las diferentes variantes de su presentación, por lo que no la incluyen en sus diagnósticos diferenciales (Field-Cortazares 2021).

Epidemiología

La leptospirosis es una enfermedad global, exceptuando las regiones polares. La leptospirosis posee una “nidalidad” natural y cada serovariedad tiende a localizarse o mantenerse en una especie hospedadora específica. Sin embargo, una especie animal puede infectarse por una serovariedad que es mantenida por otro animal de su misma especie u otras serovariedades presentes de otras especies (WOAH 2021).

Esta enfermedad afecta a la mayoría de los mamíferos, reptiles, anfibios, aves y peces. Se ha logrado aislar *Leptospira* de insectos como la cucaracha (*Periplaneta* spp.) (Astudillo et al. 2016).

En el ser humano la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* se le asocia a la enfermedad de Weil, siendo el roedor el principal portador de esta (Ellis 2015). A nivel mundial, la prevalencia es de 1.03 millones de casos con una tasa de mortalidad de 58,900 anuales (Costa et al. 2015).

Factores de riesgo

La leptospirosis es común en zonas de clima tropical con un alto índice de precipitación anual. Otro factor importante que predispone a la diseminación de la enfermedad es la presencia de roedores, especialmente ratones y ratas que actúan como portadores de *Leptospira interrogans Icterohaemorrhagiae* y que suelen estar presentes en zonas con condiciones insalubres (Adler y de la Peña, 2010). Los cuerpos de agua contaminados son un gran foco de infección como los lagos o pozos de agua donde los animales tanto domésticos como salvajes tienen acceso para beber (Bharti et al. 2003).

A la leptospirosis se le considera como una enfermedad de actividad ocupacional, por lo tanto, médicos clínicos, médicos veterinarios, granjeros, expositores de ganado y toda aquella persona que trabaje con animales puede infectarse (Adler 2015).

Tratamiento

El tratamiento de leptospirosis consiste en el uso de antibiótico, principalmente tetraciclinas, complementándose con tratamiento sintomático. En bovinos y ovinos se ha utilizado un protocolo de estreptomicina 25mg/kg en casos de leptospirosis genital (Aymeé et al. 2023) (Guadalupe et al. 2022). En caninos se han implementado protocolos con bencilpenicilina 400,000 UI/Kg o doxiciclina vía oral 10mg/Kg (Sharun et al. 2019) (Plumb 2010). El tratamiento paliativo va de acuerdo con la signología manifestada, donde se puede desarrollar un protocolo multisistémico utilizando dipirona, protector gástrico, *Silybum marianum*, tocoferol, terapia de fluidos y, en casos graves, transfusión sanguínea y diálisis (Haake y Levett 2015).

Diagnóstico

Para brindar un buen tratamiento, es necesario un buen diagnóstico. Para leptospirosis existen varios métodos establecidos a lo largo de la historia para la detección de esta enfermedad que va desde la observación directa de la bacteria en tejidos con tinción a base de plata y secreciones por el microscopio hasta el aislamiento en medio de cultivo o simplemente la detección indirecta a partir de anticuerpos específicos (Ellis 2015).

Diagnóstico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Las diferentes pruebas moleculares han servido como apoyo para la detección de bacterias en orina y sangre. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se fundamenta en la amplificación del ácido desoxirribonucleico (ADN) de la bacteria, donde se han establecido dos categorías, la amplificación de genes constitutivos como *rrs*, *sec Y* o *gyr B* presentes en todas las bacterias del género *Leptospira* y amplificación de genes específicos de cepas patogénicas como *LipL32* o *lig*. Existen investigaciones que demuestran la eficiencia de esta prueba a partir de muestras de orina y sangre, superando al cultivo de la bacteriano, aunque no ha sido capaz de superar a la prueba de MAT en precisión (Fenner et al. 2009; Slack et al. 2006).

Una de las principales desventajas de la técnica de PCR es que no posee la capacidad de diferenciar entre las distintas serovariedades infectante. Aunque esto no tiene importancia en casos aislados o clínicos, en cuestiones epidemiológicas y de salud pública se necesita conocer la serovariedad específica de cada región. En estos casos se requiere la identificación mediante su aislamiento en medio de cultivo a partir de muestras de pacientes (Lucchesi et al. 2004).

Diagnóstico por cultivo bacteriano

Para su crecimiento, *Leptospira* requiere de medios selectos específicos. Estos medios pueden ser líquidos, semisólidos y sólidos. Se puede aislar a partir de tejido, orina, sangre, líquido cerebroespinal y líquido peritoneal de pacientes con un curso agudo. Los medios de cultivo deben de incubarse en aerobiosis a una temperatura entre 28 °C a 31 °C y examinados a través de microscopio de campo oscuro una vez por semana durante 13 semanas (Adler 2015).

Las bacterias aisladas pueden ser tipificadas mediante pruebas serológicas o moleculares, siendo la secuenciación genética la más utilizada. Sin embargo, no son capaces de reemplazar la caracterización serológica, solo de complementarla (Larson et al. 2017).

Diagnóstico por microaglutinación en placa (MAT)

La prueba de microaglutinación en placa es la prueba de oro para la detección de *Leptospira* en hatos, la cual se fundamenta en la observación a través de microscopio de campo oscuro la aglutinación que ocurre en la interacción que tiene la bacteria con los anticuerpos específicos que posee el paciente. Esta prueba posee una alta especificidad y sensibilidad, sin embargo, se ha establecido esta prueba como cualitativa, por lo que muchas veces la precisión del resultado emitido depende del técnico, por lo que este debe de estar bien capacitado para dar un resultado correcto. Otros inconvenientes de esta prueba es el tiempo que lleva la realización de esta, la cual le puede llevar al técnico un día entero procesar las muestras, además que existe un alto riesgo de infección por el uso de antígenos vivos. Es por eso que se han buscado nuevas técnicas más rápidas y de menor riesgo (WOAH 2021).

Patogénesis

La infección de los animales susceptibles ocurre a través del ingreso de la bacteria a través de las membranas mucosas de los ojos, boca, nariz, vagina y pene, además de que poseen la capacidad de penetrar la piel dañada y sana. La leptospirosis presenta un periodo de incubación de 7 días, donde posteriormente presenta un periodo de bacteriemia que dura únicamente una semana. La bacteria empieza a diseminarse a través del torrente sanguíneo a otros órganos y concluye con la generación de anticuerpos por parte del huésped. La fase aguda se presenta principalmente en animales jóvenes y está asociada a infecciones incidentales de cepas productoras de hemolisinas como *Pomona* e *Icterohaemorrhagiae* que provocan problemas hemolíticos y pueden llegar a producir la muerte. Después las bacterias migran hacia sus órganos diana como son los túbulos renales, hepatocitos, pleura pulmonar y tracto genital de hembras maduras y machos enteros. La *Leptospira* localizada en los túbulos renales se multiplican provocando daño al endotelio generando una respuesta inmune exagerada. Es en este periodo donde el animal puede diseminar las bacterias en la orina (Adler 2015). En caso de las hembras, las bacterias viajan hacia el aparato reproductor pudiendo persistir por 142 días con daño al feto en caso de preñez. En estos casos el feto será abortado diseminando bacterias a través de placenta (Ellis 2015).

Concepto “una sola salud”

“Una sola salud” es definida como el enfoque colectivo, transdisciplinario y multisectorial para obtener resultados óptimos de en materia de salud, mediante la comprensión de la interconexión entre el ser humano, animales domésticos, animales silvestres, plantas y su entorno a nivel local, estatal, nacional y global (Pal et al. 2021). Una sola salud es un término amplio que engloba una amplia variedad de disciplinas, ocupaciones y campos de interés que incluyen, salud animal, bienestar animal, gestión de recursos ganaderos, promoción de salud pública y desarrollo de conciencia ambiental. Debido a que las zoonosis pueden infectar a

los seres humanos y animales, es importante que los profesionales médicos y veterinarios colaboren en el ámbito de salud pública y diagnóstico de laboratorio (Orlando et al. 2020).

Una sola salud busca mejorar los intentos globales por evitar la diseminación y esparcimiento de enfermedades zoonóticas. La habilidad por coordinar el capital entre las industrias, así como la colaboración entre sistemas de salud pública, veterinaria y medioambientales, es crítica para la prevención y manejo de muchas enfermedades zoonóticas desatendidas, como ántrax, brucelosis y leptospirosis (Pal et al. 2021).

Ecorregiones

Las ecorregiones se definen como unidades geográficas que comparten condiciones medioambientales, flora y fauna particulares. Estas divisiones no corresponden con la división política, por lo que una ecorregión puede abarcar varios estados e incluso países (Thompson et al. 2007).

En el Noreste de México podemos encontrar cuatro diferentes ecorregiones: grandes llanuras, selva cálido-seca, desiertos de Norteamérica y sierras templadas (Wilken et al. 2011)

Grandes llanuras

Ubicada en la región central del continente americano y la que posee la extensión territorial más amplia de América del Norte. Esta ecorregión se caracteriza por su alta cantidad de pastizales con un clima subhúmedo a semiárido. La precipitación pluvial promedio es de 400 mm con vegetación caracterizada por matorrales espinosos (Wilken et al. 2011).

Selvas cálido-secas

Se extiende en el norte de la Planicie Costera del Golfo correspondiente al sureste de Tamaulipas en el Noreste de México. Esta región se caracteriza por poseer un clima tropical con precipitaciones promedio de 1,100 mm. Predominan los bosques deciduos y subdeciduos de 4 a 15 m de altura (Wilken et al. 2011).

Desiertos de América del norte

Se extiende desde la parte oriental de Columbia Británica hasta Baja California en el poniente y la parte Norte-Centro de México. En el Noreste de México comprende el mayor territorio de Coahuila, sur de Nuevo León y suroeste de Tamaulipas. Se distingue por su aridez y vegetación de arbustos y cactáceas. El clima es estepario cálido o semiárido con precipitaciones medias de 255 mm (Wilken et al. 2011).

Sierras templadas

En el Noreste de México comprende la Sierra Madre Oriental. Consiste principalmente por montañas, colinas plegadas y planicies. La vegetación es perennifolia y decidua constituida por encinos y coníferas de 30 m de alto. La precipitación media de esta región es de 800mm (Wilken et al. 2011).

JUSTIFICACIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica desatendida causada por bacterias del género *Leptospira*, que afecta tanto a animales como a seres humanos en diversas regiones del mundo, incluido el noreste de México. Esta enfermedad, bajo el enfoque de “Una salud”, presenta una importancia significativa en la salud animal y pública debido a su alta prevalencia y potenciales daños clínicos y económicos. En este contexto, en la zona estudiada es necesario conocer su comportamiento epidemiológico incluyendo la seroprevalencia y los factores de riesgo asociados en poblaciones de animales y humanos. Este conocimiento, juntamente con el aislamiento y caracterización de cepas de *Leptospira spp* circulantes en la región permitirá identificar los serogrupos/serovariedades patogénicas presentes y relacionar su posible transmisión inter-especies bajo las condiciones climáticas, reservorios bióticos y abióticos, sistema de manejo pecuario y exposición ocupacional. A la par, esto no solo es necesario para explicar la dinámica epidemiológica de la enfermedad sino también para la elección de tratamientos anti-leptospira y eventualmente el desarrollo de bacterinas regionales. Por el impacto que tiene la leptospirosis en la salud pública y animal, el conocer su disposición geográfica -estacional y sus implicaciones en la región permitirá diseñar estrategias de educación y capacitación para profesionales de la salud, veterinarios, biólogos, productores pecuarios y la población en general.

En resumen, esta investigación busca obtener información crítica y datos epidemiológicos valiosos actualizados, identificando factores de riesgo clave y caracterizando las cepas circulantes de *Leptospira* causantes de la leptospirosis en el noreste de México. Los resultados obtenidos pueden ser utilizados para implementar medidas preventivas y de control efectivas, basados en evidencia científica con el propósito de reducir la incidencia de esta enfermedad y mejorar la salud pública y animal en la región.

HIPOTESIS

En el noreste de México, existe una asociación significativa entre la seroprevalencia de leptospirosis en animales domésticos y silvestres y humanos. Los potenciales factores de riesgo identificados y el aislamiento de serovariedades/serogrupos patógenos nos indicarán una posible transmisión zoonótica e inter-especies de *Leptospira spp* en la región.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia serológica e identificar los factores de riesgo asociados a la seropositividad contra serovariedades patógenas de *Leptospira* y bajo el enfoque de “una salud”, aislar y caracterizar cepas de *Leptospira* circulantes en la interfaz humano-animal doméstico-silvestre-medio ambiente en el Noreste de México.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a) Determinar la frecuencia de anticuerpos mediante serología frente a *Leptospira* spp en animales domésticos y silvestres del Noreste de México.
- b) Determinar la frecuencia de anticuerpos mediante serología frente a *Leptospira* spp. en trabajadores de hatos y veterinarios el Noreste de México.
- c) Determinar la distribución de las cepas más frecuentes de *Leptospira* spp. en el Noreste de México
- d) Detectar la presencia de cepas de *Leptospira* patógenas en orina y órganos en animales domésticos y silvestres del Noreste de México.
- e) Detectar la presencia de cepas de *Leptospira* a en muestras de suelo y cuerpos de agua en zonas de tránsito de animales en el Noreste de México
- f) Comparar y caracterizar en ensayos serológicos cepas de *Leptospira* aisladas de agua, suelo, animales domésticos y silvestres en el Noreste de México.
- g) Determinar los principales factores de riesgo que propician la presencia de leptospirosis en el ser humano y animales domésticos y silvestres.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio y tamaño de muestra

El presente estudio se realizó en el Noreste de México, abarcando los estados de Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila. Cada uno de los estados cuenta con su propio ecosistema.

Nuevo León posee principalmente un clima seco y semiseco (68%), el 20% de su territorio es cálido subhúmedo, el 7% es templado subhúmedo y 5% clima muy seco. La temperatura media anual es de 20°C, la temperatura máxima promedio anual es de 32°C presentes entre los meses de mayo a agosto y la temperatura mínima media anual es de 5°C presentes en el mes de enero. La precipitación media anual es de 650 mm, principalmente en los meses de agosto y septiembre. Los municipios seleccionados para la toma de muestra fueron: Allende, Anáhuac, Apodaca, Aramberri, Bustamante, Cadereyta Jimenes, El Carmen, Cerralvo, Ciénega de Flores, Doctor Arroyo, Galeana, General Bravo, General Escobedo, Higuera, Hualahuises, Lampazos de Naranjo, Linares, Marín, Melchor Ocampo, Mier y Noriega, Montemorelos, Monterrey, Parás, Salinas Victoria y San Nicolas de los Garza (**Figura 1**)

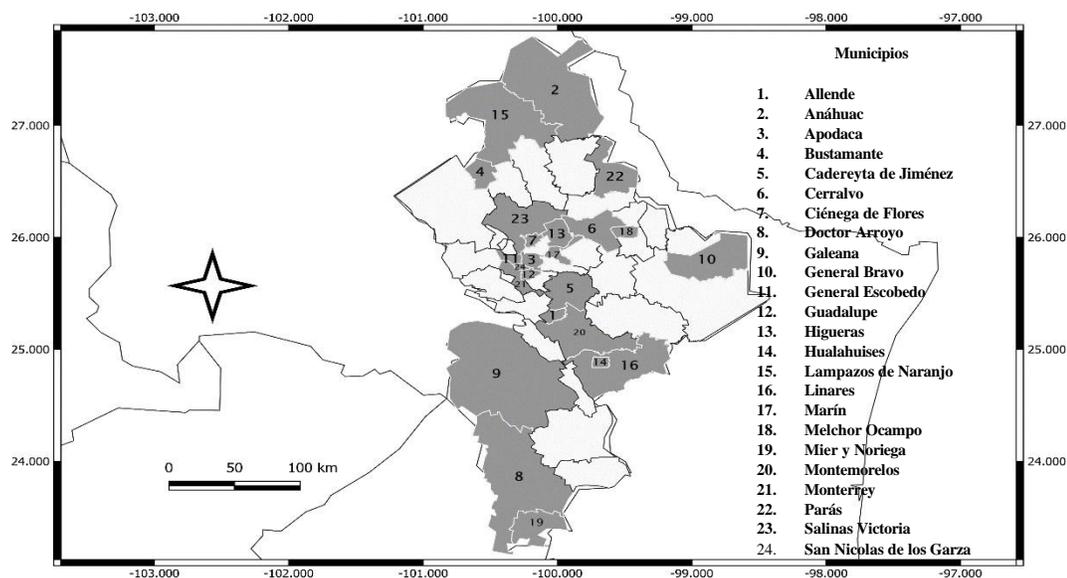


Figura 1. Municipios de estudio en el estado de Nuevo León, México

Tamaulipas posee un clima subhúmedo (58%), el 38% presenta un clima seco y semiseco, el 2% es templado subhúmedo y el otro 2% es cálido húmedo. La temperatura anual promedio es de alrededor de 23.5 °C, la temperatura máxima en promedio ronda los 22 °C en los meses de junio a agosto, mientras que la temperatura mínima promedio es de 10 °C presentándose en el mes de enero. La precipitación media es 780 mm anuales, con la época de lluvia en verano. Los municipios seleccionados para la toma de muestras fueron: Abasolo, Aldama, Altamira, Bustamante, Casas, González, El Mante, Ocampo, Soto la Marina y Tula (**Figura 2**).

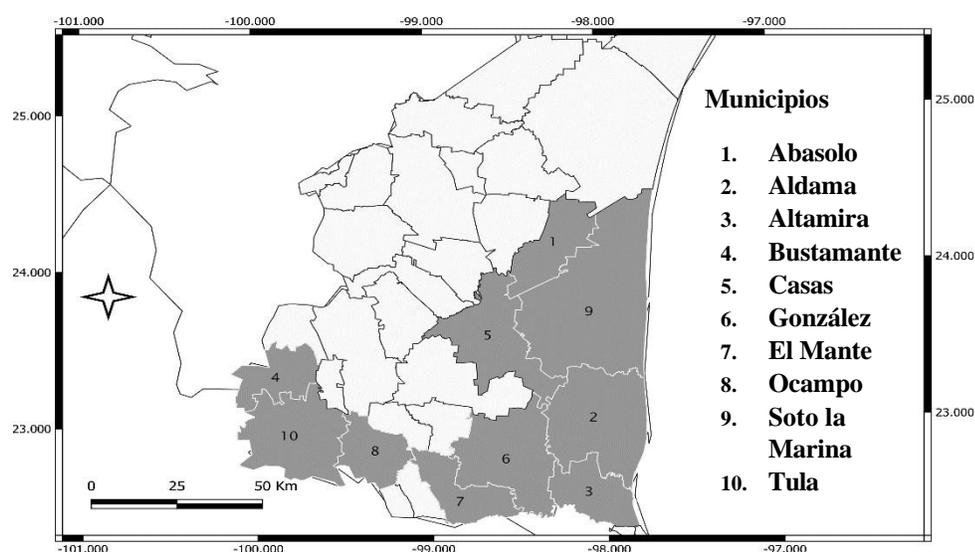


Figura 2. Municipios de estudio en la zona centro y sur del estado de Tamaulipas, México

Coahuila de Zaragoza posee en su mayoría de territorio un clima seco y semiseco, el 46% tiene un clima muy seco y el 5% restante un clima templado subhúmedo. La temperatura media anual es de 18 a 22 °C, con temperaturas máximas de 33°C en los meses de mayo a agosto y temperaturas mínimas de 4°C en el mes de enero. Las lluvias son escasas, 400 mm, las cuales se presentan principalmente durante el verano. Los municipios seleccionados para la toma de muestra fueron Acuña, Allende, Arteaga, General Cepeda, Hidalgo, Matamoros, Monclova, Parras, Ramos Arizpe, Saltillo, Torreón y Zaragoza (**Figura 3**).

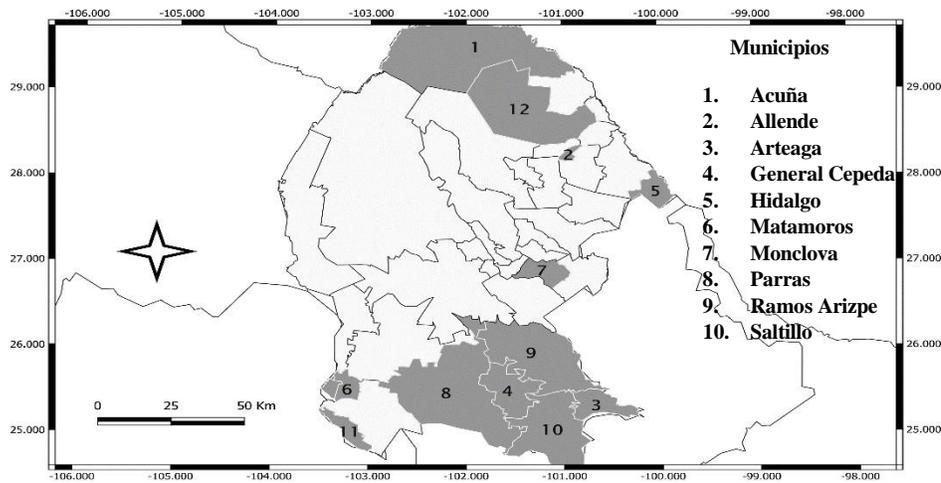


Figura 3. Municipios de estudio en el estado de Coahuila de Zaragoza, México

Las ecorregiones establecidas para muestreo en este estudio fueron Grandes Planicies el cual abarca los municipios de Anáhuac, Lampazos de Naranjo, Parás, Salinas Victoria, Ciénega de Flores, Higuera, Cerralvo, Melchor Ocampo, Marín, Escobedo, Apodaca, San Nicolas de los Garza, Monterrey, Guadalupe, Cadereyta Jiménez, General Bravo, Allende, Montemorelos, Linares, Hualahuises, Hidalgo, Zaragoza y Abasolo; Selvas Cálido-Secas que abarcan los municipios de Casas, Soto la Marina, Ocampo, González, Aldama, Altamira y el Mante; Desiertos de Norteamérica que abarcan los municipios de Tula, Bustamante, Doctor Arroyo, Mier y Noriega, Galeana, Saltillo, Parras, General Cepeda, Ramos Arizpe, Torreón, Matamoros, Monclova y Acuña; Sierra Templada comprendiendo el municipio de Arteaga (Figura 4).

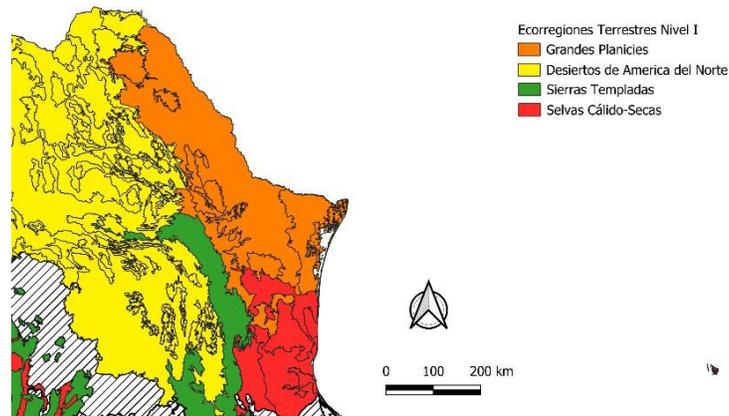


Figura 4. Ecorregiones correspondientes con el Noreste de México

Todos los experimentos fueron realizados en el departamento de Virología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León, debido a que cuenta con el material y equipo necesario para el manejo adecuado del agente y de los animales de laboratorio.

Para la obtención del tamaño de muestra de animales domésticos se realizó un muestreo en dos etapas, considerándose un efecto de diseño de dos (Segura y Honhold 2002), por lo que la fórmula para obtener el número de muestra fue la siguiente:

$$n = D*(Z^2*p*q)/d^2$$

Donde n = tamaño de muestra; D = efecto de diseño; Z = valor de la tabla Z con nivel de confianza 95% (1.96); p = prevalencia esperada (0.50), q = 1-p; d = precisión.

El tamaño de muestra de animales silvestres se obtuvo utilizando un muestreo por conveniencia, donde solamente se utilizaron los animales capturados.

Captura y manejo de animales silvestres oso negro (*Ursus americanus*)

Las muestras de osos incluidas en el presente estudio pertenecen a animales avistados por seres humanos en la zona de estudio y reubicados con autorización de SEMARNAT, con el permiso SGPA/DGVS/00988/17 otorgado al Laboratorio de Fauna Silvestre de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León en zonas urbanas y rurales de Nuevo León. La toma de muestras se realizó utilizando un protocolo de captura y manejo establecido por Carrera et al. (2018) con el uso de jaulas tipo Cambrian y ayuda de cebo. Una vez capturado, el manejo fue con ayuda de restricción química (tranquilización y anestesia) siguiendo el siguiente protocolo: 4 mg de xilacina/kg de peso corporal (10% de clorhidrato de xilacina; PiSA Agropecuaria, Guadalajara, México) y 8 mg/kg de peso corporal de Zoletil 100 (Tiletamina 250 mg y Zolazepam 250 mg; Virbac, Niza, Francia). Las dosis fueron calculadas de acuerdo con el peso de cada ejemplar, y se aplicaron con la ayuda de un dardo disparado por pistola de CO₂ por personal capacitado (Carrera y Lira 2015).

Armadillo de nueve bandas (*Dasypus novemcitus*)

Los armadillos de nueve bandas fueron capturados en las diferentes unidades de producción utilizando trampas plegables tipo Tomahawk. La toma de muestra se realizó utilizando un protocolo de manejo establecido por Superina et al. (2014). La obtención de sangre de los animales pequeños solamente requirió de contención física, mientras que los especímenes grandes requirieron contención química donde se utilizó el siguiente protocolo: 25 mg/kg de Anesket Vet (un gramo de clorhidrato de ketamina; PiSA Salud Animal, Guadalajara, México) + 0.3 mg/kg de Calmivet (5 mg de maleato de acepromacina; Vetoquinol, Ciudad de México, México). Los animales fueron liberados después de la toma de muestra en el sitio de captura.

Zorro gris (*Urocyon cinereoargenteus*)

La única muestra de esta especie animal fue enviada por la dependencia Parques y Vida Silvestre de Nuevo León, al laboratorio de patología veterinaria de la FMVZ-UANL para conocer la causa de muerte del animal.

Neotoma nopalera (*Neotoma leucodon*)

Los neotomas fueron capturados utilizando trampas ratoneras colocadas cerca de sus madrigueras, dentro de las unidades de producción con permiso de los propietarios del predio. Los animales capturados fueron inducidos químicamente utilizando una cámara de anestesia con cloroformo. Una exposición breve fue utilizada, solamente a que entrara en el primer plano de anestesia. Posterior a la toma de muestra, se procedió a liberar al animal en la misma zona donde fue capturado.

Rata doméstica (*Rattus norvegicus*) y ratón común (*Mus musculus*)

Las ratas y ratones fueron capturadas utilizando trampas ratoneras colocadas dentro de los ensilados, almacenes de comida y cerca de los corrales en las unidades de producción de animales domésticos. Al igual que en los neotomas, estos animales fueron inducidos químicamente utilizando una cámara de anestesia con cloroformo. En esta ocasión los animales fueron sacrificados. A la necropsia, los órganos fueron utilizados para el diagnóstico de diferentes enfermedades, entre ellas *Leptospira*.

Tipos de muestras colectadas

Muestras de suero

Para el presente estudio fueron colectadas muestras de suero obtenidas por punción venosa a partir de los siguientes puntos: vena auricular (cerdos), vena yugular (ovinos, caprinos, equinos, caninos), vena coccígea (bovinos, dasipódidos), vena femoral (ursidos) y vena safena lateral (roedores) utilizando tubos de recolecta de sangre al vacío sin anticoagulante (Vacutainer; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). Los tubos colectados fueron rotulados y registrados con los datos de cada hato, especie animal, identificación animal, género y edad. En caso de animales silvestres pequeños, sólo se registró lugar de captura, especie animal y género. Las muestras fueron transportadas en refrigeración al departamento de Virología de la FMZ-UANL para su procesamiento. Las muestras fueron centrifugadas a 2,500 rpm/5 minutos para la separación del suero en tubos de microcentrífuga rotulados con la identificación del animal y almacenados en un congelador a una temperatura de -20 °C hasta su uso (INDRE 2021).

Muestras de orina

Para la colección de muestras de orina en animales domésticos, se administró el diurético DIURIDE 500 (furosemida 5g; Agrovvet Market, Tlaquepaque, Jalisco), utilizando las siguientes dosis: en cerdos, ovinos y caprinos se utilizó una dosis de 0.4 mg/kg, en bovinos y equinos 1 mg/kg y caninos 0.2 mg/kg por vía intravenosa. La orina fue colectada en tubos estériles de 50 mL, los cuáles fueron envueltos en papel aluminio para evitar el contacto directo con las radiaciones solares y rotuladas con los datos de cada animal (Hamond et al. 2014).

Muestras medioambientales

Se obtuvieron 60 muestras de agua de diferentes fuentes, ríos, pozos de agua, charcos, presas y bebederos de animales, cercanas o dentro de cada unidad de producción pecuaria. Se recolectó 50 mL en tubos cónicos estériles cubiertos con papel aluminio para protegerlos de la radiación ultravioleta y transportados a temperatura ambiente al departamento de virología de la FMVZ-UANL (Chávez et al. 2018).

También se obtuvieron 20 muestras de tierra de áreas húmedas dentro de los corrales de los animales, en los almacenes de comida y en las orillas de los cuerpos de agua. Recolectando de 10-15 g por muestra con ayuda de una pala de suelo almacenado en bolsas de plástico de sellado hermético estériles y protegidos de la radiación ultravioleta (Masuzawa et al. 2018).

Preparación de medios de cultivo de mantenimiento de cepario

El medio utilizado para el mantenimiento de las cepas de *Leptospira* fue el medio líquido COX modificado preparado de la siguiente manera: 0.3 g de caldo biotriptasa (17 g de peptona de caseína, 3 g de extracto de levadura y 6 g de cloruro de sodio; Becton Dickinson), 6 mL de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 200 µL de rojo fenol (Hycel, Jalisco, México) y 30 mg de ácido nalidixico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) disuelto en 150 ml de agua destilada. Se ajustó el pH a 7.2. Se

agregaron 9 mL de medio de cultivo líquido COX modificado a cada tubo de cultivo 16 x 150 mm c/tapa de baquelita (Pyrex, Loira, Francia) y esterilizado por autoclave a 121 °C por 20 minutos (Baseman 1966).

Mantenimiento de viabilidad del cepario

Para mantener la viabilidad de todas las serovariedades de *Leptospira* y así poder emitir un resultado confiable, cada cepa fue resembrada en un tiempo no mayor a tres semanas y no menor a cuatro días (Zuerner 2006).

Purificación del cepario de *Leptospira*

La purificación del cepario se llevó a cabo con el fin de mantener la pureza de cada serovariedad de *Leptospira* que fue contaminada por otro microorganismo. Con una jeringa de 3 ml, se obtuvieron 2 mL de medio de cultivo contaminado, la jeringa con el contenido fue fijado en un filtro para jeringa (Millex Millipore[®]) con membrana de 0.20 µm vaciando el contenido en un tubo con medio de cultivo COX modificado estéril. El cultivo fue revisado semanalmente a través de un microscopio de campo oscuro para verificar el crecimiento de las bacterias y que no presentara material contaminante (Zuerner 2006).

Preparación del medio de cultivo para aislamiento de *Leptospira*

El medio utilizado para el aislamiento de *Leptospira* fue el medio líquido Fletcher modificado, preparado de la siguiente forma: 0.1 g de NaCl, 0.06 g de caldo biotriptasa, 0.04 g de extracto de carne y 0.025 g de ácido nalidixico. Se preparó con 200 mL de agua destilada. Se ajustó el pH a 7.2 y se esterilizó a 121 °C durante 20 minutos (Reed et al. 2000).

Preparación de la Solución tampón salina de fosfatos modificado (PBS)

La preparación del PBS modificado de trabajo se realizó de la siguiente manera: 27 mL de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) 71 mM y 63 mL de fosfato de potasio dibásico (K₂HPO₄) 50 mM, se aforó a 500 mL con agua destilada, se ajustó el pH a 7.2 y se esterilizó en autoclave a 121 °C por 20 minutos (WOAH 2021).

Criterio de uso de prueba serológica

La prueba de elección para la determinación de la frecuencia de anticuerpos anti-*Leptospira* fue la prueba de microaglutinación en placa (MAT), establecida como la prueba de oro para estudios de epidemiología por parte de la OMS y WOA. El punto de corte para la determinación de una muestra positiva fue: una aglutinación $\geq 50\%$ a partir de una dilución 1:100 hacia una o más serovariedades de *Leptospira* observadas a través de un microscopio de campo oscuro (WOAH 2021).

Batería de antígeno de *Leptospira*

El antígeno utilizado para la prueba de MAT constó de una batería de 10 serovariedades pertenecientes a ocho serogrupos diferentes (**Tabla 1**).

Tabla 1. Lista de serovariedades utilizadas para la prueba de MAT

Especie	Serovariedad	Serogrupo	Cepa
<i>L. interrogans</i>	Bratislava	Australis	Jes-Bratislava
	Canicola	Canicola	Hond Utrech IV
	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
	Pomona	Pomona	Pomona
	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
	Hardjo	Sejroe	Hardjoprajitno
<i>L. borgpetersenii</i>	Wolffi	Sejroe	3707
	Tarassovi	Tarassovi	Peperelitsin
<i>L. kirschneri</i>	Hardjo	Sejroe	Hardjo Bovis
	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V

Procedimiento de realización de prueba de microaglutinación en placa (MAT)

Preparación de dilución inicial

En un tubo de ensayo de 20 mL se preparó la dilución inicial de cada muestra de suero para tener una dilución 1:25 (2.4 mL de PBS y 100 µL de suero) (WOAH 2021).

Trabajo en microplaca

Una microplaca de 96 pozos para inmunoensayos fue colocada de manera vertical, se dividió en dos partes para procesar dos muestras de suero diferentes (M1 y M2) por cada microplaca. Las columnas A-D correspondieron para la muestra M1 y las columnas E-H pertenecieron a la muestra M2. Para la preparación de M1, se depositaron 50 µL de PBS en columnas B-D. Posteriormente, se agregaron 50 µL de dilución inicial de cada muestra en la columna A-B. Después se realizaron diluciones dobles seriadas de la siguiente manera: primero se homogenizó el contenido de la columna B mediante pipeteo. Después se transfirieron 50µl a la siguiente columna. Se repitió el mismo procedimiento para la tercera y cuarta columna. Finalmente, se tomaron 50 µl de muestra de la columna D, el cuál fue desechado. Se repitió el mismo procedimiento para la muestra M2 utilizando las columnas E-H. Al final se obtuvieron las siguientes diluciones en la microplaca: columna A y E 1:25, B y F 1:50, C y G 1:100, D y H 1: 200 (Goris y Hartskeerl 2014).

Colocación de la batería de *Leptospira* en placa

La fórmula para conocer la cantidad necesaria de cepas fue:

$$N * 50 \mu\text{L} * 4 \text{ pozos} = \text{Cantidad de antígeno de } \textit{Leptospira} \text{ a utilizar } (\mu\text{l})$$

Donde: N = Número de muestras procesadas; 50 µL = cantidad de antígeno colocado por pozo; 4 pozos = Número total de pozos a colocar el antígeno.

La preparación del antígeno se llevó a cabo dentro de una campana de bioseguridad nivel II para evitar la contaminación. El antígeno de trabajo colectado se almacenó en reservorios de PVC de 10 canales. Una vez obtenido la cantidad necesaria de antígeno, se colocaron 50 µL

en todos los pozos con muestra. Al final, se obtuvieron las siguientes diluciones A y E 1:50, B y F 1:100, C y G 1:200, D y H 1:400 (Goris y Harstkeerl 2014).

Prueba bacteriológica de aislamiento

Por cada muestra de orina y órgano obtenida se prepararon tubos con 10 ml de medio de cultivo líquido Fletcher modificado. Las muestras de orina fueron colocadas en medio de cultivo líquido Fletcher modificado a razón de 1:10 (un mililitro de orina en nueve mililitros de medio de cultivo líquido) para su transporte al laboratorio e incubadas a 29 °C. Las muestras de órganos fueron maceradas de forma física en un crisol con cinco mililitros de PBS. Del macerado se obtuvo un mililitro de muestra con jeringa y se incubó en nueve mililitros de medio de cultivo Fletcher modificado a 29 °C. Las muestras incubadas fueron observadas tres veces por semana durante nueve semanas a través de microscopio de campo oscuro para ver el posible movimiento de las bacterias. Aquellas muestras en las que se observó movimiento característico de *Leptospira* se sometieron a la prueba de microaglutinación en placa para su caracterización serológica (Santos et al. 2007).

Análisis estadístico

Para el cálculo de la prevalencia se utilizó la siguiente fórmula: prevalencia = animales positivos a MAT/total de animales muestreados. Para la determinación de los factores de riesgo (Odds Ratio) se realizó un análisis en dos etapas. El análisis univariado se realizó utilizando una prueba de chi cuadrada (χ^2). Las variables que demostraron un valor de $P < 0.05$ fueron seleccionados para el análisis multivariado, el cuál fue realizado utilizando un análisis de regresión logística múltiple con selección paso a paso con un nivel de significancia de 95%. Las variables cuyo valor de regresión fue > 1 fueron consideradas como factores de riesgo. Mientras que las variables cuyo valor de regresión fue < 1 fueron considerados como factor de protección. Todos los análisis fueron realizados utilizando el programa de cómputo SPSS ver. 25 (IBM; Armonk, NY, USA) (Hosmer y Lemeshow 2000).

RESULTADOS

Detección serológica de *Leptospira*

La prevalencia general de leptospirosis en el Noreste de México fue de 22.04% (IC_{95%} 19.8%-23.76%), con una reacción a la batería completa de antígenos (**Tabla 2**). Las serovariedades más predominantes en la región fueron Hardjoprajitno, Bratislava, Icterohaemorrhagiae y Canicola.

Tabla 2. Seroprevalencia general de leptospirosis por especie animal en el Noreste de México

Especie	Número de animales (N)	Número de positivos a MAT	Prevalencia	IC _{95%}
Oso	35	5	14.29%	2.69%-25.88%
Neotoma	25	0	0.00%	NA*
Rata	20	5	25.00%	6.02%-43.98%
Ratón	15	3	20.00%	5.25%-40.24%
Armadillo	6	0	0.00%	NA*
Zorro	1	1	100.00%	100%-100%
Caprino	560	138	24.64%	21.07%-28.21%
Ovino	613	75	12.23%	9.64%-14.83%
Bovino	149	75	50.68%	42.31%-58.36%
Canino	40	13	32.50%	17.98%-42.02%
Equino	61	20	32.79%	21.01%-44.57%
Cerdo	93	22	23.66%	15.02%-32.29%
Gallinas	18	7	38.89%	16.49%-61.29%
Humano	120	26	21.67%	14.30%-29.04%
Total	1728	377	21.82%	19.87%-23.76%

*NA: No hubo resultado

Por especie animal, en bovinos se obtuvo una prevalencia del 50.38% (IC_{95%} 42.31%-58.36%). Hardjoprajitno tuvo una frecuencia de 70.67% (IC_{95%} 60.36%-80.97%), Pyrogenes 25.33% (IC_{95%} 15.49%-35.18%) e Icterohaemorrhagiae 4% (IC_{95%} 0.33%-8.43%). En caninos domésticos fue obtenida una prevalencia de 32.50% (IC_{95%} 17.98%-42.02%) con reacción principalmente a las serovariedades Hardjobovis 46.15% (IC_{95%} 19.06%-73.25%),

Icterohaemorrhagiae 38.46% (IC_{95%} 12.01%-64.91%) y Canicola junto con Hardjoprajitno 7.69% (IC_{95%} 0.03%-22.18%). Los equinos obtuvieron una prevalencia del 32.79% (IC_{95%} 15.20%-39.70%) donde las serovariedades más frecuentes fueron Grippytyphosa 40.00% (IC_{95%} 18.53%-61.47%) Tarassovi 25.00% (IC_{95%} 6.02%-43.98%), Bratislava 20.00% (IC_{95%} 2.47%-37.53%), Wolffi 15.00% (IC_{95%} 0.10%-30.65%). En ratas se encontró una prevalencia de 25% (IC_{95%} 6.02%-43.98%) donde las serovariedades más frecuentes fueron Bratislava e Icterohaemorrhagiae 40% (IC_{95%} 20%-82.94%) y Canicola 20% (IC_{95%} 5.26%-55.06%). En caprinos se obtuvo una prevalencia de 24.64% (IC_{95%} 21.07-28.21), donde Hardjoprajitno fue la serovariedad más frecuente con una presencia del 47.83% (IC_{95%} 39.49%-59.16%), seguido de Bratislava 11.59% (IC_{95%} 6.25%-16.94%), Icterohaemorrhagiae 10.87% (IC_{95%} 5.68%-16.06%) y Hardjobovis 10.14% (IC_{95%} 5.11%-15.18%). En cerdos se obtuvo una seroprevalencia del 23.66% (IC_{95%} 15.02%-32.29%), destacando la presencia de las serovariedades Bratislava 63.64% (IC_{95%} 43.53%-83.74%), Canicola 13.64% (IC_{95%} 4.75%-27.98%) y Grippytyphosa e Icterohaemorrhagiae 9.09% (IC_{95%} 3.14%-21.10%). En seres humanos se obtuvo una prevalencia del 21.67% (IC_{95%} 14.30%-29.04%). Las serovariedades más comunes fueron Canicola 38.46% (19.79%-57.16%), Bratislava 30.77% (IC_{95%} 13.03%-48.51%) e Icterohaemorrhagiae 15.38% (IC_{95%} 1.52%-29.25%). En ratones se obtuvo una prevalencia de 20% (IC_{95%} 5.25%-40.24%), donde las serovariedades más frecuentes fueron Icterohaemorrhagiae 66.67% (IC_{95%} 13.32%-96.56%) y Bratislava 33.33% (IC_{95%} 6.79%-86.68%). Los osos presentaron una prevalencia de 14.29% (IC_{95%} 2.69%-25.88%). Las serovariedades más frecuentes fueron Icterohaemorrhagiae 60% (IC_{95%} 17.06%-96%) y Pyrogenes 20% (IC_{95%} 5.21%-55.06%). En ovinos se obtuvo una prevalencia de 12.23% (IC_{95%} 9.64%-14.83%), donde reaccionaron principalmente a las serovariedades Hardjoprajitno 38.67% (IC_{95%} 27.65%-49.69%), Icterohaemorrhagiae 13.33% (IC_{95%} 5.64%-21.03%) y Canicola junto a Pomona 12% (IC_{95%} 4.65%-19.35%). El único zorro resultó positivo a la serovariedad Canicola. Los neotomas y los armadillos no presentaron anticuerpos anti-*Leptospira*. Las gallinas presentaron una seropositividad de 38.89% (IC_{95%} 16.49%-61.29%), donde Pomona presentó una frecuencia de 71.43% (IC_{95%} 45.27%-97.59%) e Icterohaemorrhagiae 57.14% (28.48%-85.80%). Dos gallinas presentaron co-seropositivismo frente a estas dos serovariedades. Los títulos de dilución variaron entre especies desde 1:100 hasta 1:6400 (**Tabla 3**).

Tabla 3. Frecuencia de aglutininas anti-*Leptospira* acorde a la titulación máxima a nivel individual en animales silvestres y domésticos y seres humanos del noreste de México

Especie Animal	Serovariedad	Título de dilución						
		100	200	400	800	1600	3200	6400
Oso								
	Bratislava	0	1	0	0	0	0	0
	Pyrogenes	0	0	3	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	0	1	0	0	0	0	0
Rata gris								
	Bratislava	0	2	0	0	0	0	0
	Canicola	0	1	0	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	0	0	2	0	0	0	0
Ratón Común								
	Bratislava	0	0	1	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	0	0	1	0	1	0	0
Zorro gris								
	Canicola	0	0	0	0	0	1	0
Caprino								
	Bratislava	15	1	0	0	0	0	0
	Canicola	5	2	0	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	13	2	1	0	0	0	0
	Pomona	4	1	0	0	0	0	0
	Pyrogenes	3	0	0	0	0	0	0
	Hardjoprajitno	40	18	8	0	0	0	0
	Tarassovi	2	0	0	0	0	0	0
	Wolffi	5	5	0	0	0	0	0
	Hardjobovis	3	4	1	2	4	0	0

Tabla 3. Frecuencia de aglutininas anti-*Leptospira* acorde a la titulación máxima a nivel individual en animales silvestres y domésticos y seres humanos del Noreste de México. (Continuación)

Especie Animal	Serovariedad	Título de dilución						
		100	200	400	800	1600	3200	6400
Ovino								
	Bratislava	4	0	1	0	0	0	0
	Canicola	6	3	0	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	8	2	0	0	0	0	0
	Gryppotyphosa	2	0	0	0	0	0	0
	Pomona	7	2	0	0	0	0	0
	Pyrogenes	5	1	0	0	0	0	0
	Hardjoprajitno	20	7	2	0	0	0	0
	Tarassovi	1	0	0	0	0	0	0
	Wolffi	4	0	0	0	0	0	0
Bovino								
	Icterohaemorrhagiae	2	1	0	0	0	0	0
	Pyrogenes	10	7	1	0	0	1	0
	Hardjoprajitno	29	12	6	4	2	0	0
Canino								
	Canicola	0	0	0	0	1	0	0
	Icterohaemorrhagiae	0	0	0	1	1	1	2
	Hardjoprajitno	0	0	1	0	0	0	0
	Hardjobovis	4	0	0	1	1	0	0
Equino								
	Bratislava	4	0	0	0	0	0	0
	Grippytyphosa	2	0	2	0	4	0	0
	Tarassovi	5	0	0	0	0	0	0
	Wolffi	3	0	0	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	0	1	1	0	0	0	0

Tabla 3. Frecuencia de aglutininas anti-*Leptospira* acorde a la titulación máxima a nivel individual en animales silvestres y domésticos y seres humanos del Noreste de México. (Continuación)

Especie Animal	Serovariedad	Título de dilución						
		100	200	400	800	1600	3200	6400
Cerdo								
	Bratislava	2	0	2	7	3	0	0
	Canicola	3	0	0	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	2	0	0	0	0	0	0
	Grippe	2	0	0	0	0	0	0
	Pomona	1	0	0	0	0	0	0
Humano								
	Bratislava	0	4	4	0	0	0	0
	Canicola	0	10	0	0	0	0	0
	Icterohaemorrhagiae	0	1	1	1	1	0	0
	Pyrogenes	0	2	0	0	0	0	0
	Wolffi	0	2	0	0	0	0	0
Gallina								
	Icterohaemorrhagiae	2	0	2	0	0	0	0
	Pomona	2	2	1	0	0	0	0

Seroprevalencia por Estados

En Nuevo León, la prevalencia general fue de 30.65% (IC_{95%} 27.06%-34.24%), principalmente con las serovariedades Hardjoprajitno, Bratislava, Canicola e Icterohaemorrhagiae. A nivel municipal, la seroprevalencia general rondó entre el 8% al 100%, donde el municipio de Cerralvo presentó una menor prevalencia y el municipio de General Escobedo el de una mayor prevalencia (**Tabla 4**).

Tamaulipas presentó una seroprevalencia general del 17.81% (IC_{95%} 11.13%-33.31%), donde las serovariedades Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Pyrogenes fueron las más frecuentes. A nivel municipal, la seroprevalencia fluctuó de 0% a 42.86%, siendo

Ocampo el municipio que no presentó seroreacción y Soto la Marina el que presentó la mayor prevalencia (**Tabla 5**).

Coahuila de Zaragoza obtuvo una prevalencia general de 16.38%, reaccionando principalmente a las serovariedades Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes. A nivel municipal Torreón fue el que presentó una mayor prevalencia con 41.67% mientras que los municipios de Hidalgo y Monclova no presentaron seroreacciones (**Tabla 6**).

Tabla 4. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. en municipios de Nuevo León

Municipio	Numero de Muestras	Seropositivos	Prevalencia	IC _{95%}
Monterrey	17	8	47.06%	23.33%-70.79%
Marín	35	4	11.43%	0.89%-21.97%
San Nicolas de los Garza	18	4	22.22%	3.02%-41.43%
Cadereyta Jiménez	32	18	56.25%	39.06%-73.44%
Gral. Escobedo	6	6	100.00%	100%-100%
Galeana	12	4	33.33%	6.66%-60.01%
Cerralvo	25	2	8.00%	0.05%-18.63%
Higueras	14	4	28.57%	4.91%-52.24%
Montemorelos	25	7	28.00%	10.40%-45.60%
Mier y Noriega	31	3	9.68%	0.90%-20.09%
Linares	30	7	23.33%	8.20%-38.47%
Hualahuises	17	6	35.29%	12.58%-58.01%
Parás	8	4	50.00%	15.35%-84.65%
Gral. Bravo	42	31	73.81%	60.51%-87.11%
Guadalupe	12	8	66.67%	39.99%-93.34%
Anáhuac	31	8	25.81%	10.40%-41.21%
Allende	40	12	30.00%	15.80%-44.20%
Apodaca	7	2	28.57%	15.00%-62.04
Agualeguas	42	3	7.14%	0.48%-14.93%
Ciénega de Flores	25	3	12.00%	0.02%-24.74%
Dr. Arroyo	27	5	18.52%	3.87%-33.17%
Lampazos de Naranjo	42	17	40.48%	25.63%-55.32%
Melchor Ocampo	53	12	22.64%	11.37%-33.91%
Salinas Victoria	42	16	38.10%	23.41%-52.78%
Total	615	187	30.65%	27.06%-34.24%

Tabla 5. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. en municipios de Tamaulipas

Municipio	Numero de Muestras	Seropositivos	Prevalencia	IC _{95%}
Aldama	53	10	18.87%	8.33%-29.40%
Soto la Marina	49	21	42.86%	29.00%-56.71%
Ocampo	42	0	0.00%	NA*
El Mante	33	10	30.30%	14.62%-45.98%
Altamira	47	9	19.15%	7.90%-30.40%
Bustamante	60	5	8.33%	1.34%-15.33%
González	58	11	18.97%	8.88%-29.05%
Abasolo	62	7	11.29%	3.41%-19.17%
Casas	65	4	6.15%	0.31%-12.00%
Ciudad Tula	70	19	27.14%	16.73%-37.56%
Total	539	96	17.81%	14.58%-21.04%

*NA: No hubo resultado

Tabla 6. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. en el municipio de Coahuila de Zaragoza

Municipio	Numero de Muestras	Seropositivos	Prevalencia	IC _{95%}
Parras de la Fuente	54	12	22.22%	11.13%-33.31%
Matamoros	49	17	34.69%	21.37%-48.02%
Torreón	48	20	41.67%	27.72%-55.61%
Ramos Arizpe	52	7	13.46%	4.18%-22.74%
Saltillo	50	9	18.00%	7.35%-28.65%
Hidalgo	52	0	0.00%	NA*
Arteaga	42	7	16.67%	5.40%-27.94%
Acuña	43	5	11.63%	2.05%-21.21%
Zaragoza	42	8	19.05%	7.17%-30.92%
Allende	45	7	15.56%	4.97%-26.15%
Monclova	50	0	0.00%	NA*
Gral. Zepeda	47	2	4.26%	0.74%-10.03%
Total	574	94	16.38%	13.35%-19.40%

*NA: No hubo resultado

Seroprevalencia por Ecorregión

La prevalencia general de la ecorregión de grandes llanuras en el Noreste de México fue de 27.29% (IC_{95%} 24.04%-30.53%). Por especie animal fue obtenida una prevalencia de 100% en zorro gris, una prevalencia de 54.55% (IC_{95%} 37.56%-71.53%) en caninos domésticos; en gallinas 38.89% (IC_{95%} 16.37%-61.41%), en osos fue de 36.36% (IC_{95%} 7.94%-64.79%), en ratas 35.71% (IC_{95%} 10.61%-60.81%), en caprinos 29.95% (IC_{95%} 23.55%-36.35%), en humanos 27.27% (IC_{95%} 19.34-35.21%), en cerdos 25% (IC_{95%} 14.71%-35.29%), en ovinos 24.73% (IC_{95%} 18.46%-30.99%), en vacas 14.58% (IC_{95%} 4.60%-24.57%) y en ratones fue de 10% (IC_{95%} 0.51%-28.59%).

La prevalencia en general de la ecorregión Selvas Cálido-Secas fue de 18.73% (IC_{95%} 14.63%-22.84%). Por especie animal, la prevalencia en vacas fue de 46.99% (IC_{95%} (36.25%-57.73%)), en equinos fue de 33.33% (IC_{95%} 16.46%-50.20%), en caninos domésticos 12.50% (IC_{95%} 2.15%-35.42%), en caprinos 11.76% (IC_{95%} 5.51%-18.02) y en ovinos fue de 10.10% (IC_{95%} 4.16%-16.04%).

La prevalencia general de la ecorregión de Desiertos de América fue de 17.48% (IC_{95%} 14.53%-20.43%). Por especie animal, la prevalencia en vacas fue de 57.14% (IC_{95%} 40.75%-73.54%), en ratones fue de 40.00% (IC_{95%} 15.00%-82.94%), en caprinos 26.00% (IC_{95%} 20.56%-31.44%), en cerdos 20.00% (IC_{95%} 4.32%-35.68%), en equinos 19.05% (IC_{95%} 2.25%-35.84%), en el ser humano fue de 16.67% (IC_{95%} 2.41%-26.49%), en ovinos 10.28% (IC_{95%} 6.74%-13.83%), en osos fue de 10% (IC_{95%} 4.12%-15.88%) y en ratas como en caninos domésticos fue de 0%.

La prevalencia general en la ecorregión de Sierras Templadas fue de 16.67% (IC_{95%} 13.10%-20.23%). Por especie animal, la prevalencia en caprinos la prevalencia fue de 44.44% (IC_{95%} 34.18%-54.71%), en ovinos fue de 16.67% (IC_{95%} 11.22%-22.11%) y en osos fue de 0%.

Distribución espacial

Distribución de la seroprevalencia en municipios de Nuevo León

La leptospirosis es una enfermedad ampliamente distribuida entre los 26 municipios de Nuevo León, como se demuestra en la **Figura 5**. Donde la tonalidad más baja corresponde con los municipios de Cerralvo y Agualeguas, mientras que los colores más oscuros corresponden con los municipios General Escobedo y General Bravo que presentaron una seroprevalencia mayor.

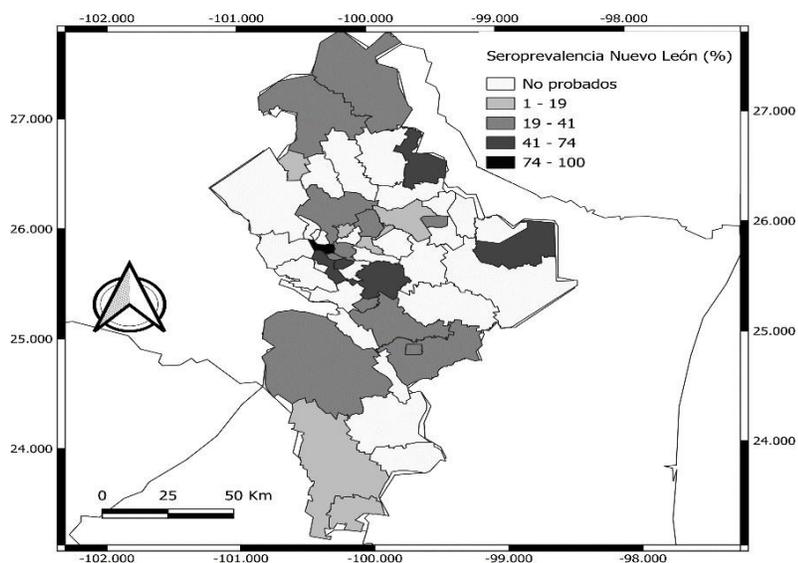


Figura 5. Mapa coroplético de la distribución de la seroprevalencia de leptospirosis en los municipios de Nuevo León

Distribución de la seroprevalencia en municipios de Tamaulipas

En el estado de Tamaulipas la leptospirosis se encuentra mayormente localizada en el municipio de Soto la Marina como se muestra en la **Figura 6**. Mientras que el municipio de Ocampo no presentó animales positivos.

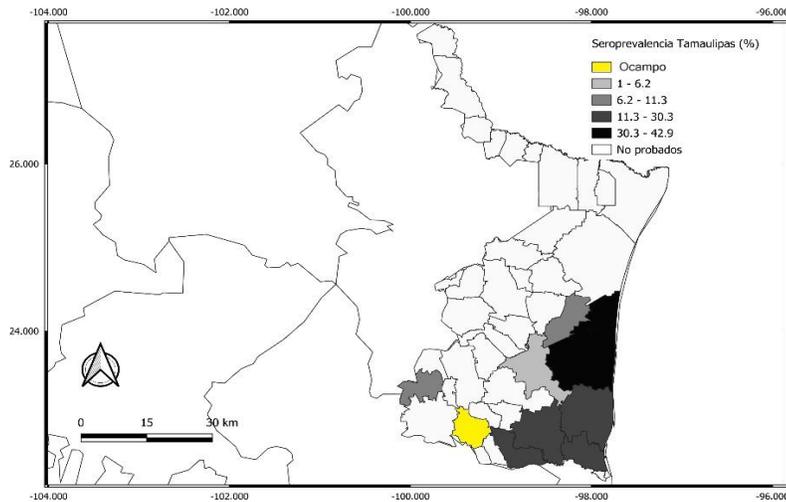


Figura 6. Mapa coroplético de la distribución de la seroprevalencia de leptospirosis en los municipios de Tamaulipas

Distribución de la seroprevalencia en municipios de Coahuila de Zaragoza

Al igual que en Nuevo León, la distribución de leptospirosis en Coahuila de Zaragoza es más homogénea entre los municipios analizados como se muestra en la **Figura 7**. El municipio de Torreón fue el que presentó la mayor seroprevalencia. Mientras que los municipios de Hidalgo y Monclova no presentaron muestras positivas a MAT.

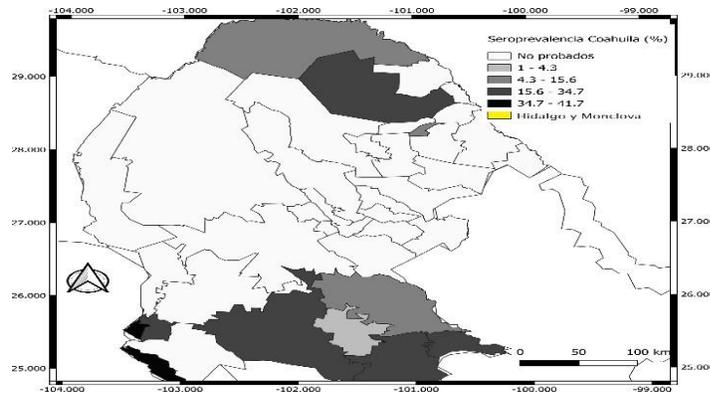


Figura 7. Mapa coroplético de la distribución de la seroprevalencia de leptospirosis en los municipios de Coahuila de Zaragoza

Distribución de las serovariedades *Hardjoprajitno*, *Bratislava*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola* y *Pyrogenes* en el Noreste de México

Las serovariedades *Hardjoprajitno*, *Bratislava*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola* y *Pomona* fueron las más frecuentes en Nuevo León (**Figura 8**) Tamaulipas (**Figura 9**) y Coahuila de Zaragoza (**Figura 10**), los cuáles demuestran una amplia distribución a lo largo de los tres estados.

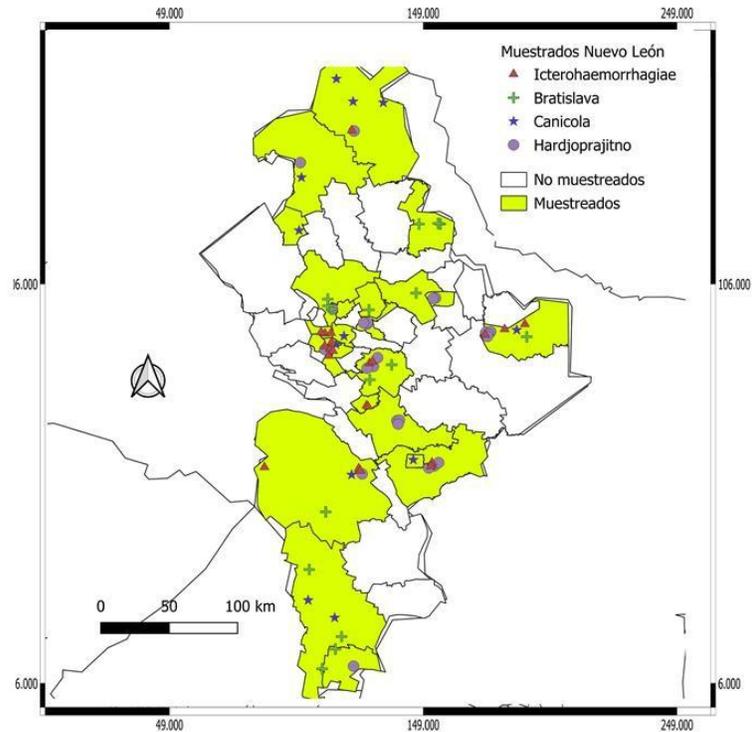


Figura 8. Mapa puntual de la distribución de las serovariedades *Hardjoprajitno*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola* y *Bratislava* en el estado de Nuevo León

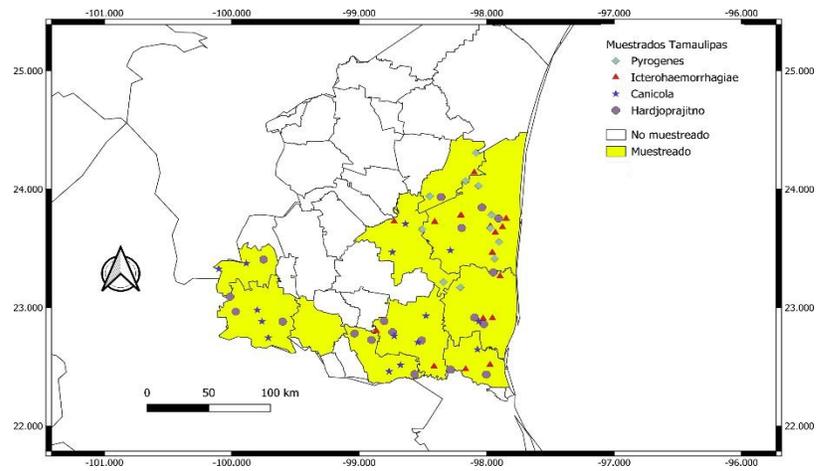


Figura 9. Mapa puntual de la distribución de las serovariedades Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Pyrogenes en el estado de Tamaulipas

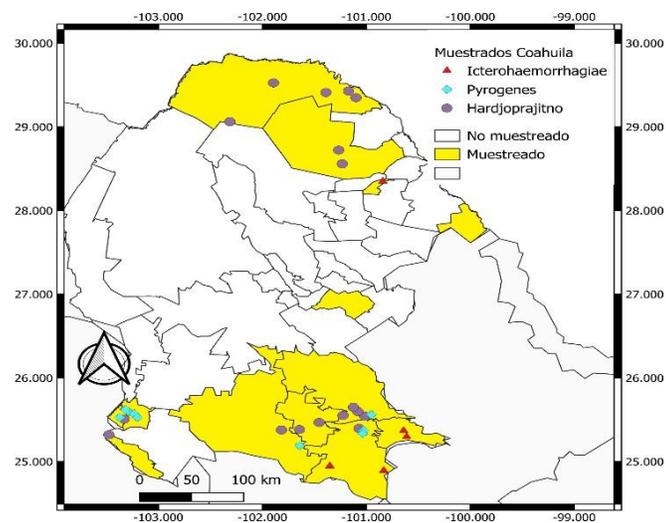


Figura 10. Mapa puntual de la distribución de las serovariedades Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes en el estado de Coahuila de Zaragoza

Factores de riesgo

Factores de riesgo en caprinos

Los factores de riesgo (odds ratio, OR) obtenidos como resultado del análisis multivariado de regresión logística se presentan en la **Tabla 7**, los cuales fueron los siguientes: ausencia de medidas de cuarentena (OR:3.328), contacto con cerdos ferales (OR:3.058), ausencia de

médico veterinario de cabecera (OR:2.175), contacto con bovinos domésticos (OR:2.118), sistema de producción de carne (OR:2.097) y bajo peso al nacer (OR:2.074).

Factores de riesgo en ovinos

Los factores de riesgo que ayudan a la presencia de leptospirosis en ovinos son: contacto con bovinos domésticos (OR:4.089), más de 100 ovinos por corral (OR:3.235), anomalías congénitas (OR:3.125), contacto con cerdos ferales (OR:3.113), sistema de producción de carne (OR:2.587), índice de preñez menor a 50% (OR:2.497), ausencia de médico veterinario de cabecera (OR:2.312) (**Tabla 7**).

Factores de riesgo en cerdos

Los factores de riesgo que facilitan la presencia de leptospirosis en cerdos en la región fueron: ausencia de tratamiento de agua para consumo animal (OR: 6.324), alimentación con desperdicios (OR:4.289), presencia de roedores (OR:2.715), ausencia de médico veterinario de cabecera (OR:2.169) (**Tabla7**).

Factores de riesgo en caninos domésticos

Los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de infecciones por leptospirosis en caninos domésticos fueron: Acceso al exterior (OR: 15.000), Caninos urbanos (OR:6.875), contacto con roedores (OR:5.343) y temporada de lluvias (OR:4.00) (**Tabla 7**)

Factores de riesgo en humanos

Los factores de riesgo que se identificaron en seres humanos fueron: ausencia de medidas de bioseguridad en el trabajo (OR:6.324), falta de higiene en la zona de trabajo (OR: 4.289), presencia de roedores en la zona de vivienda y trabajo (OR:2.715) y no visita regularmente al médico (OR:2.169) (**Tabla7**).

Factores de riesgo en bovinos

Los factores de riesgo en bovinos que se lograron identificar en este estudio fueron: ausencia de médico veterinario de cabecera (OR: 4.342, ausencia de vacunación (3.570) y sistema de producción semi-intensivo (2.289) (**Tabla 7**).

Factores de riesgo por Estado del Noreste de México

Los factores de riesgo obtenidos por estado fueron Nuevo León (OR:2.120), Tamaulipas (OR:0.700) y Coahuila (OR:0.602) (**Tabla 7**).

Factores de riesgo por ecorregiones

Las ecorregiones que resultaron como factores de riesgo y protector fueron grandes llanuras (OR:1.7481) y desiertos de Norteamérica (OR:0.6586). El resto de las ecorregiones no tuvieron asociación con leptospirosis (**Tabla7**).

Tabla 7. Análisis multivariado de factores de riesgo de leptospirosis en caprinos, ovinos, cerdos y seres humanos en el Noreste de México

Variable	Seropositivos	Seronegativos	Coefficiente de regresión	Error estándar	Valor P	OR	IC _{95%}
Caprinos							
Ausencia cuarentena	54	165	1.202	0.335	<0.001	3.328	1.726-6.416
Contacto con cerdos ferales	38	100	1.118	0.307	<0.001	3.058	1.675-5.582
Ausencia Médico veterinario	38	164	0.777	0.306	0.011	2.175	1.193-3.966
Contacto con bovinos	36	153	0.750	0.300	0.012	2.118	1.177-3.811
Sistema de producción de carne	42	196	0.740	0.328	0.024	2.097	1.102-3.989
Bajo peso al nacer	40	182	0.730	0.316	0.021	2.074	1.117-3.850
Ovinos							
Contacto con bovinos	40	175	1.408	0.385	<0.001	4.089	1.9240-8.692
≥ 100 animales	226	74	1.174	0.312	<0.001	3.235	1.755-5.965
Anormalidades congénitas	25	80	1.139	0.312	<0.001	3.125	1.694-5.764
Contacto con cerdos ferales	26	96	1.136	0.312	<0.001	3.113	1.690-5.735
Sistema de producción de carne	39	176	0.951	0.372	0.011	2.587	1.714-7.335
< 50% de preñez	45	171	0.915	0.324	0.005	2.497	1.324-4.709
Ausencia de médico veterinario	36	193	0.838	0.350	0.017	2.312	1.165-5 ³ .5 ⁹ 92

Tabla 7. Análisis multivariado de factores de riesgo de leptospirosis en caprinos, ovinos, cerdos y seres humanos en el Noreste de México (Continuación)

Variable	Seropositivos	Seronegativos	Coefficiente de regresión	Error estándar	Valor P	OR	IC _{95%}
Cerdos							
Ausencia de tratamiento de agua para consumo	42	17	0.862	0.305	0.001	6.324	3.142-9.359
Alimentación con desperdicio	49	25	0.641	0.368	0.042	4.289	3.528-6.027
Presencia de roedores	53	14	0.749	0.371	0.032	2.715	1.526-4.149
Ausencia de Médico veterinario	41	16	1.723	0.314	0.007	2.169	1.214-3.465
Caninos							
Acceso al exterior	12	13	2.708	1.111	0.015	15.000	1.701-132.25
Caninos urbanos	11	7	1.735	0.770	0.024	6.875	1.272-37.150
Contacto con roedores	8	4	1.504	0.726	0.038	5.343	1.267-22.523
Época de lluvias	10	18	1.897	0.775	0.014	4.000	1.048-15.259
Humanos							
Ausencia de bioseguridad en trabajo	14	6	0.791	0.395	0.024	6.324	3.412-9.359
Falta de Higiene en área de trabajo	16	9	0.714	0.341	0.002	4.289	3.528-6.027
Presencia de roedores en hogar y/o trabajo	20	10	1.259	0.310	0.049	2.715	1.526-4.149
No visita al médico	24	3	1.241	0.342	0.041	2.169	1.214-3.645
Bovinos							
Ausencia Médico Veterinario	60	35	1.469	0.372	0.001	4.342	2.095-9.000
Ausencia de vacunación	39	36	0.828	0.337	0.014	3.570	1.543-8.281
Sistema de producción semi-intensivo	43	32	0.272	0.330	0.017	2.289	1.183-4.428
Estados							
Nuevo León	187	428	0.753	0.118	0.001	2.12	1.680-2.678
Tamaulipas	96	443	-0.356	0.132	0.007	0.700	0.514-0.906
Coahuila	94	480	-0.506	0.132	0.001	0.602	0.465-0.780
Ecorregiones							
Grandes llanuras	194	510	0.559	0.117	0.001	1.7481	1.389-2.200
Desiertos de Norteamérica	111	524	-0.418	0.26	0.001	0.6586	0.514-0.843

Análisis bacteriológico

De las 167 muestras de orina cultivadas (40 bovinos, 35 caprinos, 32 ovinos, 30 cerdos, 14 ratones, 9 caninos y 7 armadillos), 60 muestras de agua y 20 de tierra, se observó crecimiento de bacterias con movimiento característico de *Leptospira* mediante microscopio de campo oscuro en 10 muestras de orina (2 bovinos, 3 cerdos, 3 caninos, 1 ratón y 1 cabra) y 1 muestra de agua. Estas fueron evidenciadas a partir de 3 semanas en bovinos, 5 semanas en cerdos, de 4 días a 6 meses en caninos, 5 meses en ratón y 9 días en cabras, posterior al cultivo. Las muestras fueron resembradas mediante filtración en medio de cultivo Fletcher modificado estéril para su descontaminación e incubadas a 29°C, con observaciones semanales para verificar el crecimiento óptimo de las bacterias y realizar la caracterización serológica (**Figura 11**).



Figura 11. Bacterias de *L. interrogans* aisladas a partir de una muestra de orina de canino

Caracterización serológica

Los dos aislamientos en muestras de orina en bovinos interactuaron contra el antisuero anti-*L. interrogans* serovar Hardjoprajitno. Las tres muestras de orina de cerdos reaccionaron contra el antisuero anti-*L. interrogans* serovar Bratislava. Las tres muestras de caninos tuvieron interacción contra el antisuero anti-*L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, además que una de estas también tuvo reacción con el antisuero anti-*L. interrogans* serovar Hardjoprajitno. La muestra de ratón aglutinó con el antisuero anti-*L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae. La muestra de cabra también interaccionó al antisuero anti-*L.*

interrogans serovar Hardjoprajitno. La muestra de agua tuvo reacción al antisuero *L. borpetersenii* serovar Hardjobovis.

Ante la presencia de una posible co-infección se optó por sembrar la muestra de canino, que reaccionó a dos serovariedades, en medio de cultivo Fletcher modificado sólido para lograr separar en colonias las serovariedades.

Cultivo en medio sólido Fletcher modificado

El crecimiento de las colonias se logró evidenciar a partir de las 3 semanas después de la siembra. De estas, se seleccionaron colonias típicas para su resiembra individual en medio de cultivo líquido Fletcher modificado para volver a confrontar cada una de las colonias contra los antisueros específicos para cada serovariedad de *Leptospira*. Se les dio seguimiento a veintiún colonias típicas de *Leptospira* con observaciones diarias por veinte días en microscopio de campo oscuro donde se vigiló el crecimiento óptimo. De estos cultivos, quince cepas reaccionaron al antisuero anti-*L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae y 6 cepas reaccionaron al antisuero anti-*L. interrogans* serovar Hardjoprajitno.

DISCUSIÓN

Los estudios enfocados en la distribución y detección de factores que favorecen la presencia de diferentes agentes zoonóticos son importantes para la designación de políticas enfocadas en la prevención, control y erradicación de las enfermedades provocadas por estos mismos (Robertson 2020). La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de gran interés mundial, debido a su condición cosmopolita y que afecta a una gran cantidad de animales tanto domésticos como silvestres. Alrededor del mundo se han implementado programas gubernamentales para la vigilancia epizootiológica de la leptospirosis. Sin embargo, en México, existe muy poca información sobre esta enfermedad en el país (Yescas-Benítez et al. 2023).

Debido a que en México no existen análisis sobre la prevalencia de la leptospirosis en seres humanos ni en animales, es difícil conocer la situación epidemiológica de esta enfermedad. Los resultados obtenidos proporcionan información de la prevalencia y distribución de diferentes serovariedades de *Leptospira* spp. en los estados de Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila de Zaragoza, los cuales comprenden el Noreste de México. La prevalencia general obtenida en el Noreste de México fue de 21.82%, aquí las serovariedades más frecuentes fueron Hardjoprajitno (39.52%), Bratislava (13.53%), Icterohaemorrhagiae (12.20%) y Canicola (8.49%), estos porcentajes son bajos comparados con un estudio similar realizado en Río Grande do Sul en Brasil donde la prevalencia general fue del 55.40% donde las serovariedades más frecuentes fueron Hardjo (50.56%), Icterohaemorrhagiae (9.35%), Australis (7.27%) y Celledoni (5.97%) (Polo et al. 2019). Por estado, Nuevo León presentó una prevalencia general de 30.41%, en Tamaulipas fue de 17.81% y en Coahuila de Zaragoza de 16.38%.

En el Noreste de México destacaron seis serovariedades de *Leptospira*, las cuales tuvieron una amplia distribución en los estados de esta región. *Leptospira interrogans* serovariedad Hardjoprajitno tuvo una distribución casi total en Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila de Zaragoza. *Leptospira interrogans* serovariedad Bratislava fue identificada únicamente en el estado de Nuevo León con una distribución casi total, donde la mayor concentración se dio en el centro y sur del estado. La serovariedad Bratislava está relacionada íntimamente con los cerdos, por lo que la presencia no solo de los cerdos domésticos, sino también silvestres

los cuáles tienen una amplia distribución en Nuevo León, pudieron jugar un papel fundamental en la transmisión y esparcimiento de esta serovariedad (Bertasio et al. 2020; Cilia et al. 2020). *Leptospira interrogans* serovariedad Icterohaemorrhagiae estuvo presente en los tres estados del Noreste de México. En Nuevo León su principal concentración se dio en la zona metropolitana de Monterrey, la cual es una zona muy industrializada y con mayor presencia de roedores, los cuáles son considerados los principales reservorios de esta serovariedad (Adler 2015). Así mismo en Tamaulipas, la serovariedad Icterohaemorrhagiae tuvo una mayor concentración en la zona costera del Golfo de México, esto posiblemente a la gran cantidad de roedores provenientes de los puertos los cuales pudieron jugar un papel fundamental en la presencia de esta serovariedad. En Coahuila de Zaragoza, la serovariedad Icterohaemorrhagiae se distribuye al igual que en Nuevo León, principalmente en la zona metropolitana, lo cual podría deberse a la misma razón a pesar de no ser tan industrializado. *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola se localizó únicamente en los estados de Nuevo León y Tamaulipas con una distribución casi total en ambos estados. Los caninos y roedores son los principales reservorios de esta, por lo que su presencia en los establos contribuye a su establecimiento y permanencia (Ellis 2015). *Leptospira interrogans* serovariedad Pyrogenes se encontró en los estados de Tamaulipas y Coahuila de Zaragoza, con una distribución muy específica en ambos. En Tamaulipas su distribución se concentró, al igual que la serovariedad Icterohaemorrhagiae, en los municipios costeros, mientras que en Coahuila de Zaragoza la principal concentración se localizó en el sur del estado. Existe evidencia de presencia de anticuerpos de esta serovariedad en diferentes especies animales. Sin embargo, no hay datos que establezcan a alguna especie animal como el principal reservorio de esta serovariedad (Bahaman e Ibrahim 1988; Felt et al. 2011; Gabriel-Vejar 2022; Hamond et al. 2022).

Los animales domésticos juegan un papel muy importante en el mantenimiento y la diseminación de la enfermedad en zonas endémicas de leptospirosis. Dentro de los animales domésticos, los animales de producción son considerados como hospedadores de distintas serovariedades patógenas de *Leptospira* como Hardjo, Bratislava, Autumnalis, Pomona, Wolffi, Tarassovi y Grippytyphosa (Ellis 2015; Di Azevedo y Lilenbaum 2021; Azócar-Aedo, 2023). Además, que, al ser animales con mucho movimiento debido a las importaciones y exportaciones entre estados y países, pueden introducir nuevas cepas

patógenas en regiones no endémicas (Harran et al. 2023). Las mascotas también son muy susceptibles a la leptospirosis, sobre todo, los carnívoros como los caninos y felinos. Estos animales, suelen infectarse al entrar en contacto con ratas y ratones infectados, además, al tener acceso al exterior, también pueden entrar en contacto con charcos u otros cuerpos de agua contaminados con la bacteria, con la capacidad de infectar a su dueño (Schuller et al. 2015).

La ganadería bovina es la segunda actividad productiva más difundida en las zonas rurales de México. La carne es el principal producto que se extrae en el ganado bovino y México produce alrededor de 2 millones de toneladas anuales del cuál el 85% se exporta a Estados Unidos. Mientras que, en la producción lechera, México produce 11 mil millones de litros anuales. El principal estado productor de leche en el Noreste de México es Coahuila, el cuál produce hasta mil millones de litros al año. Los bovinos obtuvieron una prevalencia general del 50.38% siendo positivos principalmente a la serovariedad Hardjoprajitno. En un estudio realizado por Motto et al. 2023, obtuvieron una prevalencia de 13% frente a la serovariedad Hardjo. Sin embargo, en estudios anteriores realizados por Carvajal-de la fuente et al. (2012) y Mendez et al. (2013) en el sur del estado de Tamaulipas, obtuvieron una prevalencia de 70.4% y 52% donde reaccionaron principalmente a las serovariedades Tarassovi y Hardjoprajitno respectivamente; en comparación con el presente trabajo el cuál se obtuvo una prevalencia de 43.71% reaccionando principalmente a la serovariedad Hardjoprajitno en ese mismo estado. Salinas et al. en 2007, obtuvieron una seroprevalencia de 46%, relativamente mayor a la registrada por nosotros de 33.33% en el estado de Nuevo León. Los bovinos, así como otros rumiantes son susceptibles a serovariedades dentro del serogrupo Sejroe (Sejroe, Balcanica, Hardjoprajitno, Hardjobovis, Wolffi), los cuales actúan como hospedadores y principales portadores de este serogrupo. Estas serovariedades suelen actuar de manera asintomática en los bovinos, causándoles únicamente un cuadro reproductivo caracterizado por abortos, mortinatos y baja en la producción de leche, causando un problema que se refleja con grandes pérdidas económicas para los grandes y pequeños productores. En Norteamérica, la principal serovariedad que afecta al bovino es Hardjobovis (Koyun, 2023). Sin embargo, en este estudio no hubo reacción por parte de los bovinos a esta serovariedad. Dentro de los factores de riesgo obtenidos en leptospirosis bovina figura la ausencia de médico veterinario de cabecera (OR:4.342). En estudios realizados en Brasil y en Ecuador

demonstraron que la asistencia de personal profesional especializado es esencial para el diagnóstico, tratamiento, profilaxis y control de la enfermedad (Campos et al. 2017; Perez-Ruano et al. 2020). Otro factor de riesgo importante en la leptospirosis bovina fue el no vacunar a los animales (OR:3.570). Además de tener asistencia de médico veterinario en las unidades de producción, también es importante la vacunación dentro los programas de control de la enfermedad debido a que se reducen significativamente los casos de leptospirosis y las pérdidas económicas, además de aumentar de manera indirecta la protección del ser humano (Barradas et al. 2014; Ferreira et al. 2017). La vacunación es el método más utilizado para el control de la leptospirosis. Un esquema de vacunación estándar comprende dos inmunizaciones con cuatro semanas de diferencia entre cada uno, seguido de refuerzos anuales (Wilson-Welder et al. 2021). En México, existen muchos productos comerciales los cuáles contienen las serovariedades presentes en la región como Hardjoprajitno, Wolffi, Bratislava, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi y Pomona. En este estudio solamente hubo cuatro hatos donde practicaban la vacunación, dentro de cuales tres hatos presentaron anticuerpos frente a las serovariedades vacunales, mientras que el otro hato presentó anticuerpos frente a serovariedades no presentes en la vacuna, por lo que se consideró como positivo. Para que una vacuna pueda cumplir su función no basta únicamente con administrarla, se requiere de un buen manejo de los animales, ya que, dependiendo de diferentes factores externos e internos, como edad del animal, especie animal, raza animal, tipo de sistema de producción y explotación y factores medioambientales juegan un papel muy importante en la eficacia de la vacunación (Sharma y Hinds 2012). Otro factor de riesgo obtenido fue el manejo en sistema de producción semi-extensiva (OR:2.289), El sistema semi-intensivo se basa en pastoreo y suplementación con alimento concentrado, por lo que se puede atribuir a un pobre manejo y al hecho que el confinamiento y hacinamiento de animales enfermos, aumenta el riesgo de contaminar el entorno e infectar a los demás animales. En contraste con este factor, hay estudios que afirman que el sistema intensivo actúa como factor de riesgo en estos animales, debido a la gran presencia de roedores, mal almacenamiento del alimento y a un contacto prolongado con otros animales dentro del mismo corral en este tipo de sistema de manejo (Dos Santos et al. 2012; Benseghir et al. 2020). Otros factores de riesgo establecidos en otros estudios abarcan: uso de agua de ríos o presas para consumo animal, presencia de animales silvestres y/o domésticos dentro del hato

y la falta de equipo de bioseguridad (Ismail et al. 2019; Pérez-Ruano et al. 2020; Montes y Monti 2021). Durante este estudio se logró el aislamiento de dos muestras de orina de bovinos, los cuales tardaron 3 semanas en tener un crecimiento óptimo. Ambas muestras fueron caracterizadas como *Leptospira interrogans* serovariedad Hardjoprjitno, la cual se ha visto en otros estudios que es muy común aislar esta serovariedad en bovinos (Salgado et al. 2015; Nally et al. 2018). Sin embargo, se ha logrado el aislamiento de otras serovariedades asociadas con otros animales domésticos (da Silva et al. 2008; Aliberti et al. 2022).

La infección por *Leptospira* en caninos suele ser causada por las serovariedades Canicola “Síndrome de Stuttgart” e Icterohaemorrhagiae “Síndrome de Weill”, las cuales causan un cuadro distinto de leptospirosis dependiendo de la serovariedad infectante. Cabe mencionar que ambas tienen potencial zoonótico y juegan un papel importante en la epidemiología de la leptospirosis humana. A diferencia de otras especies animales analizadas, la mayoría de las muestras de caninos fueron remitidas por diferentes centros veterinarios para descartar o confirmar una infección por leptospirosis, por lo que muchos de estos animales cursaban con un cuadro icterico, además de brindar un tratamiento específico contra *Leptospirosis* en varios pacientes. Una constante en la remisión de estas muestras, fue que todas fueron recibidas una semana posterior a lluvias torrenciales en el área metropolitana de Monterrey. Aun así, se obtuvo una seroprevalencia general en caninos de 32.50% principalmente a las serovariedades Hardjobovis, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Hardjoprjitno. En otros estudios realizados alrededor del mundo han obtenido frecuencias que van desde 45.3%-54.55% con reacción a las serovariedades Icterohaemorrhagiae y Canicola (Schuller et al. 2015; Saeki y Tanaka 2021). En México, se han establecido diferentes seroprevalencias en regiones tropicales de 21.3%-36.1% (Blum et al. 2012; Ortega-Gonzales et al. 2018). Como se mencionó anteriormente bacterias pertenecientes al serogrupo Sejroe (Hardjobovis y Hardjoprjitno) está asociada a bovinos, por lo que la presencia de estas serovariedades en caninos significa que estos animales tuvieron que convivir con bovinos infectados (Schuller et al. 2015). Hubo un caso en particular de una co-infección en canino que resultó positivo con títulos altos a las serovariedades Icterohaemorrhagiae, Hardjoprjitno y Hardjobovis. En estudios serológicos es muy común encontrar reacciones cruzadas entre miembros de un mismo serogrupo, por lo que la manera de identificar la serovariedad infectante es comparando los títulos de anticuerpos. Los caninos suelen actuar como la principal fuente de

contagios de leptospirosis en humanos transmitidos por animales. Por lo que un animal infectado suele transmitir la enfermedad a su dueño. Durante el desarrollo de este trabajo, se tuvo un caso de infección de un perro con cuadro icterico y que fue diagnosticado utilizando la técnica de MAT con títulos 1:800 a la serovariedad Icterohaemorrhagiae, se le brindó tratamiento con un hepatoprotector 2 ml subcutáneo y estreptomycin 10mg/kg por 5 días. Al animal se le notó mejoría a partir de las 48 horas y al concluir con el tratamiento, el perro siguió con su vida normal. Siete días posterior a la conclusión del tratamiento del animal, el dueño comenzó con sintomatología similar al de su mascota, por lo que se le recomendó asistir al médico, el cual se le confirmó una infección por leptospirosis. Los factores de riesgo obtenidos en caninos en este estudio fueron: Contacto con el exterior (OR:15.000). Los animales que tienen acceso al exterior tienen mayor predisposición a entrar en contacto con zonas contaminadas. Este resultado contrasta con el trabajo realizado por Abdul et al., donde ellos mencionan que el acceso al exterior no está relacionado con la presentación de la enfermedad (Abdul et al. 2021). En este estudio se observó que los perros domésticos de zonas urbanas incrementan 6.875 veces la aparición de leptospirosis canina que en perros domésticos en zonas rurales. A diferencia de otros trabajos en los que no hubo diferencia entre los caninos urbanos y rural, en este trabajo la mayoría de los casos positivos fueron de mascotas en zonas urbanas con acceso al exterior y la presencia de roedores tanto en la casa como en alrededores (Tamara et al. 2020). El contacto con roedores (OR:5.343) es un factor de riesgo muy común en la leptospirosis canina. La presencia de ratas y ratones ha sido un predictor importante en la seropositividad en caninos domésticos (Goh et al. 2019). La identificación temprana de estos predictores durante la historia clínica en una consulta, pueden ayudar a los veterinarios a dar con un diagnóstico correcto (Abdul et al. 2021). Las muestras obtenidas durante la época de lluvia (OR:4.000) obtuvieron una mayor seroprevalencia en comparación con las obtenidas en otras épocas del año. En otros estudios se ha observado que las precipitaciones aumentan los casos de seropositividad en animales en general y más en zonas endémicas (Kikuti et al. 2012; Taylor et al. 2021). A pesar de que en este estudio no hubo asociación entre la ausencia de vacunación y la presencia de la enfermedad, no se debe descartar que es una buena herramienta de control y profilaxis de la enfermedad, sobre todo, si el animal es rescatado, adoptado o si este va a tener acceso al exterior (Andre-Fontaine 2013; Taylor et al. 2022). De esta manera disminuye el riesgo de

infección en el animal y ser humano. En este estudio se logró el aislamiento de tres muestras de orina de caninos. Las tres muestras fueron caracterizadas como *Leptospira interrogans* serovariedad Icterohaemorrhagiae. El aislamiento de esta serovariedad en caninos ha sido descrito en estudios anteriores en Brasil (Miraglia et al. 2013; Jorge et al. 2015; Miotto et al. 2018). También se obtuvo un caso de co-infección de Icterohaemorrhagiae y *L. interrogans* serovar Hardjo cepa Hardjoprajitno. Estudios serológicos han demostrado que cepas del serogrupo Sejroe están asociadas a infecciones agudas e incluso se han logrado aislar de caninos asintomáticos (Rhul-Fehlert et al. 2000; Miotto et al. 2016). En México existen antecedentes de reportes de aislamiento de la serovariedad Canicola cepa portlande-vere la cuál es una cepa muy común en caninos de México causante de daños renales y hepáticos agudos (Luna 1993).

La leptospirosis equina suele ser común en regiones endémicas presentando 4 diferentes síndromes: ocular, caracterizada por una uveítis recurrente; hepato-renal con cuadros icterícos; pulmonar, caracterizado por una insuficiencia respiratoria aguda; reproductivo, causando problemas reproductivos en yeguas (Nogueira et al. 2020). En este estudio, el 9.84% de los equinos presentaron casos graves de aborto, acompañados con un síndrome respiratorio agudo. El resto de los animales no presentaron signos visibles, por lo que se puede asumir que eran portadores asintomáticos de la enfermedad. La prevalencia general obtenida en estos animales fue de 32.79%, la cuál es baja en comparación con otros estudios realizados en otros países, donde se han encontrado seroprevalencias que van desde 62.7% hasta 72.9% (Vera et al. 2019; Romanowski et al. 2023). Lamentablemente en México hay escasa información sobre leptospirosis en equinos en el país durante la última década, siendo el único trabajo el realizado por Méndez et al. (2013) los cuales obtuvieron una prevalencia de 70.8%. Las serovariedades más frecuentes encontradas en este trabajo fueron Grippytyphosa, Tarassovi, Bratislava y Wolffi, las cuales coinciden con las encontradas por Méndez et al. (2013) en caballos sin signos aparentes, a diferencia de otros estudios donde han obtenido una mayor frecuencia de las serovariedades Pomona, Australis y Copenhageni, los cuales han sido asociados a problemas oculares y respiratorios (Malalana et al. 2019; Hamond et al. 2015; Hamond et al. 2012; Toris-Suarez 2021). Sin embargo, en este estudio se observó la presencia de títulos de anticuerpos elevados de 1:800 a 1:1,600 contra Grippytyphosa en los animales con síndrome reproductivo y respiratorio. La mayor parte de

las muestras obtenidas correspondían a equinos utilizados para cabalgata, por lo que no fue posible recabar información para poder obtener factores de riesgo. A pesar de no haber podido establecer factores de riesgo para leptospirosis equina en la región, hay estudios que han establecido la convivencia con otros animales domésticos, principalmente a bovinos, cerdos y caninos. Otros factores que se han establecido han sido libre pastoreo, presencia de roedores en los almacenes de alimento, el uso de agua no tratada para el consumo de los animales y acceso a presas y ríos (Trimble et al. 2018; Baverud et al. 2009; Arent et al. 2015; Dewes et al. 2020). Al igual que en otras especies domésticas, la principal forma de profilaxis es la vacunación. Las vacunas si confiere buena protección, hay estudios que han demostrado títulos de anticuerpos que sobrepasan los 1:6,400 post-vacunación (Porr et al. 2023). Lamentablemente en México no se acostumbra a vacunar contra esta enfermedad en equinos por el desconocimiento por parte de los propietarios, por lo que es necesario asesorar a los propietarios sobre los beneficios de la vacunación en sus animales (Rohrbach et al. 2005).

Los pequeños rumiantes son muy importantes en la ganadería en el Noreste de México debido a que estas especies poseen una gran capacidad de adaptación a las condiciones adversas que se presentan en las regiones semiáridas y desérticas de la región y suelen ser la única actividad pecuaria de los ganaderos. Por lo que la presencia de diferentes enfermedades infecciosas que causen cuadros crónicos puede comprometer la economía de los ganaderos. La leptospirosis en pequeños rumiantes. La prevalencia obtenida en caprinos fue de 24.64% por lo que la ausencia de vacunación nos sugiere una infección natural. La seroprevalencia obtenida en este estudio fue menor comparado con otros estudios realizados en regiones con clima tropical como 92.73% en Veracruz, México; 83.4% y 76.3% en Brasil, 57% en Nueva Zelanda, 39% en Saint Kitts y 25% en Túnez y en una región semiárida en Colombia de 79.6% (Gabriel-Vejar et al. 2022; Viana et al. 2022; Silva et al. 2021; Fang et al. 2015; Shiokawa et al. 2019; Khbou et al. 2010; Guzmán- Barragán et al. 2021). Pero fue mayor que un estudio realizado en otra región semiárida en Brasil de 13.33% (de Araujo et al. 2022). En ovinos se obtuvo una seroprevalencia de 12.23%, el cuál fue menor en comparación con estudios realizados en Brasil y la India (de Carvalho et al. 2013; Balakrishnan et al. 2011) y mayor que un estudio realizado en Malasia de 5.03% (Abdul et al. 2021). La diferencia de prevalencias entre ovinos y caprinos se debe a que los ovinos poseen una resistencia natural

a la enfermedad a diferencia de las cabras, las cuales son más susceptibles a esta bacteria (Ellis 2015). De todas las muestras positivas, el 91.54% de los pequeños rumiantes obtuvieron títulos de anticuerpos de 1:100 y 1:200. La prueba de MAT es una técnica serológica que puede revelar el serogrupo más predominante en el hato y la magnitud de los títulos de anticuerpos depende de la exposición al patógeno de la población estudiada (Adler 2015). Debido a que los anticuerpos presentes en estos animales no fueron debido a vacunación, los títulos bajos encontrados (1:100-1:200) son un indicativo de una infección crónica. Sin embargo, dependiendo de la serovariedad y el momento de la infección, también puede indicar una infección reciente. La serovariedad más predominante en los pequeños rumiantes fue Hardjoprajitno, la cuál ha sido considerada como la de mayor reporte en pequeños rumiantes en el país (Gaytan-Camarillo et al. 2021; Gabriel-Vajar et al. 2022). Se ha establecido que infecciones por *Leptospira* spp. está relacionada con la convivencia con otros animales dentro de las unidades de producción, como el ganado bovino. Por lo que la presencia de estos animales en el hato aumenta 4.089 veces la probabilidad de infecciones por leptospirosis en ovinos y 2.118 en caprinos. La serovariedad Icterohaemorrhagiae fue la segunda más predominante en los pequeños rumiantes. A pesar de que los roedores han sido establecidos como los principales reservorios de esta serovariedad, no se encontró asociación entre la presencia de estos animales en el hato con infección por leptospirosis. La serovariedad Bratislava fue la tercera más predominante en los pequeños rumiantes del noreste de México. Los cerdos son los principales portadores de esta serovariedad y existen estudios que demuestran que los cerdos salvajes pueden diseminar esta enfermedad de manera eficiente (Poudel et al. 2020). Por lo que la presencia de estos cerdos ferales aumenta 3.113 veces la probabilidad de infecciones por *Leptospira* spp en ovinos y 3.058 veces la probabilidad en caprinos. En el modelo final de regresión lineal se encontró que los pequeños rumiantes destinados a un sistema de producción cárnica suelen tener 2.587 y 2.097 veces mayor probabilidad de infecciones por *Leptospira* en ovinos y caprinos respectivamente. Esto debido al manejo dado en estos sistemas de explotación, ya que a veces, y para ahorrar gastos, los productores no suelen dar tratamiento al agua de consumo o no suelen darle importancia a la higiene de los corrales lo que provoca la presencia de varias enfermedades (Caparros et al. 2005). La presencia de ≥ 100 animales dentro del mismo corral aumentan en 3.235 veces la probabilidad de presentar leptospirosis en ovinos. Entre mayor el número de

animales conglomerados, mayor la posibilidad de que un huésped susceptible se exponga a un agente etiológico (Adler, 2015). La ausencia de Médico veterinario de cabecera aumenta la probabilidad en 2.312 y 2.175 veces la probabilidad de infectarse con leptospirosis en ovinos y caprinos respectivamente. El no tener médico veterinario de cabecera dentro de las unidades de producción es un reflejo de la falta de conocimiento por parte de los productores en medidas de prevención y control de la leptospirosis. Es importante remarcar que la leptospirosis en animales de producción tiende a la cronicidad, lo que contribuye a la endemicidad de la infección y a la aparición de problemas reproductivos como mortinatos bajo peso al nacer (OR:2.074) y anomalías congénitas (OR:3.125). Cuando estos sucesos ocurren de manera esporádica y afectan a un número pequeño de animales, las pérdidas económicas son difíciles de medir y como la adopción de medidas de control y prevención no se realiza de manera rutinaria, los daños económicos resultan significativos a medio y largo plazo (Junqueira y Alfieri 2006).

La porcicultura es una actividad importante en México que proporciona una de las principales fuentes de alimentación para la población mexicana. Además de la importancia en el consumo, la producción contribuye a la generación de empleos e ingresos. De la producción porcina, no sólo se obtiene carne, sino también subproductos secundarios a este. En el Noreste de México existen muy pocas granjas porcícolas en comparación con otras regiones del país, sin embargo, tiene una gran producción de cabezas, llegando a poseer el tercer lugar a nivel nacional (SIAP 2020). La prevalencia obtenida en cerdos fue de 23.66% la cuál fue menor con otros estudios realizados en regiones con clima tropical como 55.9% en Colombia, 48.6% en Australia y 32.9% en el Oeste de Kenia (Calderón et al. 2014; Pearson et al. 2014; Ngugi et al. 2019), pero mayor que otros estudios realizados alrededor del mundo como 5% en Trinidad, 8.17% en Vietnam y 20% en Portugal (Suepaul et al. 2011; Lee et al. 2017; Rocha 1998). A nivel nacional, la prevalencia fue menor que estudios realizados en diferentes estados de la república donde obtuvieron prevalencias de 61% en Durango y 25% en Yucatán (Cruz-Romero et al. 2018; Vado-Solís et al. 2002). Este estudio demostró que las serovariedades Bratislava, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa fueron las más predominantes en los cerdos de la región. Los cerdos son considerados hospederos de las serovariedades Tarassovi, Pomona, Bratislava y Muenchen (Lee et al. 2019; Arent et al. 2016). Otros estudios demostraron que los cerdos ferales suelen hospedar las serovariedades

Bratislava, Pomona y Tarassovi, por lo que existe una probabilidad de que estos animales silvestres transmitan la enfermedad a los cerdos domésticos (Vale-Gonçalves 2015). Sin embargo, no existió alguna asociación entre la presencia de los cerdos ferales en la infección por leptospirosis en los cerdos domésticos. Los animales que si se vieron reflejados como un factor importante en las infecciones por *Leptospira* fueron los roedores, los cuales se vio que aumentan 2.715 veces la probabilidad de infección por *Leptospira* en cerdos domésticos. Como se mencionó anteriormente, los roedores son los principales hospedadores y transmisores de la serovariedad Icterohaemorrhagiae, por lo que la presencia de estos animales en los corrales fue la causa de encontrar esta serovariedad en los cerdos. Una limitante en este estudio fue la cantidad de cepas utilizadas, ya que se ha visto en otros estudios la presencia de las serovariedades Pyogenes y Panamá (Lee et al. 2019). Además de no poder analizar a los jabalíes ni cerdos ferales de la región para hacer comparaciones entre estos animales silvestres y los domésticos. Otros factores que permiten la presencia de leptospirosis en cerdos domésticos en el Noreste de México fueron los siguientes: ausencia de tratamiento de agua para consumo (OR:6.324). El uso de agua sin tratar en animales suele ser una práctica común en unidades de traspatio. Estas fuentes de agua suelen contener una gran cantidad de microorganismos patógenos, entre ellos *Leptospira* por lo que se ha visto en otros estudios que el uso de agua no tratada para consumo animal suele ser un factor de riesgo para los animales (Delbem et al. 2002; Favero et al. 2002; Brito et al. 2019). Es importante resaltar que, al observar las muestras de agua en varias unidades de producción a través de microscopio de campo oscuro, se observó la presencia de protozoarios. La alimentación con desperdicio aumenta 4.289 veces la probabilidad de infección por leptospirosis en cerdos domésticos. Esta también es una práctica común en explotaciones de traspatio. El uso de desperdicios en la alimentación de los animales conlleva un riesgo muy alto para la salud pública, debido a que la alimentación puede contener microorganismos zoonóticos altamente patógenos que pudieran llegar a causar epidemias en animales domésticos y seres humanos (Behera et al. 2021). La ausencia de asistencia veterinaria aumenta 2.169 veces la probabilidad de infecciones por leptospirosis. Es importante educar a los productores sobre la importancia de una detección temprana, tratamiento y prevención de infecciones por *Leptospira* spp. para minimizar el riesgo de una transmisión zoonótica a seres humanos y a otras especies animales. También es crucial implementar medidas como

un mejor alojamiento, control de roedores y proveer asistencia veterinaria para controlar la enfermedad (dos Santos et al. 2023). Durante el estudio se logró el aislamiento de tres muestras de orina de cerdo, las cuales al ser competidas con antisueros reaccionaron específicamente contra sueros que contenían aglutininas contra la serovariedad Bratislava. Cabe mencionar que las bacterias tardaron 5 semanas en obtener un crecimiento óptimo para su caracterización serológica. Los tres animales provienen de la misma unidad de producción en Nuevo León el cuál maneja un sistema de traspatio. A pesar de que los animales se veían clínicamente sanos, los dueños reportaban problemas reproductivos. La serovariedad Bratislava es la responsable de generar problemas reproductivos en cerdos, ocasionando abortos y mortinatos en cualquier fase de la preñez (Lee et al. 2019).

Los animales silvestres juegan un papel muy importante en la epidemiología de la leptospirosis. Debido a su naturaleza, estos animales vagan por sus territorios en busca de alimento, por lo que suelen transportar múltiples enfermedades y diseminarlas durante sus trayectos. Se ha visto que la presencia de anticuerpos frente a *Leptospira* spp. en animales silvestres es un indicativo de las serovariedades circulantes entre los animales domésticos en la región, ya que, los animales silvestres suelen infectarse cuando entran en contacto con hatos bovinos, caprinos, ovinos y porcinos (Karpagam y Ganesh 2020). La expansión urbana ha incrementado la exposición a los animales silvestres, lo que aumenta la oportunidad de que se vuelvan dependientes a recursos alimenticios antropogénico. Estos recursos atraen a la fauna silvestre a estos nuevos entornos (Baruch-Mordo et al. 2014). Los osos suelen aprovecharse con éxito de estos recursos en zonas urbanas y suburbanas debido a su inteligencia y a sus hábitos alimentarios omnívoros (Gilbert 1989). En México, el oso negro (*Ursus americanus*) está considerad como una especie en peligro de extinción debido a la pérdida de su hábitat natural y a la caza ilegal. Únicamente las poblaciones de oso en Sierra del Burro, Coahuila cuentan con una protección especial (CONABIO 2011). En el Noreste de México, existe un aumento en las interacciones entre humanos y osos negros debido a la presencia de depósitos de basura en las zonas suburbanas, los cuales son recursos perpetuos para los osos debido a la alta disponibilidad de alimento independientemente de la estación del año o las condiciones medioambientales (Montiel-Reyes et al. 2014). Otra problemática es la deforestación y el cambio de uso de suelo para actividades agropecuarias que han provocado la pérdida del hábitat del oso. Al percibir que sus hábitats ya no son adecuados

para el mantenimiento de la población, los osos se desplazan buscando fuentes de alimento y si se le suma la expansión de la población humana, la interacción humano-oso incrementa. Los osos involucrados en estas interacciones han causado daño a las propiedades y a los cultivos, además de depredar el ganado, causando represalias por parte los seres humanos que los cazan. También la interacción con animales domésticos ha causado un incremento en la morbilidad de diferentes enfermedades infectocontagiosas como parvovirus canino, toxoplasmosis, erliquiosis y leptospirosis (Bard y Cain 2019). La prevalencia en osos en este estudio fue de 14.29%, la cuál es baja en comparación en otros estudios realizados en Estados Unidos, donde obtuvieron prevalencias desde 23% a las serovariedades *Icterohaemorrhagiae*, Bratislava y Canicola, hasta 90% únicamente a *Grippotyphosa* (Bronson et al. 2014; Sasmal et al. 2019). Los osos suelen actuar como hospederos accidentales de diferentes serovariedades de *Leptospira* spp. Por lo que es considerado como una especie capaz de perpetuar la enfermedad entre animales domésticos y ser humano (Binninger 1980). Lamentablemente no existe registro de leptospirosis en poblaciones de osos americanos en México, por lo que es necesario continuar con más estudios en México para establecer una prevalencia total en otras regiones del país y de esta manera conocer la distribución de la enfermedad en el oso americano.

Las ratas silvestres (*Rattus* spp.) principalmente la rata noruega (*Rattus Norvegicus*) y la rata negra (*Rattus rattus*), además del ratón común o domestico (*Mus musculus*), son abundantes en las zonas peri domésticas y reconocidas como los principales hospedadores y transmisores de *Leptospira* spp. Estos roedores son portadores crónicos asintomáticos que mantienen a las bacterias en los túbulos renales (Sterling y Thiermann 1981). También se ha visto que son transmisores de una gran cantidad de serovariedades patógenas de *Leptospira* spp. con la capacidad de causar infecciones en el ser humano y animales domésticos y silvestres (Hathaway y Blackmore 1981). La prevalencia en ratas fue de 25% frente a las serovariedades Bratislava, *Icterohaemorrhagiae* y Canicola. La seroprevalencia obtenida en este estudio fue menor comparado con otros estudios realizados alrededor del mundo como 60% en Finlandia, 50% en Portugal, 44.1% en Estados Unidos y 36.1% en Francia (Rislakki y Salminen 1955; Ferreira et al. 2014; Easterbrook et al. 2007; Socolovschi et al. 2011). Pero fue mayor otros estudios realizados alrededor del mundo como 1.2% en Reino Unido 16.7% en Suecia y 18.2% en Italia (Broom y Gibson 1953; Strand et al. 2015; Amaddeo et al. 1996).

En México se han hecho estudios en regiones tropicales que han obtenido prevalencias entre 6.2%-15.0% observando la presencia de anticuerpos frente a las serovariedades Bratislava, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Wolffi y Tarassovi (Montes et al. 2002; Pantimay et al. 2017; Torres-Castro et al. 2016; Vado-Solís 2002). Mientras que la serovariedad obtenida en este estudio en ratón común fue de 20% el cuál fue menor que en estudios realizados en zonas tropicales de Sudamérica y el Caribe como 42% en Argentina, 28.2% en Barbados y 20.4% en Colombia (Vanasco et al. 2003; Mathias y Levett 2002; Romero-Vivas et al. 2013). Los roedores peridomésticos han sido clasificados como fuentes de muchas enfermedades zoonóticas que resultan en una elevada morbilidad y mortalidad en el ser humano y animales domésticos, siendo la leptospirosis una de las principales zoonosis transmitidas por roedores. En este estudio se observó una mayor prevalencia en roedores capturados en zonas rurales que en las urbanas. Así mismo, dentro de los roedores rurales, se observó una mayor prevalencia en los roedores capturados en los hatos porcinos. A diferencia de los otros roedores analizados en el presente estudio, los neotomas nopaleros (*Neotoma leucodon*) no presentaron anticuerpos frente *Leptospira* spp. Lo cual concuerda con los reportes de Rodríguez-Rojas (2020) en Nuevo León, Quintana Roo y Campeche, donde no lograron encontrar neotomas positivos; sin embargo, lograron identificar positivos en otras especies de roedores silvestres como el ratón de bolsillo de Nelson (*Chaetodipus nelsoni*), la rata canguro de Merriam (*Dipodomys merriami*), el ratón de abazones (*Heteromys gaumeri*), el ratón espinoso mexicano (*Liomys irroratus*), el ratón ciervo (*Peromyscus maniculatus*) y la rata café (*Sigmodon hispidus*). En otros estudios alrededor de México se ha logrado identificar a los roedores silvestres ratón pigmeo sureño (*Baiomys musculus*), rata de arroz de Alfaro (*Oryzomys alfaroi*), ratón de patas blancas (*Peromyscus leucopus*), ratón de la Malinche (*Peromyscus levipes*), ratón cosechero común (*Reithrodontomys megalotis*), rata arrocera de agua (*Oryzomys couesi*) y rata trepadora de orejas grandes (*Otodylomys phyllotis*) (Méndez et al. 2013; González-Dardayrol 2004; Sotomayor-Bonilla et al. 2009; Espinoza-Martínez et al. 2015). Los neotomas juegan un papel muy importante en el ecosistema. Estos animales dispersan semillas y favorecen la regeneración forestal (Nathan y Müller-Landau 2000). En las regiones rurales son utilizadas como fuente de alimento debido a sus diversas propiedades alimenticias considerado como un alimento inocuo. Sin embargo, se ha visto que estos animales son portadores de diversos parásitos entre nemátodos (*Trichuris*

neotomae, *Nematodirus neotoma* y *Ascarops* spp.), cestodos (*Raillietina* sp y *Taenia taeniaeformis*) y trematodos (*Scaphiostomum* sp. y *Zonorchis* sp.) (Charles et al. 2011), por lo que son capaces de transmitir estos parásitos a sus depredadores, entre ellos los seres humanos (Fichet-Calvet et al. 2003).

Dentro de los mamíferos silvestres pequeños, podemos destacar a los armadillos de nueve bandas (*Dasypus novemcinctus*). Este animal posee una distribución amplia, desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina. En México, su distribución abarca todo el Noreste de México, el oriente de Chihuahua, el altiplano central y todo el sur del país. Este animal es considerado plaga porque provoca daños a pastizales y cultivos, además de ser reservorios de diferentes agentes patógenos zoonóticos como *Mycobacterium leprae*, *Trypanosoma cruzi*, *Salmonella* spp, *Toxoplasma gondii* y *Borrelia burgdorferi* (Vera-cabrera et al. 2022; Costa et al. 2008; Sanchez 2015). En este estudio no se obtuvo seroprevalencia en armadillos de nueve bandas. Sin embargo, otros estudios realizados en el norte y sur de América han obtenido prevalencias de 38% en Estados Unidos, 23% en Argentina y 9.68% en Brasil (Stuart et al. 1977; Carrillo et al. 1972; Costa et al. 2008). También se ha visto presencia de anticuerpos en otras especies de armadillos como 31% en armadillos amarillos (*Euphractus sexcinctus*), 18% en armadillo gigante (*Priodontes maximus*) y 23.3% en armadillos peludos (*Chaetophractus villosus*) frente a las serovariedades Autumnalis, Cynopteri, Castellonis, Icterohaemorrhagiae, Hardjo y Pomona (Kin et al. 2015; Dalazen et al. 2019). También se ha logrado el aislamiento a partir de riñones en armadillos de nueve bandas, en armadillos de seis bandas y en armadillos vellosos de los serotipos Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Pomona, Bataviae y Hardjo (Liceras y Sulzer 1984; Myers et al. 1977). A pesar de no haber encontrado leptospirosis en estos animales, no se descarta que estos animales puedan ser transmisores de enfermedades zoonóticas en la región, un espécimen resultó positivo a *Mycobacterium leprae* (Vera-Cabrera et al. 2022). Las interacciones armadillo-humano va más allá del contacto directo. La carne de este animal es apreciada para su consumo en varias comunidades del sur del país y en restaurantes como platillo gourmet, además de ser utilizados para remedios curativos y artesanías. También su caparazón ha sido utilizado para confeccionar instrumentos musicales (Layne 2003). Como ya se ha visto, estas interacciones pueden causar grandes problemas para la salud humana e incluso la muerte.

La zorra gris (*Urocyon cinercoergerus*) es uno de los canidos silvestres de mayor distribución y abundancia en México (Hernández-Camacho et al. 2010). Además, este animal posee una gran tolerancia hacia los humanos y animales domésticos lo que incrementa las posibilidades de transmisión de patógenos (Reyes-Novelo et al. 2011). A diferencia de las otras especies muestreadas, la única muestra obtenida de zorra gris fue remitida por la dependencia Parques y Fauna Silvestre de Nuevo León. Los responsables de la dependencia mencionaron que el animal había muerto de manera repentina y a la necropsia se observaron lesiones en hígado y riñones. La muestra fue probada contra diferentes enfermedades, donde se descartó infección por adenovirus tipo 1. Por lo que se procedió a realizar la técnica de MAT, obteniendo un resultado positivo para *L. interrogans* serovariedad Canicola con títulos de 3,200. En México ya existía evidencia de leptospirosis en zorras grises que reaccionaron frente a las serovariedades Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffi (Hernández-Camacho 2010). Los zorros grises son carnívoros por naturaleza, siendo los pequeños roedores parte de su dieta, por lo que la ingesta de estos roedores portadores de la bacteria es la principal vía de infecciones en los canidos silvestres (Zamora-Ledesma 2016). Hay que resaltar que este canido silvestre es capaz de albergar una gran cantidad de agentes patógenos. Trabajos en Estados Unidos han revelado la presencia de parásitos, bacterias y virus zoonóticos en zorro gris (Buechner 1944, Dyer 1984, Davidson et al. 1992; Ubelaker et al. 2015).

La leptospirosis humana puede tener varios cursos, una asintomática subclínica, una anictérica febril con presencia de hemorragias y daño pulmonar o un síndrome icterico severo conocido como enfermedad de Weil, caracterizado por hemorragias, insuficiencia hepática y renal aguda, ictericia la cuál posee una muy alta mortalidad. Está establecido que la leptospirosis es una enfermedad ocupacional, por lo que existen profesiones con mayor probabilidad de adquirir la enfermedad. Aun así, el resto de personas no están exentos de infectarse. En este estudio se obtuvo una prevalencia general del 21.67% en seres humanos, principalmente en trabajadores de hatos porcinos y médicos veterinarios. Las serovariedades más frecuentes fueron Canicola, Bratislava e Icterohaemorrhagiae. Las serovariedades Canicola e Icterohaemorrhagiae están asociadas a los caninos y a los roedores. Mientras que la serovariedad Bratislava se asocia principalmente a los cerdos domésticos y silvestres, por lo que las personas entraron en contacto con estas serovariedades al convivir directamente

con estos animales dentro de su trabajo y/o en su hogar. Sin embargo, no se encontró asociación entre la convivencia con animales y la leptospirosis. La prevalencia en este estudio fue menor a la obtenida en Uruguay, reportándose una prevalencia mayor al 45% en personas con riesgo laboral (Meny et al. 2019). Escandón-Vargas et al. reportaron una prevalencia de 12% en Colombia (Escandón-Vargas et al. 2017).

En México también se han realizado varios estudios sobre la seroprevalencia de leptospirosis humana donde se obtuvieron resultados variados rondando desde 13% hasta 70% (Zavala-Velázquez et al. 1984; Vado-Solís 2002; Velasco-Castrejón et al. 2009; Sánchez-Montes 2015). En estudios de casos por millón de habitantes, realizados en el Norte de México, se determinó que en el periodo de 2013-2019 en el estado de Coahuila de Zaragoza se obtuvo un total de 50 casos, en Tamaulipas obtuvo se describieron un total de 10 casos por cada millón de habitantes y en Nuevo León se obtuvo un total de 2.4 casos por cada millón de habitantes (Yescas-Benítez 2020). Otro estudio realizado en trabajadores de rastros en Tamaulipas se obtuvo una prevalencia de 8.2% (Velasco-Castrejón et al. 2009).

Con respecto a los factores de riesgo, en nuestros resultados obtuvimos que la ausencia de medidas de bioseguridad en el trabajo (OR:6.324) fue un factor de riesgo. El no usar la vestimenta completa o no usar el equipo necesario durante la manipulación de los animales es una práctica muy común dentro de los hatos y en algunos centros veterinarios. Hay evidencia que este tipo de prácticas aumenta la probabilidad de infectarse no solamente de leptospirosis sino también de varias enfermedades zoonóticas potencialmente mortales (Gibbens et al. 2001; Villaroel et al. 2007; Wolff et al. 2017; Abdulhameed et al. 2018). Otro factor observado identificado fue falta de higiene en la zona de trabajo (OR:4.289). Se ha estipulado que algunos brotes de leptospirosis se han presentado debido a una escasa sanidad ambiental, ya que estos lugares ayudan a la transmisión de la enfermedad (Ullmann y Langoni 2011; Reis et al. 2008). El mantener el área de trabajo sin higiene atrae a los roedores, y su presencia (OR: 2.715) aumenta la probabilidad de infectarse por leptospirosis. En estudios realizados en México también se ha visto que la presencia de ratones dentro de las granjas aumenta la probabilidad de contraer leptospirosis (Leal-Castellanos et al. 2003). Otro de los principales factores de riesgo establecidos en zonas rurales es la dificultad de recibir atención médica (Tri et al. 2023; Porusia et al. 2021). En este estudio se confirmó que

este factor sí aumenta la probabilidad de contraer la enfermedad (OR:2.169), por ello, es importante realizarse estudios con regularidad y llevar un control de la salud personal. En México, no es muy común realizarse estudios de rutina sobre el control de salud. La mayoría de las personas visitan al médico solamente cuando la enfermedad ya ha comenzado, inclusive cuando está ya está muy avanzada, reduciendo las probabilidades de una recuperación adecuada (León-Bórquez et al. 2018). Al igual que en los animales, es importante la prevención de la leptospirosis en el ser humano. En varios países han incluido la vacunación contra la leptospirosis dentro de sus esquemas de vacunación, sobre todo en la población más susceptible. Esta medida ha logrado disminuir los casos anuales de leptospirosis de manera significativa y por consecuencia, reducir las pérdidas económicas debido a la baja en la productividad humana. (Yupiana et al. 2020; Yupiana et al. 2021; Agampodi et al. 2023).

En general, los animales provenientes de Nuevo León poseen 2.12 veces mayor probabilidad de presentar leptospirosis que los obtenidos en Tamaulipas (OR: 0.7002) o Coahuila de Zaragoza (OR:0.6027) los cuales se establecieron como factores de protección Además, que existen antecedentes de altas prevalencias en diferentes especies animales y ser humano, por lo que pueden ser considerados zonas de bajo riesgo, sin embargo, este sigue estando latente en esos estados (Cantú-Covarrubias y Banda Ruíz 1995; Rodríguez et al. 2014; Carvajal-de la Fuente et al. 2012; Yescas-Benítez et al. 2023).

Dentro de las ecorregiones localizadas en el Noreste de México, las grandes Llanuras de Norteamérica fue la región ecológica con mayor prevalencia (27.56%) la cuál posee mayor posibilidad (OR:1.7481) de leptospirosis en animales y ser humano en el Noreste de México. A diferencia de la ecorregión Desiertos de Norteamérica (OR:0.6586) la cuál actúo como factor protector. Las condiciones climatológicas juegan un papel muy importante en la presentación de la leptospirosis, ya que, requiere de una temperatura templada con una humedad relativa alta para poder sobrevivir en el medio ambiente (Karpagam y Ganesh 2020). Las grandes Llanuras se caracterizan por poseer una amplia variedad de clima durante todo el año, con inviernos fríos y veranos cálidos con alta humedad. También posee varias temporadas de sequía las cuales duran por un periodo prolongado. Por otro lado, La ecorregión de desiertos de Norteamérica se caracteriza por presentar regiones áridas y

semiáridas con veranos muy calientes y lluvias ocasionales e inviernos muy fríos, además de presentar un índice de evaporación muy alto, por lo que disminuye la capacidad de supervivencia de la bacteria en el medio ambiente. La mayoría de las muestras obtenidas en esta ecorregión correspondieron con los meses marzo-agosto lo que probablemente contribuyó en la gran cantidad de muestras seropositivas en las llanuras de Norteamérica en contraste con desierto de Norteamérica. Alrededor del mundo se han hecho estudios de leptospirosis en diferentes especies de animales en zonas semidesérticas y desérticas con resultados variables. Sin embargo, estas seroprevalencias no logran sobrepasar a los resultados obtenidos en las regiones tropicales (da Silva et al. 2017; Mgode et al. 2021; Guzmán-Barragán et al. 2021; Viana et al. 2022). En México también se han encontrado resultados similares en regiones semiáridas con resultados seroprevalencias considerables (Alvares et al. 2005). A pesar de ser considerada como una enfermedad tropical, no se encontró asociación entre las ecorregiones selva cálida-seca y sierra templada y la presencia de leptospirosis en animales, los cuáles poseen una mayor cantidad de precipitación anual en comparación con llanuras de Norteamérica.

Para enfrentar con éxito a la leptospirosis es imprescindible conocer primero la situación epidemiológica de la enfermedad. Se deben realizar esfuerzos para educar a la población sobre la leptospirosis, que conozcan los riesgos de la enfermedad y como prevenirla.

La finalidad del manejo y tratamiento del animal contra la leptospirosis por parte del médico veterinario es poder parar y controlar la aparición de nuevos casos, lo cual es sencillo si se realiza y un diagnóstico correcto y temprano (Tubiana et al. 2013), por lo cual se requiere implementar medidas que mejoren el diagnóstico durante la fase aguda para así asegurar una mejor prognosis (Toyokawa et al. 2011). Tanto el diagnóstico clínico como la investigación poseen un alto margen de mejora en países en desarrollo, debido a que los médicos y veterinarios no sospechan de leptospirosis dentro de sus primeros diagnósticos diferenciales. En México, se suele asociar a la sintomatología de leptospirosis con otras enfermedades febriles más conocidas, como dengue, chikungunya y hepatitis en el ser humano o brucelosis, adenovirus, neosporosis, clamidiasis o erliquiosis en animales (SS 2012; Luna 2008; Cárdenas-Marrufo y Pech-Sosa 2023), por lo que es necesario que los médicos y veterinarios estén actualizados en la nueva información sobre leptospirosis y así puedan incluir a esta

enfermedad dentro de sus posibles sospechas en sus diagnósticos diferenciales. También es menester, educar a las personas expuestas a la bacteria debido a su campo laboral. Los granjeros, médicos veterinarios y trabajadores de rastros deben utilizar el equipamiento adecuado: camisa de manga larga, pantalón largo y guantes protectores para evitar la entrada de la bacteria a través de la piel. En caso de los trabajadores que tienen contacto con cuerpos de agua, principalmente, aguas residuales, utilizar un traje a prueba de agua (Ghasemian et al. 2020).

La forma principal de profilaxis y control de la enfermedad es mediante la vacunación, pero para poder establecer un buen esquema de vacunación es necesario conocer las serovariedades circulantes en la región. La prueba de microaglutinación en placa es el estándar de oro para el diagnóstico de la leptospirosis dentro de los hatos. Esta técnica que se basa en la presencia de anticuerpos IgM e IgG en los sueros de los animales y seres humanos, detecta aglutininas específicas para cada serogrupo (Goris y Hartskeerl 2014; Goarant 2016). Estos anticuerpos suelen ser detectables a partir del sexto al décimo día post infección, alcanzando su pico al mes (Ahmad et al. 2005). Por lo que, para conocer las serovariedades circulantes, es necesario utilizar cepas de referencia y competirlas con sueros de animales endémicos (Goarant 2016).

Los estudios epidemiológicos de prevalencia y distribución son una herramienta necesaria para poder establecer programas para el control de la leptospirosis, no solamente en los animales y ser humano, sino también en el medio ambiente, para esto es necesario seguir con estudios que complementen la información aquí plasmada. Esto sería un primer paso para lograr combatir la enfermedad y evitar que se siga diseminando, causando grandes problemas económicos en los productores de todo el país.

CONCLUSIÓN

Este trabajo demuestra la presencia y circulación de cepas patógenas de *Leptospira* spp, así como las variables bióticas y abióticas que predisponen la aparición de la bacteria en diferentes animales domésticos, silvestres y el ser humano. Las acciones de los seres humanos son la clave para poder controlar la transmisión de la enfermedad entre los animales mediante la prevención. Este estudio presenta resultados que ayudan a la implementación de programas de control y prevención de la leptospirosis en los animales y como consecuencia en el ser humano. Implementar medidas de prevención como reducir el contacto de los animales con reservorios animales como los roedores y a medioambientales como cuerpos de agua, así como manejar esquemas de vacunación contra *Leptospira* que contengan las serovariedades presentes en cada región ayudarían al control de la enfermedad. Por lo que es importante asesorar a los productores, propietarios de mascotas, médicos veterinarios y médicos sobre las características epidemiológicas, los riesgos y consecuencias que conllevan las infecciones por leptospirosis en la salud animal y pública.

PERSPECTIVAS

Dados los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede expandir la información tomando en cuenta los siguientes puntos como futuras investigaciones y así aumentar la información sobre la presencia, permanencia y prevención de la leptospirosis en animales domésticos, silvestres y ser humano en el Noreste de México.

- Expandir el muestreo a más animales silvestres de la región incluyendo venados, cerdos ferales y marsupiales.
- Establecer los principales factores de riesgo que predisponen la aparición de leptospirosis en equinos
- Es necesario realizar más estudios en las regiones semiáridas para observar el rol que juegan los animales domésticos y silvestres en la transmisión de la enfermedad.
- Poner a prueba vacunas que incluyan todas las serovariedades presentes en la región.

REFERENCIAS

- Abdul MS, Hua K, Khairani-Bejo S, Fong S, Mazlan M, Azri M. 2021. Risk and predictive factors of leptospirosis in dogs diagnosed with kidney and/or liver disease in Selangor, Malaysia. *Animals*. 11: 3405.
- Abdulhameed MF, Habib I, Al-Azizz SA, Robertson I. 2018. Knowledge, awareness and practices regarding cystic echinococcosis among livestock farmers in Basrah Province, Iraq. *Journal of Veterinary Science* 5: 17-26.
- Adler B. 2015. *Current Topics in Microbiology and Immunology: Leptospira and Leptospirosis*. Archives of Neurology. Springer, New York.
- Adler B, de la Peña M. 2010. *Leptospira* and Leptospirosis. *Journal of Veterinary Microbiology* 140: 287-296.
- Agampodi S, Gunarathna S, Lee JS, Excler JL. 2023. Global, regional, and country-level cost of leptospirosis due to loss of productivity in humans. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 17: e0011291.
- Ahmad SN, Shah S, Ahmad FM. 2005. Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine* 51: 195-200.
- Aliberti A, Blanda V, Di Marco V, Macaluso G, Galluzzo P, Bertasio C, Sciacca C, Arcuri F, D'Agostino R, Ippolito D, Pruiti F, Torina A, Grippi F. 2022. *Leptospira interrogans* serogroup Pomona in a dairy cattle farm in a multi-host zotechnical system. *Journal of Veterinary Science* 9: 83.
- Alstom J, Broom J. 1958. *Leptospirosis in man and animals*. E&S Livingstone, Edinburgh pp. 56-59.
- Alvarez MA, Rosas DG, Vasquez CN, García FS. (2005). Retrospective seroprevalence study of bovine leptospirosis in Mexico considering the ecological regions. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 57(1), 28-31.

Amaddeo D, Ieradi LA, Autorino GL, Perella D. 1996. Leptospirosis in wild rodents living in wild rodents living in urban áreas (Rome-Italy). Proceedings of the I European Congress of Manvnlology 105-114.

Andre-Fontaine G. (2013). Diagnosis algorithm for leptospirosis in dogs: disease and vaccination effects on the serological results. Veterinary Record 172(19): 502-502.

Arent Z, Gilmore C, Brem S, Ellis WA. 2015. Molecular studies on European equine isolates of *Leptospira interrogans* serovars Bratislava and Muenchen. Journal of Infection, Genetics and Evolution 34: 26-31.

Arent Z, Frizzell C, Gilmore C, Allen A, Ellis WA. 2016. *Leptospira interrogans* serovars Bratislava and Muenchen animal infections: implications for epidemiology and control. Journal of Veterinary Microbiology 190:19-26.

Astudillo V, Bustamante JA, Bonilla A, Lehmicke AJ, Castillo A, Astudillo M. 2016. Synanthropic Cockroaches (Blattidae: Periplaneta spp.) Harbor Pathogenic *Leptospira* in Colombia. Journal of Medical Entomology 53:177-82.

Aymée L, Di Azevedo MI, Gregg W, Ezepha C, Carvalho-Costa FA, Lilenbaum W. 2023. Succesful treatment with streptomycin of genital leptospirosis in naturally infected cows under field conditions 164: 105020

Azócar-Aedo. 2023. Basic aspects and epidemiological studies on leptospirosis carried out in animals in Chile: A bibliographic review. Journal of Tropical Medicine and Infectious Disease 8: 97.

Bahaman AR, Ibrahim AL. 1988. A review of leptospirosis in Malaysia. Veterinary Research Communication 12(2): 179-189.

Balakrishnan G, Govindarajan R, Meenambigai TV, Manohar M. 2011. Seroprevalence of leptospirosis among sheep in Tamilnadu. Journal of Veterinary and Animal Science 7: 285-289.

Bard SM, Cain JW. 2019. Pathogen prevalence in american black bears (*Ursus americanus amblyceps*) of the Jemez mountains in New Mexico, USA. Journal of Wildlife Diseases 55: 745-754.

- Barradas AL, Vieira RJ, Augusto EE, Leal LM, Leite FA, Campos AP, Moreira EC, Lima FA. 2014. Evaluation of leptospirosis control through vaccination in a cattle dairy farm in the state of Piauí. *Arquivos do Instituto Biológico* 81: 202-208.
- Baruch-Mordo S, Wilson KR, Lewis DL, Broderick J, Mao JS, Breck SW. 2014. Stochasticity in natural forage production affects use of urban áreas by black bears: Implications to management of human-bear conflicts. *PLoS ONE* 9: e85122.
- Basemen JB, Hennerberry RC, Cox CD. 1966. Isolation and growth of *Leptospira* in artificial media. *Journal of Bacteriology* 91: 1374-1375.
- Baverud V, Gunnarson A, Engvall EO, Franzén P, Egenvall A. 2009. *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica* 51: 15.
- Behera SK, Sabarinath T, Singh R, Hota A, Chandra S, Kumar A, Kumar S, Sahu R, Ram M, Balasubramanian G, Rialch A. 2021. Risk factors associated with porcine leptospirosis in Uttar Pradesh, India. *Journal of Animal Research* 11:561-570.
- Benseghir H, Amara-Korba A, Azzag N, Hezil D, Ghalmi F. 2020. Seroprevalence of and associated risk factors for *Leptospira interrogans* serovar Hardjo infection in cattle in Setif, Algeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology* 21(3), 185-191.
- Bertasio C, Papetti A, Scaltriti E, Tagliabue S, D'Incau M, Boniotti MB. 2020. Serological survey and molecular typing reveal new *Leptospira* serogroup Pomona strains among pigs of Northern Italy. *Pathogens* 9:332.
- Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gilman RH, Willig MR, Gotuzzo E, Vinetz JM. 2003. Leptospirosis: A zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases* 3: 757-771.
- Binninger CE, Beecham JJ, Thomas LA, Winward LD. 1980. A serologic survey selected infectious diseases of black bears in Idaho. *Journal of Wildlife Diseases* 16:423-430.
- Blum SC, Dzib M, Maldonado MG, Nuñez LA, Caballero R, Tamay-Segovia P, Gómez-Solano MI. 2013. Detección de caninos reaccionantes a *Leptospira* en la ciudad de Campeche, México. *Revista Argentina de Microbiología*. 45(1): 34-38.

- Brito CV, Antonio L, da Silva PJ, Baltazar JM, Pinheiro JW, Friguglietti D. 2019. Risk factors associated with leptospirosis in swine in state of Pernambuco, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico* 86: 1-8.
- Bronson E, Spiker H, Driscoll CP. 2014. Serosurvey for selected pathogens in free-ranging American Black Bears (*Ursus americanus*) in Maryland, USA. *Journal of Wildlife Diseases* 50: 829-836.
- Broom JC, Gibson EA. 1953. Infection rates of *Rattus norvegicus* with *Leptospira icterohaemorrhagiae* in Great Britain. *Journal of Hygiene (London)* 51:416-425.
- Buechner HK. 1944. Helminths parasites of the gray fox. *Journal of Mammalogy* 25: 185-188.
- Calderon A, Rodriguez V, Mattar S, Arrieta G. 2014. Leptospirosis in pigs, dogs, rodents, humans and water in an area of the Colombian tropics. *Journal of Animal Health and Production* 46:427-432.
- Campos, A., Higino, D., Soares, H., Carneiro, M., Chaves, G., Barradas, A., Castro, V., Santos, S., de Sousa, S., 2017. Seroprevalence and Risk factors for leptospirosis in cattle, sheep, and goats, at consorted rearing from the state of Piauí, northeastern Brazil. *Tropical. Animal. Health & Production* 49: 899-907.
- Cantú-Covarrubias A, Banda-Ruíz VM. Seroprevalencia de leptospirosis bovina en tres municipios del sur de Tamaulipas. *Revista Mexicana de Ciencias Agropecuarias* 33: 121-123.
- Caparrós JA, Burghi VH, LaPeña AJ. 2005. Manejo sanitario del hato caprino. *Proyecto Regional Caprino* 1:3-14.
- Cárdenas-Marrufo MF, Pech-Sosa NR. 2023. Leptospirosis in Yucatán. From Hideyo Noguchi to the present Time. *Revista Biomédica* 34: 259-268.
- Carrada-Bravo T. 2005. Leptospirosis humana. Historia natural, diagnóstico y tratamiento. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio* 52: 246-256.

Carrera R, Lira-Torres I. 2015. Manual para resolver conflictos entre las actividades humanas y el oso negro (*Ursus americanus* Pallas, 1780) en el Parque Nacional Cumbres de Monterrey: Consideraciones técnicas para la prevención de daños, el uso de herramientas no-letales y el manejo de ejemplares. Laboratorio de Fauna Silvestre, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León/ Parque Nacional Cumbres de Monterrey/ Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas/ Protección de la Fauna Mexicana, A.C. (En Prensa)

Carrera R, Zarco MM, Monroy-Vilchis O. 2018. Manejo y conservación del oso negro (*Ursus americanus*) en México. En situación actual de los grandes depredadores. Ediciones Académicas Colofón. Ciudad de México. 137-154.

Carrillo CG, Myers D, Szyfres B, 1972. Bataviae group *Leptospirae* isolated from armadillos in Argentina. Tropical and Geographical Medicine 24: 377-381.

Carvajal - de la Fuente V, Zapata-Campos C, Loredó-Osti J, López-Zavala R, Jasso-Obregón J, Martínez-Bautista E. 2012. Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis (*L. interrogans*) in bovine cattle in northeastern México. The Thai Journal of Veterinary Medicine 42:7-12

Chadsuthi S, Bicout DJ, Wiratsudakul A, Suwancharoen D, Pelkanchanapong W, Modchang C, Triampo W, Ratanakorn P, Chalvet-Monfray K. 2017. Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010-2015. PLoS Neglected Tropical Diseases 11: e0005228.

Charles RA, Kjos S, Ellis AE, Dubey JP, Shock BC, Yabsley MJ. 2011. Parasites and vector-borne pathogens of southern plains woodrats (*Neotoma micropus*) from southern Texas. Parasitology Research 110: 1855-1862.

Chávez A, Flores-Somarrriba B, Soto A, Sheleby-Elías J, Duttmann C, Eduardo J, Pérez E, Mora B, Jirón W. 2018. Detección de *Leptospira* spp. En animales y muestras medioambientales de áreas peridomésticas en Nicaragua. Revista PanaAmericana de Salud Pública 42: e26.

Cilia G, Bertelloni F, Fratini F. 2020. *Leptospira* infections in domestic and wild animals. Pathogens 9: 573.

CONABIO. 2011. Fichas de especie prioritarias. Oso negro (*Ursus americanus*). Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F.

Costa R, Ballarini C, Gimenes SM, Bagagli E, Sammarco P, Langoni H. 2008. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. *Journal of Veterinary Parasitology* 157:291-293.

Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez MS, Stein C, Abela B, Ko AI. 2015. Global morbidity and mortality of leptospirosis: A systematic review. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9(9): 1-19.

Cruz-Romero A, Alvarado-Esquivel C, Romero-Salas D, Alvarado-Félix AO, Sánchez-Montes S, Hernández-Tinoco J, Sánchez-Anguiano LF. 2018. Seroepidemiology of *Leptospira* infection in backyard pigs in Durango State, Mexico. *European Journal of Microbiology and Immunology* 8(3), 87-90.

Da Silva RC, Ballarini C, Gimenes SM, Bagabli E, Sammarco P, Langoni H. 2008. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp infection in free-ranging armadillos. *Journal of Veterinary Parasitology*. 157: 291-293.

Da Silva J, Alexandre JR, Figueredo D, de Barros EL, Menezes DH, dos Santos SS, Santos S, José C. 2017. Epidemiological characterization and risk factors associated with *Leptospira* infection in dogs from rural settlements in the semi-arid región of Northeast Brazil. *Semina: Ciências Agrarias*.

Dalazen GT, de Souza AF, Sanchez AM; Fuentes-Castillo D, Gattamorta MA, Kluyber D, Jean AL, Heinemann MB, Matushima ER. 2019. Survey of *Leptospira* spp. and *Brucella abortus* in free-ranging armadillos from Pantanal, Brazil. *Journal of Wildlife Diseases* 56:409-413.

Davidson WR, Appel MJ, Doster GL, Baker OE, Brown JF. 1992. Diseases and parasites of red foxes, gray foxes and coyotes from commercial sources selling to fox-chasing enclosures. *Journal of Wildlife Diseases* 28: 581-589.

de Araujo J, Ferreira I, Batista D, Araujo J, Dantas C, Sabrina L, Batista C, José C, Rodriguez, M, Santos S. 2022. New insights on *Leptospira* sp. infection in ewes maintained in field semi-arid conditions. *Acta Tropica* 234: 106610.

De Carvalho SM, Mineiro AL, Castro V, Genovez M, Santos S, Costa F. 2014. Leptospirosis seroprvalence and risk factors for sheep in Maranhao state, Brazil. *Tropical Animal Health and Production* 46: 491-494.

Delbem AC, Freitas JC, Bracarense AP, Muller EE, Oliveira RC. 2002. Leptospirosis in slaughter shows: serological and histopathological investigation. *Brazilian Journal of Microbiology* 33:174-177.

Dewes C, Pacheco T, Batista G, Soares P, Mello JP, Pinto AC, Rodrigues S, Fagonde E. 2020. Prevalence and risk factors associated with equine leptospirosis in an endemic urban área in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Development* 6:58380-58390.

Di Azevedo MIN, Lilenbaum W. 2021. An overview on the molecular diagnosis of animal leptospirosis. *Letters in Applied Microbiology* 72: 496-508.

Dos Santos JP, Lima-Ribeiro AM, Oliveira PR, Dos Santos MP, Ferreira A, Aparecida A, Fernandes TC. 2012. Seroprevalence and risk factors for Leptospirosis in goats in Uberlandia, Minas Gerais, Brazil. *Tropical Animal Health and Production* 44: 101-106.

Dos Santos GF, Moreira FA, Polia G, Senna C, Karolina A, Baummel AC, Teotonio H, Antonio L, Guilherme L. 2023. Serological Detection and Risk Factors Associated with Leptospirosis Infection in Subsistence Pigs in the state of Paraná, Brazil. *Preprints 2023*, 2023051090.

Dyer WG. 1984. *Paragonimus kellicotti* Ward, 1908 (Trematoda: Paragonimidae) from red and gray foxes of Southern Illinois. *Transactions of the Illinois Academy of Science* 77:33-34.

Easterbrook JD, Kaplan JB, Vanasco NB, Reeves WK, Purcell RH, Kosoy MY, Glass GE, Watson J, Klein SL. 2007. A survey of zoonotic pathogens carried by Norway rats in Baltimore, Maryland, USA. *Journal of Epidemiology & Infection* 135: 1192-1199.

Ellis W. 2015. Animal Leptospirosis in: *Leptospira* and Leptospirosis, Current Topics in Microbiology and Immunology Ben Adler (ed) Springer- Verlag: Berlin pp 117-121.

Escandón-Vargas Osorio L, Astudillo-Hernández M. 2017. Seroprevalence and factors associated with *Leptospira* infection in an urban district of Cali, Colombia. *Cadernos de Saude Publica* 33: e00039216.

Espinosa-Martínez DV, Sánchez-Montes DS, León-Paniagua L. 2015. New wildlife hosts of *Leptospira interrogans* in Campeche, México. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 57:181-183.

Fang F, Collins-Emerson J, Cullum A, Heuer C, Wilson P, Benschop J. 2015. Shedding and Seroprevalence of Pathogenic *Leptospira* spp. in sheep and Cattle at a New Zealand Abattoir. *Zoonoses and Public Health* 62: 258-268

Favero AC, Pinheiro SR, Vasconcellos SA, Morais ZM, Ferreira F, Neto JS. 2002. Sorovares de leptospiros predominantes em exames sorologicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suinos e caes de diversos estados brasileiros. *Ciencia Rural, Santa Maria* 32:613-619.

Felt S, Wasfy M, El-Tras WF, Samir A, Rahaman BA, Boshra M, Parker TM, Essam M, El-Bassiouny AA, Murray CK, Pimentel G. 2011. Cross-species surveillance of *Leptospira* in domestic and peri-domestic animals in Mahalla City, Gharbeya Governorate, Egypt. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 84: 420-425.

Fenner JS, Anjum MF, Randall LP, Pritchard GC, Wu GC, Errington J, Dalley CG, Woodward MJ. 2009. Analysis of 16S rDNA sequences from pathogenic *Leptospira* serovars and use of single nucleotide polymorphisms for rapid speciation by D-HPLC. *Research in Veterinary Science* 89: 48-57.

Ferreira AS, Costa P, Rocha T, Amaro A, Vieira ML, Ahmed A, Thompson G, Hartskeerl RA, Inacio J. 2014. Direct detection and differentiation of pathogenic *Leptospira* species using a multi-gene targeted real time PCR approach. *PLoS ONE* 9: e112312.

Ferreira SB, Silva KG, Castro V, Pereira ST, Ferreira SB, Soares LC, Moura L, Mineiro AL, Joaquim DR, Torres JA. 2017. Serum epidemiological análisis and risk factors associated with *Leptospira* spp. in cattle in the state of Piauí. *Acta Scientiae Veterinarie* 45:1-11.

- Fichet-Calvet E, Giraudoux P, Quere JP, Ashford RW, Delattre P. 2003. Is the prevalence of *Taenia taeniaeformis* in *Microtus arvalis* dependent on population density? *Journal of Parasitology* 89: 1147-1152.
- Field-Cortazares J, Coria-Lorenzo JJ, Domingo-Martinez D. 2021. Leptospirosis en una adolescente de 13 años: informe de un caso y revisión de la literature. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría* 33: 1852-1865.
- Flores BJ, Pérez-Sánchez T, Fuertes H, Sheleby-Elías J, Muzquíz JL, Jirón W, Duttmann C, Halaihel N. 2017. A cross-sectional epidemiological study of domestic animals related to human leptospirosis cases in Nicaragua. *Acta Tropica* 170: 79-84.
- Gabriel-Véjar BL, Vazquez-Luna D, Martínez-Herrera DI, Villagómez-Cortés JA, Leyva-Ovalle OR, Torres-Barranca JI, Zarza-Villanueva H. 2022. Spatial distribution models of seroreactive sheep to *Leptospira* spp. In Veracruz, México 69: 1913-1922.
- Galvadón DG, Cisneros MA, Rojas N, Moles-Cervantes LP. 1995. La importancia de la leptospirosis humana en México. Detección de anticuerpos antileptospira en una población de donadores de sangre. *Gaceta Medica de México* 131: 289-292
- Gaytán-Camarillo F, Rico-Chávez O, Palomares-Resendiz EG, Gutierrez-Hernández JL, Díaz Aparicio E, Herrera-López E. 2021. Spatial autocorrelation and co-occurrence of six serovarieties of *Leptospira* in goat herds of the State of Guanajuato, Mexico. *Brazilian Journal of Microbiology* 52: 953-960.
- Ghasemian A, Fahim-Abbas A, Al-Saadi M, Ghazi A, Salari M, Memariani H, Shokouhi M, Seyyed K. 2020. Occupational leptospirosis as an underreported disease in high-risk groups: implications for prevention and control measures. *Bacteriology* 31: 75-78.
- Gibbens JC, Wilesmith JW, Sharpe CE, Mansley LM, Michalopolou E, Ryan JBM, Hudson M. 2001. Descriptive epidemiology of the 2001 foot-and-mouth disease epidemic in Great Britain: the first five months. *Veterinary Record* 149: 729-743.
- Gilbert B. 1989. Behavioral plasticity and bear human conflicts. In: *Bear-people conflicts: Proceedings of a symposium on management strategies*. Northwest Territories Department of Renewable Resources. Yellowknife, Northwest Territories, Canada.

Goarant C. 2016. Leptospirosis: risk factors and management challenges in developing countries. *Research and Reports in Tropical Medicine* 28:49-62

Goh S, Ismail R, Lau SF, Megat-Abdul-Rani PA, Mohd-Mohidin TB, Daud F, Bahaman AR, Khairani-Bejo S, Radzi R, Khor KH. 2019. Risk factors and prediction of leptospiral seropositivity among dogs and dog handlers in Malaysia. *International Journal of Environmental Research & Public Health* 16:1499.

Gonzalez-Dardayrol MA. 2004. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in wild rodents of oak forests with different management (with and without grazing) in Chapa de Mota, State of México. Tesis para obtener grado de Maestría. Ciudad de México, México. Universidad Nacional Autónoma de México.

Goris MGA, Hartskeerl RA. 2014. Leptospirosis serodiagnosis by the microscopic agglutination test. *Current Protocols in Microbiology* 6: 12E.5.1-12E.5.18.

Guadalupe B, Alvarez-Balero MF, Zandonadi F, de Souza GM, Lilenbaum W. 2022. Streptomycin treatment of genital carriers of *Leptospira* in experimentally infected sheep on different estrous phases. *Research in Veterinary Science* 152: 579-581.

Guzmán-Barragán BL, Martínez-Rodríguez LC, Tobón-Torreglosa JC, Tafur-Gómez GA. 2021. Seroprevalence and risk factors for *Leptospira* spp. in small ruminants of semi-arid zone in northeastern Colombia. *Tropical Animal Health and Production* 54:10.

Haake D, Levett PN. Leptospirosis in humans. In: Adler B. *Leptospira* and Leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 387. Springer, Berlin, Heidelberg.

Hamond C, Martins G, Lilenbaum W. Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. *Tropical Animal Health and Production* 44: 1927-1930.

Hamond C, Pinna A, Martins G, Lilenbaum W. 2014. The role of leptospirosis in reproductive disorders in horses. *Tropical Animal Health and Production* 46: 1-10.

Hamond C, Pestana CP, Rocha-de-Souza CM, Cunha LE, Brandao FZ, Medeiros MA, Lilenbaum W. Presence of leptospires on genital tract of mares with reproductive problems. *Veterinary Microbiology* 179: 264-269.

Hamond C, Dirsmith KL, LeCount K, Soltero FV, Rivera-García S, Camp P, Anderson T, Hicks JA, Galloway R, Sutherland G, Schafer I, Goris MG, Van der Lindens H, Stuber T, Bayles DO, Schlater LK, Nally JE. 2022. *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo and *Leptospira santarosai* serogroup Pyrogenes isolated from bovine dairy herds in Puerto Rico. *Frontiers in Veterinary Science* 9: 1025282.

Harran E, Abi A, Angelloz-Pessey S, Groud K, Lattard V, Hilan C, Ayrat F. 2023. Molecular and serological identification of pathogenic *Leptospira* in local and imported cattle from Lebanon. *Transboundary and Emerging Diseases* 2023: 3784416.

Hathaway SC, Blackmore DK. 1981. Ecological aspects of epidemiology of infection with leptospire of the Ballum serogroup in the black rat (*Rattus rattus*) and the brown rat (*Rattus norvegicus*) in New Zeland. *Journal of Hygiene (London)* 87: 427-436.

Hernández-Camacho N, López González CA, Guerrero-Castillo MJ. 2010. Seroprevalencia de *Leptospira interrogans*, hematología y perfil bioquímico en cánidos silvestres del Parque Nacional El Cimatario, Quéretaro. México. *THERYA* 1:10-13.

Hosmer, D., Lemeshow, S., 2000. *Applied Logistic Reggresion*. 2nd ed. New York: Wiley.

Ido Y, Hoki R, Ito H, Wani H. 1916. The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease. *Journal of Experimental Medicine* 23: 377-402.

Inada R, Ido Y, Hoki R, Ito H, Wani H. 1917. The rat as a carrier of Spirocheta icterohaemorrhagiae, the causative agent of Spirochaetosis Icterohaemorrhagica. *Journal of Experimental Medicine* 26(3): 341-353.

INDRE.2021. Manual para el envío y recepción de muestras para diagnóstico. Secretaria de Salud. Pp 9-20.

Ismail Zb, Abutarbush S, Al-Majali A, Gharaibeh M, Al-Khateeb B. 2019. Seroprevalence and risk factors of *Leptospira* serovar Pomona and *Leptospira* serovar Hardjo infection in dairy cows in Jordan. *The Journal of Infection in Developing Countries* 13: 473-479.

Jorge S, Monte LG, Oliveira NR, Collares TF, Roloff BC, Gomes CK, Hartwig DD, Dellagostin OA, Hartleben CP. 2015. Phenotypic and molecular characterization of

Leptospira interrogans isolated from *Canis familiaris* in Southern Brazil. *Current Opinion in Microbiology* 71: 496-500.

Junqueira J, Alfieri I. 2006. Reproductive failures in beef cattle breeding herds with emphasis for infectious causes. *Semina Ciencia Agropecuaria* 27(2): 289-298.

Karpagam KB, Ganesh B. Leptospirosis: a neglected tropical zoonotic infection of public health importance-an updated review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 39: 835-864.

Khbou M, Hammami S, Kodjo A. 2010. Ani-leptospire antibodies seroprevalence in sheep from the Fahs region, Tunisia. *Revue de Medecine Veterinaire* 161: 185-192.

Kikuti M, Langoni H, Nobrega DN, Correa AP, Ullman LS. 2012. Occurrence and risk factors associated with canine leptospirosis. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* 18: 124-127.

Kin M, Brihuega B, Fort M, Delgado F, Bedotti D, Casanave E. 2015. Presence of antibodies against *Leptospira* serovars in *ChaetophRACTUS villosus* (Mammalia, *Dasypodidae*), La Pampa province, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 47:41-46.

Kitamura H, Hara H. 1918. Ueber der Erreger von "Akiyami". *Tokyo Jikeikai Medical Journal* 1: 2056-2057.

Larson CR, Dennis M, Nair RV, Llanes A, Peda A, Rajeev S. 2017. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni from a dog from Saint Kitts. *JMM Case Reports*. 4: 1-5.

Layne J. 2003. Armadillo *Dasypus novemcinctus*. In: *Wild mammals of North America: biology, management, and conservation*, second edition. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.

Leal-Castellanos CB, García-Suarez R, González-Figueroa E, Fuentes-Allen JL, Escobedo-de la-Peña J. 2003. Risk factors and the prevalence of leptospirosis infection in a rural community of Chiapas, México. *Journal of Epidemiology & Infection* 131: 1149-1156.

- Lee HS, Khong NV, Xuan HN, Nghia VB, Nguyen-Viet H, Grace D. 2017. Seroprevalence of specific *Leptospira* serovars in fattening pigs from 5 provinces in Vietnam. BMC Veterinary Research 13: 125.
- Lee HS, Khan N, Nguyen-Viet H, Thakur K, Grace D. 2019. Seroprevalence of leptospirosis and Japanese encephalitis in swine in ten provinces of Vietnam. PLoS One. 14: e0214701.
- León-Bórquez R, Lara-Vélez VM, Abreu-Hernández LF. 2018. Educación médica en México. FEM: Revista de la Fundación Educación Médica 21(3): 119-128.
- Liceras JL, Sulzer KR. 1984. Six new leptospiral serovars isolated from wild animals in Peru. Journal of Clinical Microbiology 19:944-945.
- Lucchesi PMA, Arroyo GH, Etcheverría AI, Parma AE, Seijo AC. 2004. Recommendations for the detection of *Leptospira* in urine by PCR. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 37: 131-134.
- Luna AM. 1993. Primer reporte del aislamiento de *L. interrogans* serovariedad *L. portlandvere* en México. En Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Guadalajara Jalisco.
- Luna AMA, Moles CLP, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar GF. 2008. La leptospirosis canina y su problemática en México. Revista de salud animal 30 (1): 1-11.
- Malalana F, McGowan TW, Ireland JL, Pinchbeck GL, McGowan CM. 2019. Prevalence of owner-reported ocular problems and veterinary ocular findings in a population of horses aged ≥ 15 years. Equine Veterinary Journal 51: 212-217.
- Martins G, Lilenbaum W. 2013. The panorama of animal leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil, regarding the seroepidemiology of the infection in tropical regions. BMC Veterinary Research 9: 237.
- Masuzawa T, Sakakibara K, Saito M, Hidaka Y, Sharon YA, Villanueva M, Yanagihara Y, Yoshida S. 2018. Characterization of *Leptospira* species isolated from soil collected in Japan. Microbiology and Immunology 62: 55-59.

Matthias MA, Levett PN. 2002. Leptospiral carriage by mice and moongoses on the island of Barbados. *The West Indian Medical Journal* 51: 10-13.

Méndez C, Benavides L, Esquivel A, Aldama A, Torres J, Galvadón D, Meléndez P, Moles L. 2013. Pesquisa serológica de *Leptospira* en roedores silvestres, bovinos, equinos y caninos en el Noreste de México. *Revista de Salud Animal* 35: 25-32.

Meny P, Menéndez C, Ashfield N, Quintero J, Rios C, Iglesias T, Schelotto F, Varela G. 2019. Seroprevalence of leptospirosis in human groups at risk due to environmental, labor or social conditions. *Revista Argentina de Microbiología* 51: 324-333.

Mgode GF, Mhamphi GG, Massawe AW, Machangú RS. 2021. *Leptospira* seropositivity in humans, livestock, and wild animals in a semi-arid area of Tanzania. *Pathogens* 10: 696.

Miotto BA, Moreno LZ, Alves AG, Oliveira G, Paula A, Micke A, Lilenbaum W, Arruda S, Bryan M, Kuribayashi M. 2016. Molecular and serological characterization of the first *Leptospira santarosai* strain isolated from a dog. *Acta Tropica* 162: 1-4.

Miotto BA, Furlan-Tozzi B, de Souza-Penteado M, Alves-Guilloux AG, Zanolli-Moreno L, Bryan Heinemann M, Micke-Moreno A, Lilenbaum W, Kuribayashi-Hagiwara M. 2018. Diagnosis of acute canine leptospirosis using multiple laboratory tests and characterization of the isolated strains. *BMC Veterinary Research* 14: 222.

Miraglia F, Matsuo M, Morais ZM, Dellagotsin OA, Seixas FK, Freitas JC, Hartskeerl R, Moreno LZ, Costa BL, Souza GO, Vasconcellos SA, Moreno AM. 2013. Molecular characterization, serotyping, and antibiotic susceptibility profile of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni isolates from Brazil. *Journal of Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 77: 195-199.

Montes AS, Dimas JS, Preciado- Rodriguez FJ. 2002. Rats and dogs: important vectors of leptospirosis in agricultural areas in Ciudad Guzman, Jalisco. *Revista Cubana en Medicina Tropical* 54:21-23.

Montes V, Monti G. 2021. Pathogenic *Leptospira* spp. seroprevalence and herd-level risk factors associated with Chilean dairy cattle. *Animals* 11: 3148

Montiel-Reyes F, Maldonado J, Real-Monroy M, Martinez-Méndez N, Ortega J. 2014. Non-invasive sampling reveals fine-scale genetic structure in black bear *Ursus americanus* populations from northeastern México. *Endangered Species Research* 26:179-188.

Motto S, Hernandez-Castro LE, Shirima G, Mengele I, Festo S, de Clare BM, Titus E, Mushumbusi D, Jessie EA. 2023. Seroepidemiology of *Leptospira* serovar Hardjo and associated risk factors in small holder dairy cattle in Tanzania. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 17: e0011199.

Myers DM, Cuba A, Payan J. 1977. Isolation of serotype Hardjo and other *Leptospirae* from armadillos in Argentina. *PAHO Bulletin* 11: 131-139.

Nally JE, Wilson-Welder JH, Hornsby RL, Palmer MV, Alt DP. 2018. Inbred rats as a model to study persistent renal leptospirosis and associated cellular immune responsiveness. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8: 66.

Nathan R, Muller-Landau HC. 2000. Spatial patterns of seed dispersal, their determinants and consequences for recruitment. *Trends in Ecology & Evolution* 15:278-285.

Ngugi J, Fevre EM, Mgode GF, Obonyo M, Mhamphi GG, Otieno CA, Jessie EA. 2019. Seroprevalence and associated risk factors of leptospirosis in slaughter pigs; a neglected public health risk, western Kenya. *BMC Veterinary Research* 15: 403.

Noguchi H, Kligler IJ. 1920. Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated from a case of yellow fever in Merida, Yucatán 32: 627-637.

Nogueira DB, Ribeiro FT, de Sousa C, Rodriguez R, da Costa NN, Rodriguez BM, Cristiny ML, Figueredo D, Araujo JP, Dantas C, Sabrina L, José C, Santos S. 2020. *Leptospira* sp. Vertical transmission in ewes maintained in semiarid conditions. *Animal Reproduction Science* 219: 106530.

Thompson RS, Anderson KH, Pelltier RT, Shafer SL, Bartlein PJ. 2007. Atlas of relations between climatic parameters and distributions of important trees and shrubs in North America: Ecoregions of North America. USGS Publications Warehouse. Virginia, Estados Unidos.

Orlando AS, Perez A, Sanchez E, de la cruz C, Rugel O, García-Bereguain MA. 2020. High seroprevalence of anti-*Leptospira* spp. Antibodies in domestic and wild mammals from a mixed-use rescue center in Ecuador: Lessons for “One health” based conservation strategies. *Journal of One Health* 8:100140.

Ortega-Gonzalez CN, Martínez-Herrera DI, Ortiz-Ceballos GC, Pardío-Sedas VT, Villagómez-Cortés JÁ, Flores-Primo A, Vazquez-Luna D, Torres-Barranca JI, Melendez-Valadez. 2018. Asociación entre leptospirosis em perros domiciliados y en sus propietarios em Veracruz-Boca del Río, México. *Agrociencia* 52: 67-79.

Pal M, Bulcha MR, Bune WM. 2021. Leptospirosis and one health perspective. *American Journal of Public Health Research* 9: 180-183.

Panti-May JA, Andrade DE, Gurubel-Gonzalez Y, Palomo-Arjona E, Soda-Tamayo L, Meza-Sulu J, Ramirez-Sierra M, Dumonteil E, Vidal-Martinez VM, Machaín-Williams C, de Oliveira D, Reis MG, Torres-Castro MA, Robles MR, Hernandez-Betancourt SF, Costa F. 2017. A survey of zoonotic pathogens carried by house mouse and black rat populations in Yucatán, México 145:2287-2295.

Pearson HE, Toribio JA, Hernandez-Jover M, Marshall D, Lapidge SJ. 2014. Pathogen presence in feral pigs and their movement around two commercial piggeries in Queensland, Australia. *Journal of Veterinary Records* 174:325.

Perez-Ruano M, Burgos-Macías DI, Bulnes-Goicochea CA, Zambrano-Aguayo MD, Sandoval-Valencia HP, Falconi-Flores MA, Vera-Loor LA, Revelo Ruales AP, Fonseca-Rodriguez O. 2020. Seroprevalence and risk factors of bovine leptospirosis in the province of Manabí, Ecuador. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 72: 101527.

Porr CA, Baxley M, Himmelsbaugh A, Taylor M, Netz K. 2023. 113 leptospirosis vaccination and titer concentration testing in equine. *Journal of Equine Veterinary Science* 124: 104415.

Porusia M, Dwi AF, Wulandari W, Chotklang D. 2021. Risk factors of leptospirosis incidence in agricultural area. *International Journal of Public Health Sciences* 10: 574.

Poudel A, Monirul MD, Madere S, Bolds S, Price S, Barua S, Adekanmbi F, Kalalah A, Kitchens S, Brown V, Wang C, Lockaby B. 2020. Molecular and serological prevalence of *Leptospira* spp. In feral pigs (*Sus scrofa*) and their habitants in Alabama, USA. *Pathogens* 9:857.

Reed NE, Varney WC, Goddard RD, Wyeth PJ. 2000. The maintenance of challenge strains used in the potency test of canine *Leptospira* vaccines. *Biologicals* 28: 25-28.

Reis R, Ribeiro GS, Felzemburgh RDM, Santana FS, Mohr S, Melendez AX, Queiroz A, Santos A, Ravines RR, Tassinari WS, Carvalho MS, Reis MG Ko AI. 2008. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4: e228.

Reyes-Novelo E, Ruiz-Piña H, Escobedo-Ortegón J, Rodríguez-Vivas I, Bolio-González M, Polanco-Rodríguez A, Manríquez-Saide P. 2011. Situación actual y perspectivas para el estudio de las enfermedades zoonóticas emergentes, reemergentes y olvidadas en la península de Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14: 35-54.

Robertson I, 2020. Disease control, prevention and on-farm biosecurity: The role of veterinary epidemiology. *Engineering* 6: 20-25.

Rhul-Fehlert CI, Brem S, Feller W, Kopp H, Meyer P, Rinke M. 2000. Clinical, microbiological and pathologic observations in laboratory Beagle dogs infected with leptospire of the serogroup Sejroe. *Experimental Toxicology and Pharmacology* 52: 201-207.

Rislakki V, Salminen A. 1955. Investigations of leptospirosis in rats in Finland. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* 37:121-131.

Rocha TA. 1998. Review of leptospirosis in farm animals in Portugal. *Revue Scientifique et technique* 17:699-712.

Rodríguez O, Prieto E, Escandón P. de la Hoz F. 2014. Proporción de leptospirosis y factores relacionados en pacientes con diagnóstico presuntivo a dengue, 2010-2012. *Revista en Salud Pública* 16: 597-609.

Rodriguez-Rojas JJ, Rodríguez-Moreno A, Sánchez-Casas RM, Hernandez-Escareño JJ. 2020. Molecular detection of *Leptospira interrogans* and *Borrelia burgdorferi* in wild rodents from México. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 20:860-863.

Rohrbach BW, Ward DA, Hendrix DVH, Cawrse-Foss M, Moyers TD. Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. *Journal of Veterinary Ophthalmology* 8: 171-179.

Romanowski TN, Augusto R, Heinemann MB, Félix S, Ataidés T, da Silva A, da Cunha GD, Ferrerira A, Pacheco J, Borsanelli C. 2023. Seroprevalence in equine leptospirosis in the state of Goiás, Brazil. *Journal of Veterinary Sciences* 10:590.

Romero-Vivas CM, Cuello-Pérez M, Agudelo-Flórez P, Thiry D, Levett PN, Falconer AK. 2013. Cross-sectional study of *Leptospira* seroprevalence in humans, rats, mice and dogs in a main tropical sea-port city. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 88(1): 178.

Saba-Villaroel PM, Gumpangseth N, Songhong T, Yainoy S, Monteil A, Leungwutiwong P, Miseé D, Wichit S. 2023. Emerging and re-emerging zoonotic viral diseases in Southeast Asia: One Health challenge 11: 1141483.

Saeki J, Tanaka A. 2021. Canine leptospirosis outbreak in Japan. *Frontiers in Veterinary Science* 8: 763859.

Salgado M, Otto B, Moroni M, Sandoval E, Reinhardt G, Boqvist S, Encina C, Muñoz-Zanzi. 2015. Isolation of *Leptospira interrogans* serovar Hardjoprajitno from a calf with clinical leptospirosis in Chile. *BMC Veterinary Research* 11: 66

Salinas-Melendez JA, Narvaez-Arce, Riojas-Valdes V, Cantú-Covarrubias A. 2007. Seroprevalence of leptospirosis in beef cattle of Nuevo León, México. *Journal of Animal and Veterinary Advances*.

Sánchez J. 2015. Clinical manifestations and treatment of lyme disease. *Clinics in laboratory medicine* 35: 765-778.

Sánchez-Montes S, Espinoza-Martínez DV, Rios-Muñoz CA, Berzunza-Cruz M, Becker I. 2015. Leptospirosis in México: Epidemiology and potential distribution of human cases. PLoS ONE 10: e0133720.

Sasmal I, Gould NP, Schuler KL, Chang YF, Thachil A, Strules J, Olfenbittel C, Datta S, de Perno C. 2019. Leptospirosis in urban and suburban American black bears (*Ursus Americanus*) in western North Carolina, USA. Journal of Wildlife Diseases 55: 74-83.

Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE, Sykes J. 2015. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. Journal of Small Animal Practice 56: 159-179.

Segura-Correa JC, Honhold N. 2000. Métodos de muestreo para la producción y salud animal. Universidad Autonoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.142

Sharma S, Hinds LA. 2012. Formulation and delivery of vaccines: Ongoing challenges for animal management. Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences 4: 258-266.

Sharun K, Anjana S, Dhivahar M, Ambily VR, Narayana U. 2019. Diagnosis and treatment of canine leptospirosis due to serovar Bataviae- a case report. Journal of Comparative Clinical Pathology 28:1829-1833.

Shiokawa K, Welcome S, Kenig M, Lim B, Rajeev S. 2019. Epidemiology of *Leptospira* infection in livestock species in Saint Kitts. Tropical Animal Health and Production 51: 1645-1650.

SIAP. 2020. Avance mensual de la producción pecuária. Disponible en http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceEdo.jsp

Silva J., Viana M., Pereira L., Cesar A., Fernandes F., Pinheiro R., Costa D., Silva G., Azevedo S., Alves C., 2021. Cross-sectional survey for sheep leptospirosis in northeast region of Brasil. Preventive Veterinary Medicine 197: 105525.

Slack AT, Symonds ML, Dohnt M, Smythe LD. 2006. Identification of pathogenic *Leptospira* species by conventional or real-time PCR and sequencing of the DNA gyrase subunit B encoding gene. BMC Microbiology 6: 95-105.

Socolovschi C, Angelakis E, Renvoise A, Fournier PE, Marie JL, Davoust B, Stein A, Raoult D. 2011. Strikes, flooding, rats, and leptospirae in Marseille, France. *International Journal of Infectious Diseases* 15: e710-e715.

Sotomayor-Bonilla JJ. 2009. Asociación entre las serovariedades de *Leptospira* con roedores nativos y exóticos de la isla de Cozumel, México. Tesis para obtener el grado de Médico Veterinario Zootecnista. Ciudad de México, México. Universidad Nacional Autónoma de México.

Stimson AM. 1907. Note on an organism found in yellow-fever tissue, *Public Health Reports (Washington)* 22: 541.

Superina M, Brieva RC, Roberto A, Trujillo F. 2014. Manual de mantenimiento y rehabilitación de armadillos. Fundación Omacha 96.

Sterling CR, Thiermann AB. 1981. Urban rats as chronic carriers of leptospirosis: an ultrastructural investigation. *Journal of Veterinary Pathology* 18:628-637.

Strand TM, Lohmus M, Persson VT, Rasback T, Sundstrom K, Bergstrom T, Lundkvist A. 2015. Highly pathogenic *Leptospira* found in urban brown rats (*Rattus norvegicus*) in the largest cities of Sweden. *Journal of Vector Borne and Zoonotic Diseases* 15:779-781.

Stuart BP, Crowell WA, Adams WV, Carlisle JC. 1977. Spontaneous renal disease in Louisiana armadillos (*Dasypus novemcinctus*). *Journal of Wildlife Diseases* 13:240-244.

Suepaul SM, Carrington CV, Campbell M, Borde G, Adesiyun AA. 2011. Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. *Journal of Tropical Animal Health and Production* 43:367-375.

Tamara R, Andrea-Previtali M, Signorini M. 2020. Meta-analysis of risk factors for canine leptospirosis. *Journal of preventive Veterinary Medicine* 181: 105037.

Taylor C, Brodbelt DC, Dobson B, Catchpole B, O'Neill DG, Stevens KB. 2021. Spatio-temporal distribution and agroecological factors associated with canine leptospirosis in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine* 193: 105407.

Taylor C, O'Neill DG, Catchpole B, Brodbelt DC. 2022. Leptospirosis vaccination in dogs attending UK primary care practices: vaccine uptake and factors associated with administration. *BMC Veterinary Research* 18: 285.

Toris-Suarez O, Pérez-Rivero J, Herrera-Barragán A, Torres-Barranca J, Lombardero-Goldaracena. 2021. Frecuencia de leptospirosis en equinos: revisión de literatura *Abanico Veterinario* 11: E2020-91.

Torres-Castro M, Guillermo-Cordero L, Hernandez-Betancourt S, Gutierrez-Ruiz E, Agudelo-Flores P, Peláez-Sanchez R, Zavala-Castro J, Puerto FI. 2016. First histopathological study in kidneys of rodents naturally infected with *Leptospira* pathogenic species from Yucatán, México. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 9:145-147

Toyokawa T, Ohnishi M, Koizumi N. 2011. Diagnosis of acute leptospirosis. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 9: 111-121.

Tri A, Hadi E, Nabilah P, Purba I, Arum FR, Kurniawan D, Muhhamad KR. 2023. Overview leptospirosis in agricultural: Literature review. *Health and Technology Journal* 1: 547-557.

Trimble A, Blevins CA, Beard LC, Deforno AR, Davis EG. 2018. Seroprevalence, frequency of leptospirosis, and associated risk factors in horses in Kansas, Missouri, and Nebraska from 2016-2017. *PLoS One* 13: e0206639.

Trueba GA, Bolin CA, Zuerner RL. 1992. Characterization of the periplasmic flagellum proteins of *Leptospira interrogans*. *Journal of Bacteriology* 174(4): 4761-4768.

Torres-Castro M, Hernandez-Betancourt S, Agudelo-Flórez P, Arroyave-Sierra E, Zavala-Castro J, Puerto F. 2016. Revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* 54: 620-625.

Tubiana S, Mikulski M, Becam J, Lacassin F, Lefevre P, Gourinat AC, Goarant C, D'Ortenzio E. 2013. Risk factors and predictors of severe leptospirosis in New Caledonia. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7: e1991.

Ubelaker JE, Griffin BS, Konicke GM, Alah N, Mouhaffel A, Duszynski D, Harrison RL. 2015. Metazoan endoparasites of the gray fox, *Urocyon cinereoargenteus* from New Mexico.

Ullmann LS, Langoni H. Interactions between environment, wild animals and human leptospirosis. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* 2: 119-129

Vado-Solís I, Cárdenas-Marrufo MF, Jimenez-Delgadillo B, Alzina-Lopez A, Laviada-Molina H, Soares-Solis V, Zavala-Velazquez J. 2002. Clinical-epidemiological study of leptospirosis in humans and reservoirs in Yucatán, México. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 44:335-340.

Vale-Goncalves HM, Cabral JA, Faria MC, Nunes-Pereira M, Faria AS, Veloso O, Vieira ML, Paiva-Cardoso N. 2015. Prevalence of *Leptospira* antibodies in wild boars (*Sus scrofa*) from Northern Portugal: Risk factor analysis. *Epidemiology & Infection* 143(10): 2126-2130.

Van Thiel P. 1948. *The leptospiroses*. Leiden Universitaire Pers Leiden, Leiden.

Vanasco NB, Sequeira MD, Sequeira G, Tarabla HD. 2003. Associations between leptospiral infection and seropositivity in rodents and environmental characteristics in Argentina. *Preventive Veterinary Medicine* 60: 227-235.

Varela G, Curbelo A, Vázquez A, Guzmán E. 1954. Estudio de leptospirosis en las ciudades de Veracruz, Tampico y México. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 14: 123-131.

Varela G, Vázquez A, Mancera L. 1958. Investigación de aglutininas para *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* y *L. canicola* en sueros humanos y de animales de diversos estados de la República Mexicana. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 18: 31-42.

Varela G, Zavala J. 1961. Estudios serológicos de leptospirosis en la República Mexicana. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 21: 49-52.

Velasco-Castrejón O, Rivas-Sánchez B, Espinoza-Hernández J, Martínez-Hernández E. 2007. Diagnóstico de leptospirosis crónica, comparación entre la aglutinación microscópica y 3 técnicas diagnósticas confirmatorias. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 59.

- Velasco-Castrejón O, Rivas-Sánchez B, Rivera-Reyes H. 2009. Transición de la leptospirosis aguda a crónica. Seguimiento de siete casos. *Revista Mexicana de Patología Clínica* 56: 183-192.
- Vera E, Taddei S, Cavirani S, Schiavi J, Angelone M, Cabassi C, Schiano E, Quintavalla F. 2019. *Leptospira* seroprevalence in Bardigiano horses in Northern Italy. *Animals* 10:23.
- Vera-Cabrera L, Ramos-Cavazos CJ, Youssef N, Pearce C, Molina-Torres CA, Avalos-Ramirez R, Gagneux S, Ocampo-Candiani J, Gonzalez-Juarrero M, Mayorga-Rodriguez JA, Mayorga-Garibaldi L, Spencer JS, Jackson M, Charlotte A. 2022. *Mycobacterium leprae* infection in a wild nine-banded armadillo, Nuevo León, México. *Journal of Emerging Infectious Diseases* 28:747-749.
- Viana MP, da Silva JD, César AM, Fernandes FS, Rizaldo R, Figueiredo D, Pinheiro GC, Lima LC, Santos S, José C. 2022. Epidemiological and geospatial characterization of goat leptospirosis in Northeast region of Brazil. *Small Ruminant Research* 206: 106589.
- Wilken E, Nava FJ, Griffith G. 2011. North American Terrestrial Ecoregions-Level III. Commission for Environmental Cooperation. Montreal, Canadá.
- Wilson-Welder JH, Alt DP, Nally JE, Olsen SC. 2021. Bovine immune response to vaccination and infection with *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *Vaccines* 6: e00988-20.
- WOAH. 2021. Leptospirosis, in: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organization for Animal Health: Paris, France, pp. 503-516.
- Wolff C, Boqvist S, Stahl K, Masembe C, Sternberg-Lewerin S. 2017. Biosecurity aspects of cattle production in Western Uganda, and associations with seroprevalence of brucellosis, salmonellosis and bovine viral diarrhoea. *BMC Veterinary Research* 13: 382.
- Yescas-Benítez JE, Rivero-Perez N, Montiel-Díaz HE, Valladares-Carranza B, Pelaéz-Acero A, Morales-Ubaldo AL, Zaragoza-Bastida A. 2023. Comportamiento epidemiológico de la leptospirosis en México durante el periodo 2013-2019. *Revista de Salud Pública* 22: 421-427.

Yupiana Y, Valleé E, Wilson P, Weston JF, Benschop J, Collins-Emerson JM, Heuer C. 2020. On-farm risk factors associated with *Leptospira* shedding in New Zealand dairy cattle. *Journal of Epidemiology and Infection* 148: e219.

Yupiana Y, Wilson PR, Collins-Emerson JM, Weston JF, Benschop J, Valleé E, Heuer C. 2021. Vaccination practices for *Leptospira* spp, on New Zealand dairy farms. *New Zealand Veterinary Journal* 69: 299-307.

Zamora-Ledezma S, Hernandez-Camacho N, Olvera-Ramirez AM, Guerrero-Castillo MJ, Ruiz-Botello JM. 2016. Perfil sanguíneo y análisis de la seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) y coyote (*Canis latrans*) en dos zonas suburbanas de la ciudad de Querétaro, México. *Acta Zoológica Mexicana* 32: 279-285.

Zavala-Velazquez J, Pinzón-Cantarell J, Flores-Castillo M. 1984. La leptospirosis en Yucatán. Estudio serológico en humanos y animals. *Salúd Pública de México* 26: 254-259.

Zuerner RL. 2006. Laboratory maintenance of pathogenic *Leptospira*. *Current Protocols in Microbiology*. 00: 12E.1.1-12E.1.13.