

Estudio epidemiológico de leptospirosis en cobayos en la región interandina del sur del Ecuador

Epidemiological study of leptospirosis in guinea pigs in the southern interandean region of Ecuador

Katherine Carrión-Montaña^{1,*}, Víctor Montes-Zambrano², Roberto Bustillos-Huilca¹, Jhuliana Pineda-Romero¹, Claudia Quizhpe-Criollo¹ y Jhuliana Luna-Herrera¹

¹ Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, Loja- Ecuador

² Departamento de Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Manabí-Ecuador

* Autor para correspondencia: katherine.e.carrion@unl.edu.ec

Fecha de recepción del manuscrito: 25/11/2022 Fecha de aceptación del manuscrito: 30/05/2023 Fecha de publicación: 30/06/2023

Resumen—La leptospirosis es una de las zoonosis más importantes a nivel mundial, considerada una enfermedad re-emergente descuidada. En el Ecuador no existen investigaciones que permitan conocer la epidemiología de la leptospirosis en cuyes, especie de gran importancia en la alimentación de la población ecuatoriana, especialmente en sectores rurales de la región interandina; por lo que el objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de infección por *Leptospira* spp. y los factores asociados en cuyes de las parroquias Chantaco y Chuquiribamba del cantón Loja. Se estudiaron 175 animales mediante la prueba serológica de microaglutinación (MAT) y PCR convencional (gen *hapI*) a partir de muestras de orina. Se realizó una encuesta epidemiológica para obtener información sobre procedencia de animales, sistema de crianza, tipo de instalaciones, presencia de abortos, tipo de alimentación, suministro de agua, presencia de otros animales alrededor de las granjas y control de roedores; asimismo se registraron datos individuales de los animales como el sexo y la edad. Se estimó una frecuencia de infección de 6,86% (12/175). En la serología las muestras fueron positivas para los serovares Pomona, Hardjo, Tarassovi, Sejroe, Bataviae y Canicola. Los factores asociados ($p<0,05$) fueron la ubicación geográfica del predio y la presencia de gatos. Este es el primer reporte de leptospirosis en cuyes criados con fines de abastecimiento en el Ecuador, con lo que se espera que se programen estrategias para el control de la enfermedad en animales y en el ser humano.

Palabras clave—*Leptospira* spp., *Cavia porcellus*, Zoonosis.

Abstract—Leptospirosis is one of the most important zoonoses worldwide, considered a neglected emerging disease. In Ecuador, guinea pigs are very important in feeding the population, especially in rural sectors of the inter-Andean region, however there are no investigations that allow us to know the epidemiology of leptospirosis in this species. The aim of this study was to determine the frequency of infection by *Leptospira* spp. and the associated factors in guinea pigs from the Chantaco and Chuquiribamba parishes of the Loja canton. 175 animals were studied using the microagglutination serological test (MAT) and conventional PCR (*hapI* gene) from urine samples. An epidemiological survey was carried out to obtain information on geographic location, rearing system, type of facilities, presence of abortions in the farms, type of food, water supply, presence of other animals around the farms and rodent control; individual data of the animals such as sex and age were recorded. An infection frequency of 6.86% (12/175) was estimated. In serology, the samples were positive for the Pomona, Hardjo, Tarassovi, Sejroe, Bataviae and Canicola serovars. The associated factors ($p<0.05$) were the geographic location of the property and the presence of cats. This is the first report of leptospirosis in guinea pigs raised for food in Ecuador, with which it is expected that strategies and lines of action will be programmed to control the disease in the species or others that could be affected, including humans.

Keywords—*Leptospira* spp., *Cavia porcellus*, Zoonoses.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una de las zoonosis más extendidas a nivel mundial causada por especies patógenas del género *Leptospira* (Casanovas et al., 2018; Nair y Gomes, 2020). Esta enfermedad es considerada un problema emergente de salud pública afectando tanto a países en vías de

desarrollo como a países desarrollados. Una extensa variedad de mamíferos puede actuar como reservorios de especies de *Leptospira*, dentro de estos las ratas se consideran el principal reservorio de transmisión de la enfermedad (Boey et al., 2019; Koizumi et al., 2022), ya que tras la colonización renal se pueden excretar cantidades importantes del patógeno al medio ambiente a través de la orina (Ge et al., 2020).

Estudios previos realizados en cuyes en países vecinos como Perú han reportado seroprevalencias importantes del 31,61 %, 38 % y 40,5 % en los departamentos de Lima, La Concepción y Cajamarca, respectivamente; zonas que se caracterizan por poseer condiciones ambientales aptas para el mantenimiento del agente infeccioso (Gutiérrez y Morales, 2020; Luna, 2019; Vexelman *et al.*, 2017). Asimismo, Benavides *et al.* (2021) detectaron el agente infeccioso en cuyes destinados al consumo humano (1,5 %) en el municipio de Pasto Nariño (Colombia) mediante PCR.

En el Ecuador el cuy es un importante sustento alimenticio y por supuesto económico de la población indígena; para la producción de esta especie se emplean tres sistemas de crianza: familiar, familiar-comercial y comercial; de estos sistemas, el primero es el más utilizado y sus características favorecen el desarrollo de enfermedades infecciosas (Estupiñán *et al.* 2018; Chavez y Avilés, 2022), que escasamente han sido abordadas por los investigadores del país.

La prueba de microaglutinación (MAT) es la prueba de referencia internacional para el diagnóstico de leptospirosis tanto en animales como en el ser humano; la misma consiste en enfrentar los sueros problema con los antígenos vivos de *Leptospira* para detectar la presencia de aglutinación mediante microscopía de campo oscuro (Lopardo *et al.*, 2021; OIE, 2021). Sin embargo, la serología puede ofrecer una baja sensibilidad, especialmente en animales con infecciones crónicas, por lo que en las últimas décadas el uso de PCR ha permitido la detección de *Leptospira* durante la fase aguda de la infección (Mohd *et al.*, 2018; Martin *et al.* 2015).

En consecuencia, el presente estudio buscó determinar la frecuencia de infección por *Leptospira* spp., así como los factores asociados a su presencia en cuyes de las parroquias Chantaco y Chuquiribamba del cantón Loja, perteneciente a la región sur del Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional de corte transversal, durante los meses de marzo y abril del 2022. Se consideraron dentro del estudio a 100 predios en donde se aplicó una encuesta epidemiológica para conocer los factores asociados a la infección por *Leptospira* spp., la cual estuvo constituida por ocho preguntas de carácter cerrado relacionadas con: ubicación geográfica del predio, sistema de crianza, tipo de instalaciones, presencia de abortos, tipo de alimentación, suministro de agua, presencia de otros animales en los alrededores del sitio y control de roedores.

La selección de los establecimientos se hizo por el método no probabilístico (por conveniencia) al no disponer de un marco muestral de los predios de producción cavícola en la zona de estudio. En los 100 predios se seleccionaron 175 animales de forma proporcional al tamaño del predio y al sistema de crianza (Tabla 1).

El diagnóstico de leptospirosis se realizó mediante MAT y PCR convencional para detección del gen *hap1*; por lo que se recolectaron 175 muestras de sangre (5ml) mediante punción cardiaca para la posterior obtención del suero sanguíneo y 167 muestras de orina por cistocentesis para la detección de *Leptospira* patógena (en ocho animales no se pudo coleccionar cantidad suficiente para la detección).

Tabla 1: Cantidad de cuyes muestreados.

Número de animales	Número muestreado	Predios	Muestras
1 a 50	1	50	50
50 a 100	2	30	60
101 a 200	3	15	45
>200	4	5	20
Total		100	175

Diagnóstico Serológico

Para la prueba de MAT se usó un panel de siete serovares de *Leptospira interrogans* (Sejroe, Canicola, Hardjo, Bataviae, Wolffi, Pomona) y *Leptospira borgpetersenii* (Tarassovi). La detección de aglutinación se logró mediante la observación bajo microscopio de campo oscuro, considerando un punto de corte de 1/50; las muestras positivas en esta dilución (fase de screening) se titularon en diluciones dobles hasta un punto final de 1/1600; en el caso de co-aglutinaciones se tomó como positivo el serovar con la titulación más alta (OIE, 2021).

Diagnóstico por PCR convencional

Las muestras de orina fueron sometidas a un proceso de estabilización y concentración siguiendo el protocolo establecido por Stoddard (2013), que consistió en lavado con tampón fosfato salino (PBS); una vez estabilizadas las muestras fueron conservadas a -20 °C. El protocolo de extracción (Matamala, 2018), consistió en utilizar 500 µl de buffer de lisis que contiene EDTA, SDS, TRIS y ClNa y 5 µl de proteínasa K sometidas a una incubación por una hora a 56°C, después de ese tiempo se aplicó etanol al 100 % para provocar precipitación del ADN.

La detección del material genético bacteriano se realizó por PCR convencional para el gen *hap1* de 262 pb, perteneciente a *Leptospira* patógena (reverse primer “TGTTGGG-GAAATCATACGAAC”; forward primer “GCAAGCAT-TACCGCTTGTGG”) (Branger *et al.*, 2005). La amplificación de PCR consistió en un ciclo inicial de 5 min a 95°C seguida de 45 ciclos de 15 seg a 94°C, 35 seg a 56°C y 40 seg a 72°C; la extensión final fue realizada durante 10 min a 72°C. Los productos de PCR fueron cargados en gel de agarosa al 1,5 % teñido con SYBR Safe y cargados con buffer de carga 6X y sometidos a 100 voltios por 40 minutos. Para la visualización a partir de electroforesis, se colocó el gel sobre un transiluminador de luz azul (safe imagen 2.0 Invitrogen) para determinar el peso molecular de las bandas obtenidas del producto de PCR utilizando un marcador de peso molecular de 50 pb.

Todo el proceso serológico y molecular se llevó a cabo en el Laboratorio de *Leptospira* de la Universidad Técnica de Manabí.

Definición de caso

Se consideró un caso como positivo a la infección por *Leptospira* spp. a cualquier animal con resultado positivo a MAT con un punto de corte mayor o igual a de 1/50 y/o en PCR convencional.

Análisis de datos

Se construyó una base de datos en el programa Microsoft® Excel 2010 con la información de los animales incluidos en el estudio; los datos se analizaron mediante estadística descriptiva para determinar la frecuencia y distribución de la enfermedad de acuerdo a cada una de las variables; mientras que para establecer la asociación entre la infección por *Leptospira* spp. y las variables independientes, se usó la prueba exacta de Fisher, considerando un valor de p igual o inferior a 0,05. Se utilizó el programa estadístico “R” versión 4.2.1 de libre acceso.

RESULTADOS

Frecuencia de infección por *Leptospira* spp.

De acuerdo a la definición de caso, la frecuencia de infección fue de 6,86% (12/175 animales), 10 animales fueron seropositivos a MAT (5,71%) identificándose seis serovares: Pomona, Hardjo, Tarassovi, Sejroe, Bataviae y Canicola (Tabla 2); estos casos se identificaron en 11 predios. Tres animales resultaron positivos mediante PCR (Figura 1), de estos últimos, uno fue positivo en MAT.

Tabla 2: Serovares circulantes de *Leptospira* spp. en cuyes de las parroquias Chantaco y Chuquiribamba del cantón Loja

Serovares	Número de animales seropositivos		Total	Porcentaje (%)
	Chantaco	Chuquiribamba		
Pomona	1	2	3	1,71
Hardjo	1	1	2	1,14
Tarassovi	0	2	2	1,14
Sejroe	1	0	1	0,57
Bataviae	0	1	1	0,57
Canicola	1	0	1	0,57
Total	4	6	10	5,71

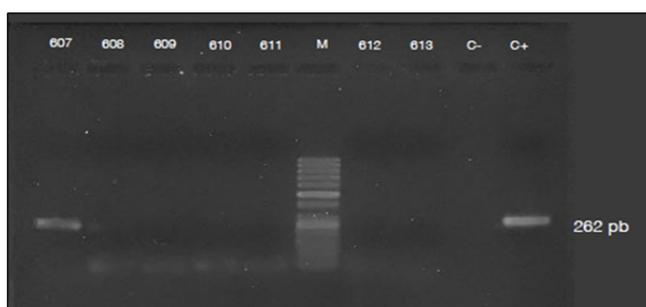


Fig. 1: Detección molecular de *Leptospira* a partir de muestras de orina en uno de los animales estudiados. Se muestra la amplificación del producto de PCR convencional para detección del gen *hap1* (262 pares de bases)

Factores asociados a la infección por *Leptospira* spp. por individuo.

De los 12 animales con evidencia de infección, seis fueron hembras y seis machos; mientras que con respecto a la edad, 10 cobayos tuvieron edades entre 8 a 10 semanas. No hubo asociación estadística entre la edad y/o el sexo respecto a la infección ($p > 0,05$) (Tabla 3).

Tabla 3: Factores asociados a la leptospirosis en cobayos de las parroquias Chantaco y Chuquiribamba, según las características individuales de sexo y edad.

Variable	Total	Positivo		Negativo		Valor de p
		Número	%	Número	%	
Sexo						
Macho	105	6	3,43	99	56,57	0,54
Hembra	70	6	3,43	64	36,57	
Edad (semanas)						
8 – 10	151	10	5,71	141	80,57	0,67
11 – 16	24	2	1,14	22	12,57	
Total	175	12	6,86	163	93,14	

Factores asociados a la infección por *Leptospira* spp., por granja.

La mayor parte de granjas con animales infectados fueron de los sectores Cañero y Reina del Cisne, de las parroquias Chantaco y Chuquiribamba, respectivamente. Las variables procedencia (por sectores) y presencia de gatos estuvieron asociadas con la infección ($p < 0,05$) (Tabla 4).

DISCUSIÓN

En este estudio se logró detectar la evidencia de infección por *Leptospira* spp. en el 6,86% de los cuyes estudiados mediante el análisis de MAT y PCR convencional, siendo este el primer reporte en el país en animales destinados a producción. Recientemente Orlando et al. (2020), reportaron el caso de un cobayo seropositivo a MAT con un título de 1/800 a partir de una investigación en mamíferos domésticos y silvestres de un centro de rescate en la ciudad de Guayaquil, atribuyendo estos resultados a la interacción entre diferentes especies animales.

En Perú, donde el consumo de cobayo es mayor aún que en el Ecuador, se hallaron seroprevalencias de 31,61%, 38% y 40,5%, esto según Vexelman et al. (2017), Luna (2019), Gutiérrez y Morales (2020), respectivamente; estas diferencias podrían atribuirse a múltiples factores como condiciones ambientales y características geográficas idóneas para el mantenimiento del agente en el ambiente, escasas medidas de bioseguridad, presencia de reservorios de mantenimiento o accidentales y el curso mismo de la enfermedad.

Los serovares identificados en este estudio están relacionados con infecciones incidentales en cobayos; así pues, *L. pomona* y *L. hardjo* tiene como hospedadores de mantenimiento a los bovinos; *L. tarassovi* es frecuentemente asociada a los cerdos; *L. canicola* se mantiene caninos; mientras que *L. sejroe* y *L. bataviae* se presentan en diferentes especies comobovinos y caninos (Putz y Nally, 2020; López et al., 2021); lo que pone en evidencia la susceptibilidad de los cobayos para infectarse con distintos serovares, algo que coincide con lo reportado por Vexelman et al. (2017), quienes identificaron anticuerpos contra los serovares *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. hardjo*. Esto demuestra la relación de los cobayos con otras especies domésticas o silvestres que cumplen el papel de hospedadores de mantenimiento, o incluso incidentales que puedan tener contacto directo o indirecto con los animales estudiados.

Tabla 4: Factores asociados a la leptospirosis en cobayos de las parroquias Chantaco y Chuquiribamba, por granja

Variable	Total de granjas	Positivos (%)	Negativos (%)	Valor de p
Procedencia (Parroquia)				1
Chantaco	50	5	45	
Chuquiribamba	50	6	44	
Procedencia (Sector)				0,02
Chantaco				
Cañaro Alto/Bajo	11	4	7	
Cumbe	14	1	13	
Chantaco, Chantaco Alto/Centro	12	0	12	
El Auxilio	7	0	7	
Fátima	5	0	5	
San Isidro	1	0	1	
Chuquiribamba				
Reina del Cisne	6	4	2	
San José	4	1	3	
Chuquiribamba	7	0	7	
Carmelo/ Bajo	9	0	9	
Calucay	2	0	2	
El Calvario	5	0	5	
La Dolorosa	3	0	3	
Hiñacapac	2	0	2	
El Pordel	1	0	1	
San Antonio	5	0	5	
San Vicente	2	0	2	
Zañe	4	1	3	
Sistema de Crianza				1
Familiar	50	5	45	
Familiar-comercial	50	6	44	
Tipo de instalaciones				1
Poza	79	9	70	
Jaulas	19	2	17	
Cocina	2	0	2	
Presencia de abortos				0,20
Si	44	7	37	
No	56	4	52	
Tipo de alimentación				0,34
Forrajes	53	4	49	
Mixta (concentrado/forraje)	47	7	40	
Administración de agua				0,21
Si	8	3	5	
No	92	8	84	
Presencia de perros				0,61
Si	89	11	78	
No	11	0	11	
Presencia de gatos				0,0011
Si	65	2	63	
No	35	9	26	
Presencia de roedores				0,52
Si	61	8	53	
No	39	3	36	
Presencia de bovinos				0,60
Si	10	0	10	
No	90	11	79	
Presencia de ovejas				0,21
Si	15	0	15	
No	85	11	74	
Presencia de equinos				1
Si	3	0	3	
No	97	11	86	
Control de roedores				0,60
Si	90	11	79	
No	10	0	10	
Total	100	11	89	

En este estudio se identificó la presencia de la bacteria eliminada en orina, por lo que es necesario recordar las serias implicaciones en la salud de las especies susceptibles de este hallazgo, tal como lo señalan Benavides et al. (2021), quienes de manera similar reportaron evidencia molecular de *Leptospira* patógena en el 1,5% de cobayos destinados al consumo humano en el municipio de Pasto (Nariño), quienes alertan de un riesgo potencial de infección para el ser humano y otras especies animales.

Por lo antes dicho, los cuyes son susceptibles, tal como sucede con otras especies a infecciones provocadas por distintos serovares, esta situación seguramente está favorecida por las condiciones de crianza con escasas medidas de bioseguridad, así como por la presencia de otros mamíferos domésticos y roedores (principales reservorios y diseminadores de la enfermedad) que tienen acceso a las instalaciones o que se encuentran en los alrededores de las granjas.

Todos los animales seropositivos registraron títulos en MAT no superiores a 1/50, lo que podría atribuirse a infecciones crónicas o recientes, en las que la prueba serológica tiene una baja sensibilidad y no es capaz de detectar anticuerpos (OIE, 2021). Esta limitación en la técnica de referencia, especialmente, en la detección de portadores crónicos de la bacteria ha sido considerado por otros investigadores como Ramirez et al. (2017), quienes para su investigación en ratas tomaron como punto de corte una dilución de 1/50 determinando la infección por serovares como Tarassovi y Sejroe. En virtud de estas limitaciones en la prueba de MAT se hace necesario el uso de técnicas de diagnóstico más sensibles y con buena especificidad.

La variable procedencia (por sectores) fue considerada en este estudio como un factor asociado a la infección, existiendo mayor número de granjas con animales positivos en los sectores Cañaro y Reina del Cisne, lugares en donde se mantenían a los cobayos en pozas al ras del piso, así mismo, en donde se registró la presencia de abortos, el ingreso de roedores a los galpones y actividades de control de roedores, situaciones que podrían incrementar el riesgo de exposición de los animales al patógeno. Vexelman et al. (2017); Gutiérrez y Morales (2020), demostraron asociación con respecto a la procedencia de los animales, esto último, lo que está relacionado con las condiciones ambientales idóneas para la supervivencia la bacteria.

Durante el proceso de levantamiento de información y muestreo de la presente investigación quedó en evidencia el hecho de que las granjas cavícolas de la zona de estudio no poseen en su mayoría sistemas adecuados de bioseguridad lo que asegura el ingreso, mantenimiento y diseminación de patógenos como *Leptospira*, a partir de otros reservorios como mamíferos domésticos o silvestres.

El 90% de encuestados en las granjas mencionaron realizar control de roedores especialmente mediante el uso de productos químicos y con la presencia de gatos. En este contexto, hay que señalar que la variable presencia de gatos estuvo estadísticamente asociada a la infección ($p < 0,05$), esto probablemente por la actividad de caza que disminuye la población de roedores que son los reservorios más importantes de *Leptospira* (Ospina et al., 2017). Sin embargo, no hay que olvidar que la interacción entre estos animales también podría favorecer la transmisión entre especies ya que los gatos son también susceptibles a la infección, tal como se ha reportado en España, en donde se estimó una prevalencia del 4,1% para esta especie (Murillo et al. 2020).

Los resultados de esta investigación toman importancia toda vez que la leptospirosis es una zoonosis de diagnóstico frecuente en el Ecuador. Las actividades de manejo y faena de esta especie podrían exponer a los productores al contagio, motivo por el cual es recomendable que se establezcan planes de control y vigilancia en las zonas estudiadas tanto en poblaciones animales como en el ser humano por parte de las autoridades sanitarias responsables de garantizar la salud animal y la salud pública del país.

CONCLUSIONES

La frecuencia de infección del 6,86%, pone en evidencia la susceptibilidad de esta especie a la infección natural por *Leptospira* spp. en áreas de producción para el consumo humano; a la vez que la identificación de los serovares Pomona, Hardjo, Tarassovi, Sejroe, Bataviae, Canicola demuestra la interacción de diferentes especies animales. Por otro lado, la detección de *Leptospira* patógena por PCR convencional demuestra el potencial riesgo de contagio no solo entre las especies animales, sino que también con el ser humano durante las actividades de manejo, convirtiéndose así en un problema de salud pública.

Los factores asociados a la leptospirosis en cuyes: procedencia (sectores) y la presencia de gatos deben tomarse considerarse dentro de la creación y establecimiento de programas de bioseguridad con el fin de reducir el riesgo de contagio entre especies en las zonas estudiadas.

AGRADECIMIENTOS

Al culminar esta investigación se agradece al personal técnico de la Universidad Nacional de Loja y de la Universidad Técnica de Manabí y a los productores de las granjas de cuyes de las parroquias Chantaco y Chuquiribamba por su disposición en la participación del este estudio.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Conceptualización: KCM y JLH; metodología: KCM, JLH, RBH, VM; análisis formal: todos los autores; investigación: todos los autores; recursos KCM, JPR, CQC; curación de datos: todos los autores; redacción — preparación del borrador original: KCM; redacción — revisión y edición: todos los autores; visualización: todos los autores; supervisión: KCM y JLH; administración de proyecto: todos los autores; adquisición de financiamiento para la investigación: KCM, JPR, CQC.

Todos los autores han leído y aceptado la versión pública del manuscrito. Katherine Carrión-Montaño KCM, Víctor Montes-Zambrano VMZ, Roberto Bustillos-Huilca RBH, Jhuliana Pineda-Romero JPR, Claudia Quizhpe-Criollo CQC, Jhuliana Luna-Herrera JLH.

FINANCIAMIENTO

El presente estudio fue cofinanciado por la Universidad Nacional de Loja y Universidad Técnica de Manabí.

REFERENCIAS

- Benavides, B. y Cisneros, H. y Peláez, R. (2021). Evidencia molecular de *Leptospira interrogans* sensu stricto en *Cavia porcellus* (cuyes) destinados para el consumo humano en el municipio de Pasto, Nariño. *Universidad y Salud*, 24(1), 55-64. <https://doi.org/https://doi.org/10.22267/rus.222401.258>
- Boey, K. y Shiokawa, K. y Rajeev, S. (2019). *Leptospira* infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. En *PLoS Neglected Tropical Diseases* (Vol. 13, Issue 8). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007499>
- Branger, C., Blanchard, B., Fillonneau, C., Suard, I., Aviat, F., Chevallier, B., & André-Fontaine, G. (2005). Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic *Leptospira* based on the gene *hap1* encoding the hemolysis-associated protein-1. *FEMS Microbiology Letters*, 243(2), 437-445. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.01.007>

- Casanovas, A. y Pedra, G. y Wunder, E. y Diggle, P. y Begon, M. y Ko, A. (2018). Quantification of *Leptospira interrogans* Survival in Soil and Water Microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/AEM.00507-18>
- Chavez-Tapia, I., & Avilés-Esquivel, D. (2022). Caracterización del sistema de producción de cuyes del cantón Mocha, Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172022000200005&script=sci_arttext
- Estupiñán, P. y Burgos, A. y Chacha, S. y Baquero, M. y Gómez, C. y Sánchez, X. y Soque, A. (2018). Linfadenitis en un plantel productor de cuyes. *Ecuador Es Calidad: Revista Científica Ecuatoriana*, 5(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.36331/revista.v5i1.33>
- Ge, Y. y Sun, A. y Ojcius, D. y Li, S. y Hu, W. y Lin, X. y Yan, J. (2020). M16-Type metalloproteinases are involved in virulence for invasiveness and diffusion of *Leptospira interrogans* and transmission of leptospirosis. *Journal of Infectious Diseases*, 222(6), 1008-1020. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa176>
- Gutiérrez, A. y Morales, S. (2020). Determinación de anticuerpos contra serovares de *Leptospira* spp en cuyes de crianza familiar-comercial en Cajabamba, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 31(4), e19043. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i4.19043>
- Koizumi, N. y Morita, M. y Pheng, V. y Wann, C. y Masuoka, H. y Higa, Y. y Wada, T. y Hirayama, K. y Ohnishi, M. y Miura, K. (2022). Rat trade and leptospirosis: Molecular epidemiology of *Leptospira* species in rats exported from Cambodia to Vietnam. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(3), 1641-1648. <https://doi.org/10.1111/tbed.14077>
- Lopardo, H. y Garrahan, J. y Predari, S. y Vay, C. (2021). Manual de microbiología clínica de la asociación Argentina de Microbiología. *Facultad de Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata, Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.: Vol. I.*
- López, G. y Cordova, F. y Sandoval, E. y Montalvo, M. (2021). Leptospirosis at human-animal-environment interfaces in Latin-America: drivers, prevention, and control measures. *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud*. <http://biotecnica.unison.mx>
- Luna, S. (2019). "Determinación serológica de títulos de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en cuyes (*Cavia porcellus*) con historial de abortos en crianza intensiva del distrito de Concepción, Junín" [Universidad Científica del Sur]. En *Universidad Científica*. <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/1749%0Ahttps://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/UCS/1259>.
- Martín, P. L., Arauz, M. S., & Stanchi, N. O. (2015). Diagnóstico de leptospirosis mediante técnicas moleculares: ventajas y limitaciones en Medicina Veterinaria. *Analecra Veterinaria*, 35.
- Matamala, A. (2018). Evaluación de la prueba MAT y PCR en sangre y orina para determinar el estatus de infección de vacas lecheras abortadas dentro de los siete días post aborto (Universidad Austral de Chile). <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2018/fvm971e/doc/fvm971e.pdf>.
- Mohd Ali, M. R., Mohd Safee, A. W., Ismail, N. H., Abu Sapien, R., Mat Hussin, H., Ismail, N., & Yean Yean, C. (2018). Development and validation of pan-*Leptospira* Taqman qPCR for the detection of *Leptospira* spp. in clinical specimens. *Molecular and Cellular Probes*, 38, 1-6. <https://doi.org/10.1016/J.MCP.2018.03.001>
- Murillo Picco, D. A. (2020). Epidemiological and clinicopathological study of *Leptospira* spp. infection in cats in Spain (Catalonia and Extremadura).
- Nair, N. y Gomes, M. (2020). A Mouse Model of Sublethal Leptospirosis: Protocols for Infection with *Leptospira* Through Natural Transmission Routes, for Monitoring Clinical and Molecular Scores of Disease, and for Evaluation of the Host Immune Response. *Current Protocols in Microbiology*, 59(1). <https://doi.org/10.1002/cpmc.127>
- OIE. (2021). Capítulo 3.01.12. Leptospirosis. En *Manual Terrestre de la IOE*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.12_Leptospirosis.pdf
- Ospina-Pinto, C., Rincón-Pardo, M., Soler-Tovar, D., & Hernández-Rodríguez, P. (2017). Papel de los roedores en la transmisión de *Leptospira* spp. en granjas porcinas. <https://www.scielosp.org/article/rsap/2017.v19n4/555-561/>
- Putz, E. y Nally, J. (2020). Investigating the Immunological and Biological Equilibrium of Reservoir Hosts and Pathogenic *Leptospira*: Balancing the Solution to an Acute Problem? *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02005>
- Ramirez, E. y Rodas, T. y López, C. y Romero, L. y Aguilar, V. (2017). Identificación de serovares de *Leptospira* spp. presentes en ratas y ratones sinantrópicos de tres cantones del municipio de Tecoluca, San Vicente, El Salvador. *Revista Agrociencia*.
- Stoddard, R. A. (2013). Detection of pathogenic leptospira spp. through real-time PCR (qPCR) targeting the lipL32 gene. *Methods in Molecular Biology*, 943, 257-266. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-353-4_17/COVER.
- Vexelman, F. y Deborah, D. y Morales, C. (2017). Detección de anticuerpos contra serovares de *Leptospira interrogans* en cuyes de crianza intensiva en Lima, Perú. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(12). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63654640034>.