

Seroprevalencia de *Leptospira* en perros ferales de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, México

Seroprevalence of *Leptospira* in feral dogs from El Pedregal de San Ángel Ecological Reserve, Mexico

Nota Técnica

Anabel Cruz-Romero¹ , Guillermo Gil-Alarcón² , José Luis Ochoa-Valencia¹ , José Rodrigo Ramos-Vásquez¹ , Dora Romero-Salas³ , Ingeborg Becker⁴ , Sokani Sánchez-Montes^{4,5} , Pablo Arenas^{2*} 

¹Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas. Veracruz, México.

²Universidad Nacional Autónoma de México, Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel-REPSA, Ciudad de México, México.

³Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Laboratorio de Parasitología. Veracruz, México.

⁴Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina, Unidad de Investigación en Medicina Experimental. Ciudad de México, México.

⁵Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Región Poza Rica-Tuxpan. Veracruz, México.

*Autor para correspondencia: pabloaape@comunidad.unam.mx

RESUMEN

La leptospirosis es la enfermedad zoonótica más ampliamente distribuida a nivel mundial, la cual es causada por 17 especies de espiroquetas del género *Leptospira*. Los miembros patógenos de este género bacteriano se relacionan con una amplia gama de hospederos vertebrados, en particular con cánidos, en los cuales pueden generar un amplio abanico de signos clínicos. Dado que se ha identificado que los perros fungen como una unidad centinela que permite identificar el grado de diseminación de estas bacterias en el medio, la vigilancia epidemiológica resulta prioritaria en estos hospederos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue identificar la seropositividad de la leptospirosis en cánidos de libre rango y ferales en una reserva ecológica urbana en la Ciudad de México, y explorar sus implicaciones en salud pública y medicina de la conservación. Se obtuvieron muestras de suero de 19 caninos, a los cuales se realizó la prueba de aglutinación microscópica (MAT, por sus siglas en inglés). El porcentaje de anticuerpos anti-*Leptospira* spp. en perros ferales fue de 100 % (IC 95 % 82,3-100), con una seroreactividad para tres serovariedades. Este es el primer trabajo realizado que identifica el grado de exposición a *Leptospira* spp. en perros ferales en México, en particular en una reserva ecológica.

Palabras clave: Zoonosis; *Leptospira interrogans*; *Leptospira borgpetersenii*; vigilancia epidemiológica; medicina de la conservación; cánidos ferales

ABSTRACT

Leptospirosis is the most widely distributed zoonotic disease worldwide, which is caused by 17 species of spirochetes of the genus *Leptospira*. These microorganisms are associated with a wide range of vertebrate hosts, particularly canids, in which they can generate a wide range of clinical signs, which can go from a subclinical infection to acute cases that generates liver and / or kidney dysfunction. Given that dogs are considered as sentinel units that allows identifying the degree of dissemination of these bacteria in the environment, for this reason epidemiological surveillance is a priority in these hosts. The aim of this study was to identify the sero-reactivity against the species of the genus *Leptospira* in free-range and feral canids in an urban ecological reserve in Mexico City and explore its implications for public health and conservation medicine. Serum samples were obtained from 19 dogs, which were subjected to the microscopic agglutination test (MAT). The frequency of anti-*Leptospira* spp. antibodies in feral dogs was 100% (95% CI 82.3-100), with sero-reactivity against three serovars. This is the first approach that identifies the degree of exposure to *Leptospira* spp. in feral dogs in Mexico, particularly in an Ecological Reserve.

Key word: Zoonoses; *Leptospira interrogans*; *Leptospira borgpetersenii*; epidemiological surveillance; conservation medicine; feral dogs

INTRODUCCIÓN

Las especies introducidas a una nueva área geográfica son un claro desafío para la conservación de la biodiversidad a nivel global. Cuando se trata de especies domésticas, como los perros (*Canis lupus familiaris*) y gatos (*Felis catus*), se convierten en un reto aun mayor debido a su estrecha relación con los seres humanos [1]. Los perros se consideran animales de compañía, sin embargo, dada su habilidad para desarrollarse como animales de libre rango o ferales, su presencia en el medio silvestre resulta en un conflicto con la fauna local (poniendo en peligro a 188 especies y contribuyendo a la extinción de 11 vertebrados), por lo cual generan un impedimento en las metas de conservación [2, 3, 4, 5]. Los programas de Captura–Esterilización–Liberación (TNR, por sus siglas en inglés) no muestran un éxito en el control de especies ferales (perros y gatos). En estos casos la eutanasia, esterilización y adopción de animales abandonados, son las medidas más efectivas, a pesar de ello, la eutanasia mantiene una percepción pública negativa, debido a que los perros se asocian como animales de compañía [1]. Los efectos de la presencia de especies ferales sobre la fauna silvestre dependerán del manejo que se les dé (libre rango o ferales) y de la cercanía con áreas naturales protegidas [2, 3, 4, 5].

En áreas naturales protegidas como la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel [REPSA] de Ciudad Universitaria, el impacto de la fauna exótica y feral está ampliamente registrado [6]. Esta fauna feral genera una perturbación y como consecuencia un efecto (por lo general negativo) decisivo en la estructura y composición de la fauna nativa [7]. La REPSA continúa con el interés por conservar un espacio de alto valor biológico que contiene los últimos relictos de ecosistemas naturales del sur del Valle de México. Sin embargo, el continuo impacto y destrucción de pedregales remanentes en Ciudad Universitaria generan un declive en la biodiversidad, relacionado con la aparición de enfermedades infecciosas. En perros ferales de la REPSA se tienen registros serológicos de títulos de anticuerpos contra la rabia, *Toxoplasma gondii* y parvovirus [7]. Así mismo, mediante técnicas moleculares se ha demostrado la presencia de *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *Ehrlichia canis* y *Mycoplasma haemocanis*, tres agentes bacterianos con potencial zoonótico de transmisión vectorial [8].

Hasta ahora no se han realizado monitoreos para la identificación de agentes transmitidos por consumo de agua como *Leptospira* spp. El género *Leptospira* engloba 64 especies de espiroquetas con más de 300 serovariedades, dentro de las cuales se reconoce la existencia de 17 especies patógenas asociadas con múltiples órdenes de mamíferos en el mundo [9]. En particular, los perros registran una especie, *Leptospira interrogans*, con dos serovariedades principales: Canicola, reconocida como causante de daño renal e Icterohemorragiae asociada con daño hepático [10]. El papel de los perros como reservorios de estas leptospiras es aún incierto, ya que algunas razas pueden desarrollar una afección sistémica que puede comprometer la vida, mientras que otras cursan con infecciones subclínicas [11]. Sin embargo, dados sus hábitos de amplio desplazamiento, se reconoce su papel como unidades centinela de las especies y serovares de *Leptospira* que circulan en una región [12]. Por tal motivo el objetivo del presente trabajo fue identificar la seroprevalencia de *Leptospira* sp. en perros ferales de la REPSA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel se localiza al sur de la Ciudad de México en el campus de Ciudad Universitaria de la

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) (N19°18'31"–19°19'17" | W99°10'20"–99°11'52"). La REPSA se divide en tres áreas núcleo (171 hectáreas divididas por rejas) y 13 áreas de amortiguamiento (66 hectáreas) que corresponden al 30 % del campus de Ciudad Universitaria (FIG. 1).

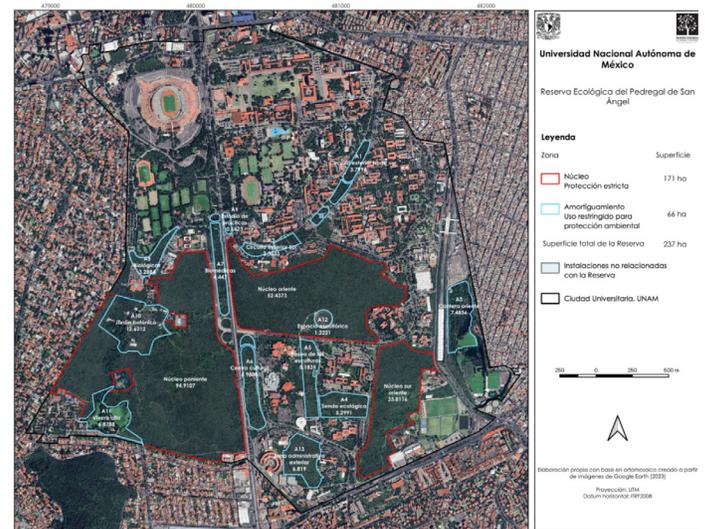


FIGURA 1. Mapa de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel en Ciudad Universitaria

La temperatura media anual es de 17°C con una precipitación de 870 mm donde se pueden distinguir claramente la época de lluvias y la época secas [13]. Históricamente se han registrado 33 especies de mamíferos, 20 especies de reptiles y 130 especies de aves [14, 15]. Así mismo, la REPSA brinda una serie de servicios ambientales para el funcionamiento hidrológico de los mantos freáticos del sur de la Cuenca de México [16].

Captura y toma de muestras

Los perros fueron capturados dentro de la REPSA o en sus inmediaciones durante el periodo comprendido de septiembre de 2015 y julio de 2018. Se usaron fototrampas (Bushnell, Trophy Cam HD, EUA) para observar patrones de actividad, trampas Tomahawk (Tomahawk Live Trap Co., Tomahawk, Wisconsin, EUA) y trampas de collar (Wildlife Control Supplies, Modelo de perro doméstico Collarum, US) para la captura. Todas las trampas fueron cebadas con carne, pollo o comida comercial para mascotas, activadas por la tarde (17:00–19:00) y revisadas cada dos horas durante la noche. La captura de los animales que no fueron atrapados con las trampas Tomahawk y de collar se realizó con una pistola de dardos y cerbatana. Para la inmovilización química se usó una combinación de ketamina/xilacina (Wildlife Pharmaceuticals Mexico SA de CV, México) a dosis de 10 mg·kg⁻¹ y 2 mg·kg⁻¹ respectivamente [17].

Se elaboró un formato de registro individual de los animales capturados que incluía sexo, edad aproximada y sitio de captura. La edad de los perros se determinó mediante observaciones en la dentadura (presencia de dientes permanentes, el desgaste progresivo y cúmulo de sarro).

De cada perro capturado se obtuvo una muestra de sangre de la vena yugular (5–10 mL), colectadas en tubos al vacío sin anticoagulante (Vacutainer® tapón rojo). Todas las muestras se procesaron en las 24 horas después de la toma. El suero fue separado mediante centrifugación a 1.600 G durante 10 min y se transfirió a viales de 500 µL. Posteriormente, en tubos de polietileno se tomaron 60 µL de suero y se agregaron con 1.440 µL de solución salina fisiológica para un volumen final de 1.500 µL y una dilución inicial 1:25. Las muestras así preparadas se almacenaron a -20°C hasta el momento de realizar las pruebas para detección de anticuerpos contra *Leptospira* spp.

Siguiendo el protocolo aprobado por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, permiso: SGPA/DGVS/03670/2015 y SGPA/DGVS/005615/18 autorización para el manejo, control y remediación de problemas asociados a ejemplares o poblaciones que se tornen perjudiciales (perros y gatos), se realizó la eutanasia de los perros con una sobredosis de pentobarbital sódico (Salud y Bienestar Animal, México) y se remitieron al control de perros y gatos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Pruebas serológicas

La presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* spp. en los sueros recolectados, se confirmó mediante una prueba tamiz llevada a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana. Para identificar la reacción antígeno-anticuerpo, en una placa de ELISA de 96 pozos se colocaron 50 µl de la dilución inicial (1:25) y se agregaron 50 µl de ocho serovariedades pertenecientes a cuatro especies de *Leptospira* (TABLA I).

El procedimiento fue el siguiente: en cada pozo se colocaron 50 µL de PBS y 50 µL de la dilución inicial (1:25) para obtener una dilución de 1:50. La mezcla se homogenizó y la reacción se evaluó por medio de microscopía de campo oscuro. Se consideró el punto de corte como la dilución más alta donde se observó el 50 % de bacterias aglutinadas y el otro 50 % libres. Las muestras positivas fueron tituladas para evaluar la exposición por serovar y especie de *Leptospira*, considerando como positivos aquellos sueros con títulos mayores o igual a 1:25.

RESULTADOS Y DISCUSION

Hasta donde sabemos, este es el primer trabajo realizado para identificar el grado de exposición a *Leptospira* spp. en perros ferales en México y en particular en una reserva ecológica urbana. A pesar de que los perros son considerados una especie centinela, para la identificación de la dinámica de las especies de *Leptospira* circulantes en el medio, son escasos los trabajos publicados donde se ha realizado vigilancia epidemiológica. La mayoría se concentra en los estados costeros de Campeche, Chiapas, Jalisco, Sinaloa, Veracruz y Yucatán, sin embargo, no se cuenta con registros provenientes del centro del país [18, 19, 20, 21, 22, 23, 24].

En total se capturaron 19 perros: 9 machos (3 juveniles y 6 adultos) y 10 hembras (4 juveniles y 6 adultos), distribuidos en las zonas núcleo (13 perros), en las áreas de amortiguamiento (2 perros) y en la periferia de la reserva (4 perros). Las 19 muestras de sueros exhibieron títulos de aglutinación iguales o superiores a 1:25 con al menos un serovar del panel implementado. Los serovares más frecuentes registrados en 14 muestras fueron Ballum y Tarassovi pertenecientes a las especies *L. borgpetersenii* y *L. santarosai*, respectivamente, seguidos por Bratislava, Canicola e *Icterohaemorrhagiae* pertenecientes a *L. interrogans* en 13 muestras. En contraparte, el serovar que registró la frecuencia más baja fue Pomona con solo seis muestras positivas. Los títulos de anticuerpos variaron desde 1:25 hasta 1:25.600 (TABLA II). Los títulos más elevados fueron registrados ante los serovares Ballum y Tarassovi con un valor de 1:25.600 en dos hembras adultas, seguidas por Canicola con un título de 1:12.800 en un macho adulto.

En la REPSA, el porcentaje de títulos de anticuerpos anti-*Leptospira* spp. en perros de libre rango fue de 100 % (IC 95 % 82,3–100) y presentaron reacción para tres serovariedades (recurrentemente reportadas en roedores) [25], posiblemente atribuible a la ingesta de roedores sinantrópicos y/o silvestres.

L. santarosai serovar Tarassovi ha sido reportado en perros provenientes de regiones más rurales en los estados de Veracruz y Chiapas [19, 21]. Recientemente se detectó su presencia en murciélagos filostómidos del Golfo de México [26, 27]. Aunque no se ha documentado la ingesta de murciélagos por parte de cánidos, no se puede descartar el contacto indirecto a través de fuentes de agua contaminada con orina de estos quirópteros.

En estudios previos realizados en perros provenientes de perreras o con propietarios en zonas urbanas de los estados de Campeche, Ciudad de México y Veracruz [18, 19, 28, 29] se identificó como agente principal a *L. interrogans* serovar canicola, especie que registró títulos y porcentajes bajos en el presente estudio. Posiblemente, debido a los hábitos de los animales del presente estudio de internarse en una reserva ecológica, con estrecho contacto entre miembros de un grupo cerrado y la falta de contacto con otros perros que pudieran estar infectados con el serovar Canicola [19, 24], puede existir un recambio de serovares y especies de *Leptospira* condicionado por el contacto con otros animales silvestres que habitan en la zona como mesocarnívoros y roedores [7].

Adicionalmente, los amplios patrones de movimiento que exhiben los perros ferales los vuelven un riesgo para la movilización de diferentes serovares de *Leptospira*, como se ha demostrado en otras enfermedades como la fiebre manchada de las montañas rocallosas [30] particularmente hacia hospederos con escasa vagilidad o que cuentan con una distribución restringida como muchas especies que habitan en la reserva [7, 8, 31].

TABLA I

Panel serológico utilizado en la microaglutinación de los sueros

Especie	Serovariedad
<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Ballum Mus 127 (BAL)
	Sejroe M84 (SEJ)
	Bratislava Jez Bratislava (BRA)
<i>Leptospira interrogans</i>	Canicola Hond utrecht IV (CAN)
	<i>Icterohaemorrhagiae</i> (ICT)
	Pomona Pomona (POM)
<i>Leptospira kirschneri</i>	Grippytyphosa Cal 4 (GRY)
<i>Leptospira santarosai</i>	Tarassovi Moca 45 (TAR)

TABLA II
Títulos de anticuerpos detectados en perros ferales de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel

Identificador	Sexo	Edad	<i>Leptospira borgpetersenii</i>			<i>Leptospira interrogans</i>			<i>Leptospira kirschneri</i>	<i>Leptospira santarosai</i>
			BAL	SEJ	BRA	CAN	ICT	POM	GRI	TAR
1	Hembra	Adulto	1:800	-	-	-	-	-	-	-
2	Macho	Adulto	1:50	1:100	1:100	1:12.800	-	-	1:25	1:12.800
3	Hembra	Adulto	1:50	1:200	1:25	1:25	1:400	-	1:25	1:25.600
4	Macho	Adulto	-	1:25	1:25	1:800	1:200	-	-	1:6.400
5	Hembra	Adulto	1:25	-	-	-	1:400	1:25	-	1:25
6	Hembra	Adulto	1:50	1:50	-	-	1:200	1:25	1:25	1:12.800
7	Hembra	Adulto	1:25.600	1:200	1:200	1:400	1:25	-	-	1:800
8	Macho	Cría	1:50	-	1:200	1:25	1:25	-	1:50	-
9	Hembra	Adulto	1:400	1:25	-	1:200	1:25	-	-	-
10	Hembra	Cría	1:100	1:50	1:25	-	1:100	-	1:100	1:400
11	Macho	Cría	-	1:50	-	-	1:25	-	-	1:50
12	Hembra	Cría	1:800	1:50	1:25	1:100	-	-	1:100	1:200
13	Macho	Adulto	-	-	1:25	1:25	-	-	-	-
14	Macho	Adulto	1:100	1:25	1:50	1:50	-	1:100	-	-
15	Hembra	Cría	-	1:25	1:25	1:50	1:200	1:50	1:25	1:200
16	Macho	Adulto	1:100	-	-	1:50	-	-	1:25	1:200
17	Macho	Cría	-	1:100	1:25	-	1:800	1:25	-	1:3.200
18	Hembra	Cría	1:25	-	1:25	1:1.600	-	1:50	1:50	1:12.800
19	Macho	Adulto	1:800	-	1:25	1:6.400	1:400	-	1:100	1:800

Cabe mencionar que desde el 2011 se hace un monitoreo y control continuo de perros ferales y de libre rango en la REPSA y su periferia. Durante este tiempo se observaron varias jaurías que se movían por las más de 700 hectáreas de Ciudad Universitaria. Para 2019, se controló eficazmente el total de la población de perros ferales de la reserva ecológica (alrededor de 100 perros) [31]. Sin embargo, se siguen observando perros callejeros, perdidos y abandonados en Ciudad Universitaria los cuales son manejados y controlados rápidamente para evitar que se repita la situación.

Finalmente, resulta importante destacar que los perros sin tenencia responsable han sido señalados como una fuente para la infección humana en muchos países tropicales [32]. Por tal motivo, controlar las poblaciones de ferales resulta prioritario para contener la diseminación activa de estos patógenos bacterianos no solo en la comunidad de mamíferos de la REPSA sino también hacia las poblaciones humanas aledañas.

CONCLUSIONES

El porcentaje de anticuerpos anti-*Leptospira* spp. en perros ferales fue de 100 % (IC 95 % 82,3-100), con una seroreactividad para tres serovariedades. Este es el primer trabajo realizado que identifica el grado de exposición a *Leptospira* spp. en perros ferales en México, en particular en una reserva ecológica.

En función de los hallazgos del presente estudio, resulta fundamental continuar con el monitoreo de los miembros del género *Leptospira* en perros y gatos ferales y de libre rango. Solo mediante esta actividad sería posible identificar nuevas interacciones con mamíferos silvestres. Adicionalmente resulta importante destacar

que existe un riesgo importante para las poblaciones humanas al acarrear especies que no circulan de manera convencional en las zonas urbanas y que pueden causar enfermedad tanto en animales de compañía como sus propietarios.

Soporte financiero

El proyecto fue parcialmente financiado por el proyecto UNAM-PAPIIT IG201221.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Disponibilidad de código o datos

Los datos generados en este trabajo se encuentran declarados a lo largo de todo el manuscrito.

Declaración de ética

Los autores confirman que se han cumplido las políticas éticas de la revista, como se indica en la página de pautas para autores de la revista. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética y Bienestar Animal de la Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Veracruz, México.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Home C, Bhatnagar Y, Vanak A. Canine Conundrum: domestic dogs as an invasive species and their impacts on wildlife in India. Anim. Conserv. [Internet] 2018; 21(4):275-282. <https://doi.org/gd38tt>

- [2] Gompper M. The dog-human-wildlife interface: assessing the scope of the problem. In: Gompper ME, editor. *Free-ranging Dogs and Wildlife Conservation* [Internet]. Oxford (GB): Oxford University Press; 2014. p. 9-54. <https://doi.org/m8dt>
- [3] Doherty TS, Dickman CR, Glen AS, Newsome TM, Nimmo DG, Ritchie EG, Vanak AT, Wirsing AJ. The global impacts of domestic dogs on threatened vertebrates. *Biol. Conserv.* [Internet]. 2017; 210(Part. A):56-59. <https://doi.org/gbqqmr>
- [4] Woollett DAS, Hurt A, Richards NL. The current and future roles of free-ranging detection dogs in conservation efforts. In: Gompper ME, editor. *Free-ranging Dogs and Wildlife Conservation* [Internet]. Oxford (GB): Oxford University Press; 2014. p. 239-264. <https://doi.org/m8dw>
- [5] Young J, Bergman D, Ono M. Bad dog: feral and free-roaming dogs as agents of conflict. *Anim. Conserv.* [Internet]. 2018; 21(4):285-286. <https://doi.org/m8cz>
- [6] Martínez-Orea Y, Castillo-Argüero S, Hernández-Apolinar M, Guadarrama-Chávez M, Orozco-Segovia A. Seed rain after a fire in a xerophytic shrubland. *Rev. Mex. Biodivers.* [Internet]. 2012; 83(2):447-457. <https://doi.org/m8dz>
- [7] Suzán G, Ceballos G. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two nature reserves within Mexico City limits. *J. Zoo. Wildl. Med.* [Internet]. 2005; 36(3): 479-484. <https://doi.org/c7ggnf>
- [8] Arenas P, Gil-Alarcón G, Sánchez-Montes S, Soto-Trujillo MP, Fernández-Figueroa E, Rangel-Escareño C. Molecular detection of *Bartonella*, *Ehrlichia* and *Mycoplasma* in feral dogs of El Pedregal de San Angel Ecological Reserve in Mexico City. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* [Internet]. 2019; 28(4): 728-734.
- [9] Picardeau M. *Leptospira* and Leptospirosis. In: Koizumi N, Picardeau M, editors. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 2134. [Internet]. New York: Humana Press; 2020. p. 271-275. <https://doi.org/m8c2>
- [10] Ajayi OL, Antia RE, Oladipo TM. Dissemination kinetics and pathology of canine *Leptospira icterohaemorrhagiae* isolate in a guinea pig infection model. *J. Immunoassay. Immunochem.* [Internet]. 2021; 42(3):314-334. <https://doi.org/m8d4>
- [11] Putz EJ, Nally JE. (2020). Investigating the Immunological and Biological Equilibrium of Reservoir Hosts and Pathogenic *Leptospira*: Balancing the Solution to an Acute Problem? *Front. Microbiol.* [Internet]. 2020; 11:2005. <https://doi.org/m8c3>
- [12] Bowser NH, Anderson NE. Dogs (*Canis familiaris*) as Sentinels for Human Infectious Disease and Application to Canadian Populations: A Systematic Review. *Vet. Sci.* [Internet]. 2018; 5(4):83. <https://doi.org/gbxmk5>
- [13] EstañoI-Tecuatl F, Cano-Santana Z. Recovery of Basalt substrate for xeric scrub restoration in a Lava Field in Mexico City. *Ecol. Restor.* [Internet]. 2017; 35(1):41-51. <https://doi.org/m8gc>
- [14] Castillo-Argüero S, Martínez-Orea Y, Romero-Romero MA, Guadarrama-Chávez P, Nuñez-Castillo O, Sánchez-Gallen I, Meave JA. La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Aspectos Florísticos y Ecológicos [Internet]. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2007 [consultado 24 Ene. 2024]. 287 p. Disponible en: <https://goo.su/SZafrUZ>
- [15] Hortelano-Moncada Y, Cervantes FA, Trejo-Ortiz A. Wild mammals of Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Ciudad Universitaria, UNAM, México, D.F. *Rev. Mex. Biodivers.* [Internet]. 2009 [consultado 24 Ene. 2024]; 80(2):507-520. Disponible en: <https://goo.su/3E2WoO>
- [16] Palacio-Prieto JL, Guilbaud MN. Patrimonio natural de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel y áreas cercanas: sitios de interés geológico y geomorfológico al sur de la Cuenca de México. *Bol. Soc. Geol. Mex.* [Internet]. 2015 [consultado 24 Ene. 2024]; 67(2):227-244. Disponible en: <https://goo.su/OC8qzm3>
- [17] Plumb DC. *Veterinary drug handbook*. 7th ed. Stockholm (Wisconsin, USA): PharmaVet Inc; 2011. 4050 p.
- [18] Blum-Domínguez S, Chi-Dzib MY, Maldonado-Velázquez, MG, Nuñez-Oreza LA, Gómez-Solano MI, Caballero-Poot RI, Tamay-Segovia P. Detection of reactive canines to *Leptospira* in Campeche City, Mexico [Internet]. *Rev. Argent. Microbiol.* 2013 [consultado 24 Ene. 2024]; 45(1):34-38. Disponible en: <https://goo.su/JI9daj0>
- [19] Cruz-Romero A, Romero-Salas D, Ahuja-Aguirre C, Aguilar-Domínguez M, Bautista-Piña C. Frequency of canine leptospirosis in dog shelters in Veracruz, Mexico. *Afr. J. Microbiol. Res.* [Internet]. 2013; 7(16):1518-1521. <https://doi.org/m8c4>
- [20] Hernández-Ramírez CV, Gaxiola-Camacho SM, Osuna-Ramírez I, Enriquez-Verdugo I, Castro del Campo N, López-Moreno HS. Prevalence and risk factors associated with serovars of *Leptospira* in dogs from Culiacan, Sinaloa. *Vet. Mex. OA.* [Internet]. 2017; 4(2):32-43. <https://doi.org/m8c5>
- [21] Jimenez-Coello M, Ortega-Pacheco A, Guzman-Marin E, Guiris-Andrade DM, Martinez-Figueroa L, Acosta-Viana KY. (2010). Stray dogs as reservoirs of the zoonotic agents *Leptospira interrogans*, *Trypanosoma cruzi*, and *Aspergillus* spp. in an urban area of Chiapas in southern Mexico. *Vector Borne Zoonotic Dis.* [Internet]. 2010; 10(2):135-141. <https://doi.org/bcgmw7>
- [22] Jimenez-Coello M, Vado-Solis I, Cárdenas-Marrufo MF, Rodríguez-Buenfil JC, Ortega-Pacheco A. Serological survey of canine leptospirosis in the tropics of Yucatan Mexico using two different tests. *Acta Trop.* [Internet]. 2008; 106(1), 22-26. <https://doi.org/dz4knw>
- [23] Sepúlveda-Montes A, Santiago-Dimas J, Preciado-Rodríguez FJ. La rata y el perro, importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco. *Rev. Cubana Med. Trop.* [Internet]. 2002 [consultado 10 Ene. 2024]; 54(1):21-23. Disponible en: <https://goo.su/zOSJUJ>
- [24] Torres-Castro M, Díaz-Aceves D, Suárez-Galaz A, Reyes-Novelo E, Rodríguez-Vivas R. Evidencia de *Leptospira* spp. en sangre de perros de una comunidad rural de Yucatán, México. *Rev. MVZ Córdoba.* [Internet]. 2021; 26:e2098. <https://doi.org/m8gg>
- [25] Carrasco-Román E, Medina JP, Salgado-Miranda C, Soriano-Vargas E, Sánchez-Jasso JM. Contributions on the diet of free-ranging dogs (*Canis lupus familiaris*) in the Nevado de Toluca Flora and Fauna Protection Area, Estado de México, Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* [Internet]. 2021; 92(1):e923495. <https://doi.org/m8gh>
- [26] Ballados-González GG, Sánchez-Montes S, Romero-Salas D, Colunga Salas P, Gutiérrez-Molina R, León-Paniagua L, Becker I, Méndez-Ojeda ML, Barrientos-Salcedo C, Serna-Lagunes R, Cruz-Romero A. Detection of pathogenic *Leptospira* species

associated with phyllostomid bats (Mammalia: Chiroptera) from Veracruz, Mexico. *Transbound. Emerg. Dis.* [Internet]. 2018; 65(3):773–781. <https://doi.org/gdjj3g>

- [27] Torres–Castro M, Febles–Solís V, Hernández–Betancourt S, Noh–Pech H, Estrella E, Peláez–Sánchez R, Panti–May A, Herrera–Flores B, Reyes–Hernández B, Sosa–Escalante J. *Leptospira* patógenas en murciélagos de Campeche y Yucatán, México. *Rev. MVZ Córdoba.* [Internet]. 2020; 25(2):e1815. <https://doi.org/kq3t>
- [28] Martínez–Barbabosa I, Alpizar–Sosa E, Gavaldón–Rosas D, Moles–Cervantes L, Gutiérrez–Cárdenas M, García–González R, Shea M, Fernández–Presas A. Canine Leptospirosis Serology in Southern Mexico City. *Open. J. Med. Microbiol.* [Internet]. 2016; 6(4):171–180. <https://doi.org/m8gj>
- [29] Rivera–Flores A, de la Peña–Moctezuma A, Roa–Riol M, Ordoñez–Badillo ML. Seroprevalencia de leptospirosis en perros callejeros del norte de la ciudad de México. *Vet. Mex.* [Internet]. 1999 [consultado 10 Ene. 2024]; 30(1):105–107. Disponible en: <https://goo.su/ILjMF>
- [30] Marcek J, Foley J, Backus L, Suzan G, López–Pérez AM. (2023). Potential shared disease risk among dogs and coyotes (*Canis latrans*) exemplified by the ecology of rickettsiosis in a rocky mountain spotted fever–epidemic region in northern Mexico. *J. Wildl. Dis.* 2023; 59(4):722–733. <https://doi.org/m8c6>
- [31] Zambrano L, Rodríguez–Palacios S, Pérez–Escobedo M, Gil–Alarcón G, Camarena A, Lot A. *La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Atlas de Riesgos.* 2da ed. [Internet]. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2016 [consultado 24 Ene. 2024]. 56 p. Disponible en: <https://goo.su/WEuVnXr>
- [32] Sohn–Hausner N, Kmetiuk LB, da Silva EC, Langoni H, Biondo AW. (2023). One Health Approach to Leptospirosis: Dogs as Environmental Sentinels for Identification and Monitoring of Human Risk Areas in Southern Brazil. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2023; 8(9):435. <https://doi.org/m8c7>