

Frecuencia de *Borrelia burgdorferi sensu lato* y *Leptospira* spp. en pequeños roedores de Yucatán, México

Frequency of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Leptospira* spp. in small rodents from Yucatan, Mexico

Gerardo Dzib-Paredes¹ , Roger Iván Rodríguez-Vivas¹ , Alonso Panti-May² , Henry Noh-Pech³ ,
José Alberto Rosado-Aguilar¹  y Marco Torres-Castro^{3*} 

¹Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Laboratorio de Parasitología. Mérida, Yucatán, México. ²Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Zoonosis y otras Enfermedades Transmitidas por Vector. Mérida, Yucatán, México. ³Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes. Mérida, Yucatán, México.

*Correo electrónico: antonio.torres@correo.uady.mx

RESUMEN

Las bacterias espiroquetas *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.) y *Leptospira* spp. ocasionan la borreliosis de Lyme y leptospirosis, respectivamente, ambas enfermedades zoonóticas de importancia en salud pública. En sus respectivos ciclos epidemiológicos, los pequeños roedores son hospedadores accidentales y reservorios naturales de estas bacterias. Se capturaron pequeños roedores en las comunidades marginadas de Chan San Antonio y Sucopó, ubicadas en la zona oriente de Yucatán, México. Se tomaron muestras de vejiga, oreja y riñón y se utilizaron para la extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico que se empleó para la búsqueda de ADN de *B. burgdorferi* s.l. y *Leptospira* spp. Se capturaron un total de 82 roedores de las especies *Mus musculus*, *Rattus rattus* y *Heteromys gaumeri*. En las muestras estudiadas no se encontró ADN de *B. burgdorferi* s.l. La infección con *Leptospira* spp. fue de 1,21 % (1/82). El único individuo positivo perteneció a la especie *M. musculus*. Se concluye que, si bien la frecuencia de infección con *Leptospira* spp. fue baja y que no se encontró evidencia de ADN de *B. burgdorferi* s.l. en la población estudiada de roedores, no puede descartarse su participación como hospederos accidentales o reservorios en los respectivos ciclos de transmisión de los géneros bacterianos evaluados.

Palabras clave: Pequeños roedores; *Leptospira* spp.; *Borrelia burgdorferi sensu lato*; infección; frecuencia

ABSTRACT

The spirochetes bacteria *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.) and *Leptospira* spp. cause Lyme borreliosis and leptospirosis, respectively, both zoonotic diseases of public health importance. In their respective epidemiological cycles, small rodents are accidental hosts and natural reservoirs of these bacteria. Small rodents in two the marginalized communities of Chan San Antonio and Sucopó located in the eastern zone Yucatán, Mexico were captured. Bladder, ear, and kidney samples were taken and used in the genomic deoxyribonucleic acid (DNA) extraction that was used for DNA search of *B. burgdorferi* s.l. and *Leptospira* spp. A total of 82 rodents of the species *Mus musculus*, *Rattus rattus*, and *Heteromys gaumeri* were captured. There was no evidence of *B. burgdorferi* s.l. DNA in the studied samples. Infection with *Leptospira* spp. was 1.21 % (1/82). The only positive individual belonged to the *M. musculus* species. It is concluded that, although the frequency of infection with *Leptospira* spp. was low and no evidence of DNA *B. burgdorferi* s.l. was found in the rodent studied population, their participation as accidental hosts or reservoirs in the respective transmission cycles of the genera bacteria evaluated cannot be discarded.

Key words: Small rodents; *Leptospira* spp.; *Borrelia burgdorferi sensu lato*; infection; frequency

INTRODUCCION

Los pequeños roedores que habitan la península de Yucatán, conformada por los estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán en el sureste de México, han sido implicados en los ciclos de transmisión y epidemiológicos de numerosos agentes etiológicos que ocasionan enfermedades zoonóticas con importancia en salud pública y animal. Dentro de éstos, las especies de roedores sinantrópicos o comensales *Mus musculus* (conocido como "ratón común" o "ratón doméstico") y *Rattus rattus* (conocida como "rata negra o "rata de barco"), y la especie silvestre *Heteromys gaumeri* (conocida como "ratón de abazones") tienen particular importancia debido a su distribución y la amplia extensión de las áreas que ocupan, por lo que es frecuente encontrarlos en ambientes silvestres (conservados) y con acción antropogénica como peridomicilios e interiores de viviendas [20, 37].

Borrelia es un género de bacterias espiroquetas que contiene alrededor de 41 especies que se transmiten por la picadura de ectoparásitos [34]. Históricamente, el género ha sido dividido en dos grandes grupos según los principales ectoparásitos (reservorios y vectores) que transmiten a las especies que los conforman y las características epidemiológicas de las enfermedades que ocasionan: 1) el grupo de la fiebre recurrente epidémica o fiebre reincidente, transmitida principalmente por garrapatas de la familia Argasidae, y 2) el complejo de *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.) que contiene especies transmitidas principalmente por garrapatas de la familia Ixodidae y que ocasionan la borreliosis de Lyme [17, 18]. Dentro de los ciclos enzoóticos de ambos grupos, los pequeños mamíferos, entre ellos los roedores, son relevantes por que pueden mantener a las bacterias en sus organismos y también porque son hospedadores accidentales de los artrópodos que transmiten a las especies de *Borrelia* [29, 43].

En México, la infección clínica con *B. burgdorferi* s.l. (borreliosis de Lyme o fiebre transmitida por garrapatas) en humanos, ha sido registrada en varios Estados del país, sobre todo en habitantes de los Estados del noreste y centro [8, 10, 25]. De igual forma, también se han realizado encuestas serológicas en seres humanos con frecuencias de anticuerpos contra *Borrelia* en distintos grupos etarios [7, 9].

Leptospira es un género de bacterias espiroquetas con importancia en salud pública y animal. Las 18 especies del grupo patógeno ocasionan la enfermedad conocida como leptospirosis, tanto en seres humanos como en animales infectados, por lo que se han documentado casos en todo el mundo con distintas tasas de prevalencia e incidencia [4, 36]. Este padecimiento es considerado como enfermedad desatendida o reemergente según las regiones donde se presenta. En varios países de América Latina tiene un carácter epidémico y explosivo, generando casos incontables en temporada de lluvias e inundaciones [28].

En México, la leptospirosis no es una enfermedad de notificación obligatoria, por lo que se desconocen la prevalencia e incidencia y las especies que infectan a la población humana [28, 36]. No obstante, algunos hallazgos epidemiológicos descritos con datos de organizaciones gubernamentales sugieren que la mortalidad ocasionada por leptospirosis, puede alcanzar hasta 12,8 %, cifra que es mayor en comparación con la mortalidad en países como Alemania (8 %), Trinidad y Tobago (5,8 %), Marruecos (9,5 %) y Barbados (9,8 %), y el estado de Hawái, Estados Unidos de América (EUA) (0,5 %) [28].

Es bien conocido a nivel mundial la importancia de los pequeños roedores en el ciclo de transmisión de numerosas especies patógenas de *Leptospira*. Gran parte de esta importancia recae en los roedores sinantrópicos, considerados los principales reservorios de este

género bacteriano [1]. Sin embargo, se sabe que algunas especies de roedores silvestres pueden participar en el ciclo de transmisión como hospedadores accidentales [5].

Estudios previos han sugerido que *B. burgdorferi* s.l. y *Leptospira* spp. comparten similitudes en sus respectivos ciclos epidemiológicos, como los pequeños roedores que son hospedadores portadores o reservorios de ambos grupos de bacterias [26]. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue detectar la presencia de *B. burgdorferi* s.l. y *Leptospira* spp., a través de ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), en pequeños roedores capturados en dos comunidades rurales marginadas del estado de Yucatán, México.

MATERIALES Y METODOS

Sitios de estudio

Los sitios de captura de los pequeños roedores fueron las comisarias de Chan San Antonio y Sucopó, pertenecientes al municipio de Tizimin, ubicado al oriente del Estado de Yucatán, México (20°56' - 21°36' N | 87°32' - 88°16' O). Tiene una altitud entre 7 y 10 metros (m) sobre el nivel del mar y un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano con temperatura media anual de 24 a 26°C y precipitación anual de 1.500 milímetros (mm) [14].

Captura de roedores y toma de muestras biológicas

La captura, extracción y eutanasia de los roedores fue aprobada por el Comité de Bioética del Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), Mérida, México (ID de acta: CB-CCBA-D-2019-002).

La captura de los pequeños roedores se realizó a través de un muestreo por conveniencia. Para ello, se estudiaron 17 viviendas en la comisaría de Chan San Antonio y tres viviendas en Sucopó. El único criterio de inclusión fue que los residentes aceptaron la invitación a participar en el proyecto de investigación. En cada vivienda se colocaron seis trampas Sherman (7,5 centímetros [cm] x 23 cm x 9 cm; HB Sherman Traps Inc®, EUA) durante dos noches consecutivas, lo cual arroja un total de 120 noches/trampa. Las trampas se repartieron en el interior (previo consentimiento de los residentes) y el exterior de la vivienda (peridomicilio) y fueron revisadas en la mañana de los días que permanecieron colocadas. Se usó como cebo a una mezcla de hojuelas de avena (*Avena sativa*) con esencia artificial de vainilla (*Vanilla* spp.) [35].

Los roedores capturados fueron trasladados vivos al Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UADY para determinar su especie [23] y procesarlos. Todos los roedores fueron anestesiados con isoflurano (Piramal Enterprises Limited®, India) y se les aplicó la eutanasia mediante dislocación cervical o sobredosis de pentobarbital sódico como menciona los estatutos de la *American Veterinary Medical Association* [39]. Posteriormente, fueron revisados en búsqueda de ectoparásitos con ayuda de un peine de marfil o caspero (Kique®, modelo OM-0072, México) y pinzas de disección anatómica (Guttek®, modelo 15-126, México). Seguidamente, se obtuvieron de manera aséptica muestras de vejiga (3 mm x 3 mm x 0,2 mm de grosor), oreja (2 mm x 2 mm x 0,4 mm de grosor) [31] y un riñón completo [35], que se conservaron en tubos para microcentrifuga (Axygen®, MCT-200-C, Corning®, México) de 1,8 mililitros (mL) embebidos en etanol al 96 % y depositados inmediatamente en ultracongelación (-79°C) para su preservación y evitar la degradación del material

biológico (Thermo Scientific®, ULT1786-4-A49, Thermo Fisher Scientific®, EUA), hasta su uso posterior en la extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico.

Extracción de ADN genómico y amplificación de gen constitutivo

Todas las muestras biológicas se lavaron con agua bidestilada y esterilizada durante cinco minutos para retirar el exceso de etanol. La extracción de ADN genómico se realizó con el kit DNeasy® Blood & Tissue (QIAGEN®, Alemania) siguiendo el protocolo estandarizado por el fabricante. La evaluación del ADN extraído para conocer su concentración y pureza se realizó en un espectrofotómetro Nanodrop® (Thermo Scientific®, EUA). Asimismo, para corroborar la viabilidad e integridad de todo el ADN extraído de las muestras biológicas, se obtuvo la amplificación de un fragmento del control de RNA-GAPDH con los reactivos, oligonucleótidos y especificaciones incluidos en el kit RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis® (Thermo Scientific®, EUA). Los productos que no presentaron el amplificado correspondiente (490 pares de bases [pb]) no fueron considerados en la reacción molecular para la detección de ADN de los patógenos evaluados.

Detección de ADN de *Borrelia burgdorferi sensu lato* y *Leptospira* spp.

Para la detección de *B. burgdorferi* s.l. se realizaron tres PCR (una convencional y dos anidadas) dirigidas a distintos fragmentos de su genoma: *flaB*, *p66* y *ospC*, tal como se plantea en la metodología aplicada por Solís-Hernández y col. [31, 32], de acuerdo con lo descrito por Bunikis y col. [2, 3] y Jaulhac y col. [15].

Para la detección de *Leptospira* spp. se realizaron dos PCR (ambas convencionales) dirigidas a dos fragmentos de su genoma: ácido

ribonucleico (ARN) ribosomal 16S (*16S-rRNA*) y *rpoC* [12, 30, 41]. Para esto, se siguió la metodología aplicada por Suárez-Galaz y col. [33], de acuerdo con lo descrito por Torres-Castro y col. [40] para *16S-rRNA* y Villareal-Julio y col. [41] para *rpoC*.

En la TABLA I se describen los oligonucleótidos, tamaños de los fragmentos amplificados y objetivos de amplificación para cada una de las reacciones moleculares empleadas en este estudio.

Todas las reacciones realizadas incluyeron controles positivos. Para *B. burgdorferi* s.l. se usó ADN genómico de *B. burgdorferi sensu stricto* (s.s.) B31 (cepas MSK5 y A3), *B. afzelii* (cepa 51567), *B. garinii* (cepa 51383) y *B. turicatae* (cepas TCBP2 y 91E135), proporcionados por la Universidad de Texas A&M en College Station, Texas (EUA). Para *Leptospira* spp. se utilizó ADN genómico de *L. interrogans*. Asimismo, para corroborar la funcionalidad correcta de las reacciones se consideraron dos controles negativos, el primero fue una mezcla de todos los reactivos de la PCR sin ADN templado y el segundo una mezcla de todos los reactivos más agua grado biología molecular.

La electroforesis de los productos de todas las reacciones moleculares se realizó en geles de agarosa al 2 % teñidos con bromuro de etidio al 8 %. Los resultados se visualizaron y registraron en un fotodocumentador (Bio-Rad®, EUA).

Análisis estadístico

Las variables de la población estudiada de pequeños roedores (especie, sexo y edad), así como los resultados arrojados por las PCR realizadas, fueron analizadas con estadística descriptiva para obtener porcentajes.

TABLA I
Oligonucleótidos, tamaño de fragmento amplificado y objetivo de amplificación para la detección de *Borrelia burgdorferi sensu lato* y *Leptospira* spp. en la población estudiada de roedores capturados en dos comunidades rurales marginadas de Yucatán, México

Patógeno	Oligonucleótidos (5' → 3')	Fragmento amplificado (pares de bases)	Objetivo de amplificación	Referencia
<i>Borrelia</i> spp.	PCR convencional F: AACACACCAGCATCACTTTTCAGG R: GAGAATTAACCTCCGCTTGAGAAGG	235	<i>flaB</i>	[15]
	PCR anidada. Primera vuelta: F: GATTTTCTATATTTGGACACAT R: TGAAATCTTATTAGTTTTTCAAG Segunda vuelta: F: CAAAAAAGAAACACCCTCAGATCC R: CCTGTTTTAAATAAATTTTGTAGCATC	684	<i>p66</i>	[3]
<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	PCR anidada Primera vuelta: F: ATGAAAAAGAATACATTAAGTGC R: ATTAATCTTATAATATTGATTTAATTAAGG Segunda vuelta: F: ATTAATGACTTTATTTTATTATATCT R: TTGATTTAATTAAGTTTTTTTGG	585	<i>ospC</i>	[2]
<i>Leptospira</i> spp.	PCR convencional F: GTGAACGGGATTAGATACC R: CTAGACATAAAGGCCATGA	440	<i>16S-rRNA</i>	[12] [30]
	PCR convencional F: CAAGGGTTCATATCAACGATAA R: GTTCCGGCAGGGATCATGTGACC	353	<i>rpoC</i>	[41]

RESULTADOS Y DISCUSION

Se capturaron un total de 82 roedores, de los cuales uno (1,2 %) fue *H. gaumeri* (Heteromyidae), 28 (34,1 %) fueron *M. musculus* (Muridae) y 53 (64,6 %) fueron *R. rattus* (Muridae). En la TABLA II se presentan las características de la población estudiada de roedores. Como puede

observarse, el 51,2 % (42/82) del total de roedores fueron machos y 48,8 % (40/82) fueron hembras. El único ejemplar capturado de *H. gaumeri* fue una hembra juvenil. El porcentaje mayor de los *M. musculus* capturados fueron hembras adultas, mientras que para *R. rattus*, la mayor parte de los individuos fueron machos adultos.

TABLA II
Características de la población de roedores capturados en viviendas de dos comunidades rurales marginadas de Yucatán, México

Especie	Sexo		Total (%)	Edad		Total (%)
	Hembra (%)	Macho (%)		Adulto (%)	Juvenil (%)	
<i>Heteromys gaumeri</i>	1 (100)	0	1 (100)	0	1 (100)	1 (100)
<i>Mus musculus</i>	11 (39,3)	17 (60,7)	28 (100)	25 (89,3)	3 (10,7)	28 (100)
<i>Rattus rattus</i>	28 (52,8)	25 (47,2)	53 (100)	34 (64,2)	19 (35,8)	53 (100)
Total (%)	40 (48,8)	42 (51,2)	82 (100)	59 (72,0)	23 (28,0)	82 (100)

No se identificó ADN de *B. burgdorferi* s.l. en ningún roedor estudiado. La infección con *Leptospira* spp. se identificó en un *M. musculus* (1,21 %, 1/82; IC95 % 0,08 - 2,08 %) macho adulto, capturado en la comunidad de Chan San Antonio. Los fragmentos amplificados correspondieron a los genes *16S-rRNA* y *rpoC* (FIG. 1).

No se logró recolectar ectoparásitos de alguno de los roedores estudiados.

El género *Borrelia* ha sido poco explorado en animales mamíferos, ectoparásitos y personas de Yucatán. Incluso, no existen casos confirmados (en la bibliografía) de borreliosis de Lyme en habitantes del Estado. No obstante, algunos estudios han demostrado su circulación [31, 32], evidenciando la presencia de los eslabones epidemiológicos necesarios para infectar habitantes y animales de la región [24].

Solis-Hernández y col. [31] describieron la infección con *B. burgdorferi* s.l. a través de la amplificación en frecuencias distintas de fragmentos de varios genes de la bacteria: 36,5 % (45/123) para *flaB*, de 10,5 % (13/123) para *p66* y de 3,2 % (4/123) para *ospC*, en *M. musculus* y *R. rattus* capturados en los municipios de Opichén y Tixmehuac, Yucatán; resultados que difieren notablemente con los presentados en esta investigación (0 %). Esta diferencia puede explicarse por varios factores como son el número y la estructura de las poblaciones de roedores sinantrópicos y de otros hospederos accidentales que circulan en las comunidades estudiadas, las características de los sitios de muestreo (distribución y tipos de viviendas) que permiten la circulación de poblaciones de garrapatas vectores durante gran parte del año, y también por la estructura de la vegetación que genera la interacción de los roedores con los ectoparásitos [6].

Otro antecedente de *B. burgdorferi* s.l. generado con animales y ectoparásitos de Yucatán es el de Solis-Hernández y col. [32], quienes reportaron la infección en perros (*Canis lupus familiaris*) domiciliados de Opichén y Tixmehuac, en frecuencias de 17,3 % (25/144) para *flaB*, 12,5 % (18/144) para *p66* y 1,38 % (2/144) para *ospC*. En este mismo estudio describen la presencia de *B. burgdorferi* s.l. en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (0,89 %, 7/786), *Amblyomma mixtum* (5,88 %, 1/17) e *Ixodes affinis* (15,15 %, 5/33), recolectadas de los perros estudiados. Estos hallazgos sirvieron para establecer la circulación de *B. burgdorferi* s.l. en perros y garrapatas de las comunidades rurales de Yucatán [32]. Previamente, Rodríguez-Vivas y col. [27] aislaron espiroquetas del género *Borrelia* en hemolinfas de garrapatas de bovino (*Bos taurus*) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Por último,

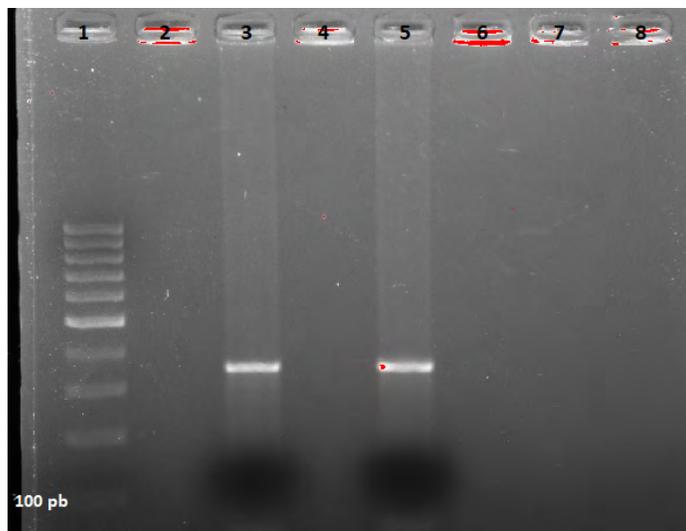


FIGURA 1. Gel de agarosa al 2 % teñido con bromuro de etidio al 8 % mostrando un producto de PCR perteneciente al fragmento de *rpoC* de *Leptospira* spp. Carril 1. Marcador de peso molecular de 100 pb 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®, Thermo Fisher Scientific®, Lituania). Carril 2. Vacío. Carril 3. Control positivo (353 pb). Carril 4. Muestra negativa. Carril 5. Producto positivo (353 pb). Carriles 6, 7. Muestras negativas. Carril. 8. Control negativo.

Macari-Jorge y col. [16] describieron una persona positiva para anti-*Borrelia burgdorferi* IgG, detectando una seroprevalencia global de 1,09 % (1/92), en una muestra de trabajadores expuestos a ganado bovino (*Bos taurus*) y actividades agrícolas del municipio de Tizimín, Yucatán. Este hallazgo es, hasta el momento, la única evidencia hallada en la bibliografía sobre el contacto de *Borrelia* spp. en habitantes de Yucatán.

No se encontró ADN de *B. burgdorferi* s.l. en ninguno de los tejidos (oreja y vejiga) evaluados ($n = 82 \times 2$). Aunque las condiciones ambientales y la presencia de vectores son diferentes entre los sitios de estudio, así como los principios de detección de las pruebas empleadas; el hallazgo detectado en este trabajo coincide con el de la investigación realizada por Morshed y col. [19] con tejidos de corazón y vejiga ($n = 483 \times 2$) colectados de pequeños roedores capturados en la Columbia Británica, Canadá. No obstante, describen una exposición a la bacteria (medida por presencia de anticuerpos anti-*B. burgdorferi*) del 8,49 % (41/483). Estos autores señalan que la falta de evidencia de ADN de *B. burgdorferi* s.l. puede deberse a la nula o baja exposición de los pequeños roedores a los artrópodos vectores [19], ya que el riesgo de transmisión de esta bacteria está relacionado con la frecuencia y abundancia de las poblaciones de garrapatas (principalmente del género *Ixodes*) en zonas endémicas [25]. En este sentido, como se mencionó previamente, en ninguno de los roedores capturados se logró colectar algún ectoparásito para ser considerado en la búsqueda de ADN de *B. burgdorferi* s.l.

Otro estudio en el que no se logró identificar ADN de *B. burgdorferi* s.l. fue el realizado con *M. musculus* y *R. rattus* capturados en cinco localidades pertenecientes a regiones hidrográficas hiperáridas del norte de Chile por Sánchez y col. [29]. Estos autores señalan que el hecho de trabajar con un tamaño reducido de muestra ($n = 3$) condicionó sus resultados, factor que también pudo influir (aunque sea de forma parcial) en los hallazgos obtenidos en esta investigación ($n = 82$).

En lo relacionado con *H. gaumeri*, este roedor fue previamente caracterizado como hospedador accidental en el ciclo epidemiológico de *B. burgdorferi* s.l. en Quintana Roo por Rodríguez-Rojas y col. [26], reportando una frecuencia de infección del 27 % (3/27). Estos autores señalan que, para encontrar la infección con *B. burgdorferi* s.l. en un número limitado de pequeños roedores, deben considerarse en las investigaciones otros factores que permiten la circulación y establecimiento de la bacteria como son la diversidad amplia de especies de mamíferos y de vectores y también las condiciones climáticas que ayudan a la reproducción y mantenimiento de los mamíferos reservorios y vectores en los sitios de estudio [26]. Recientemente, Ratti y col. [22] encontraron en estudios de modelaje que los venados (*Odocoileus virginianus*) tienen un efecto de dilución de *B. burgdorferi* s.s. A medida que las poblaciones de reservorios incompetentes (como los venados) se presentan en una región y los reservorios competentes (roedores) se distribuyen en grandes distancias, la prevalencia del agente disminuye, tanto en las ninfas como en los adultos vectores y, por lo tanto, su transmisión. Este efecto también ha sido demostrado en condiciones de campo [13]. Esta situación posiblemente ocurrió en las comunidades estudiadas, ya que es común la presencia de venado cola blanca (*O. virginianus*) en la región de estudio.

Por último, la falta de infección con *B. burgdorferi* s.l. en la población estudiada de roedores, puede deberse a que las especies capturadas no representan reservorios competentes de la bacteria, por lo que las infecciones que sufren son pasajeras o, en su defecto, son producto

de su sistema inmune [42]. Otro aspecto a considerar, es la probable falta de un ciclo de transmisión peridoméstico de *B. burgdorferi* s.l., ya que se ha descrito que éste se presenta, principalmente, en ambientes silvestres o sin acción antropogénica donde también circulan numerosos hospedadores accidentales de garrapatas Ixodidae [26, 42].

La infección con especies patógenas de *Leptospira* en los roedores que habitan en Yucatán ha sido explorada en trabajos previos [21, 35, 39]. Sin embargo, ninguno de ellos se ha realizado con roedores capturados en comunidades en condiciones marginadas como Chan San Antonio y Sucopó, aunque sí se han realizado estudios sobre la infección con *Leptospira* spp. en roedores capturados en sitios con algunas condiciones similares como la escasez de servicios básicos (p.ej. alcantarillado, agua potable, alumbrado público, entre otras) y de infraestructura en salud pública. Estos trabajos han reportado frecuencias de infección con *Leptospira* superiores (4,81-5,4 %) a la encontrada en los roedores estudiados (1,21 %, 1/82). Torres-Castro y col. [35] reportaron una frecuencia global de infección de 4,81 % (9/187) en *M. musculus* y *R. rattus* capturados en la comisaría de Molas, Yucatán. De manera similar, con roedores silvestres y sinantrópicos de distintas especies, capturados en el municipio de Cenotillo, Yucatán, Torres-Castro y col. [39] reportaron una frecuencia de infección global de 5,4 % (5/92).

Por otra parte, Torres-Castro y col. [38] reportaron la falta (0 %, 0/26) de ADN de *Leptospira* spp. en muestras de orina colectada de roedores sinantrópicos y silvestres capturados en Cenotillo. Es importante mencionar que, con esta excreción, los roedores reservorios contaminan el ambiente y fuentes de bebida y alimento, por lo que el contacto (directo o indirecto) con orina contaminada, representa el principal mecanismo de transmisión a los hospedadores susceptibles, entre ellos los seres humanos [36]. De manera similar, Panti-May y col. [21] describieron una frecuencia de infección del 0,3 % (1/328), obtenida con la técnica de impresión en tejido, en riñones recolectados de roedores sinantrópicos capturados en dos barrios del sur de la ciudad de Mérida y en Opichén, ambos en Yucatán. Estos registros son similares a la frecuencia obtenida en el presente estudio (1,21 %, 1/82).

El único individuo positivo a la infección con *Leptospira* spp. perteneció a la especie *M. musculus* (3,57 %, 1/28). En esta especie se han reportado frecuencias variables de infección en estudios previos realizados en Yucatán. Torres-Castro y col. [35] mencionan una frecuencia de 1,53 % (2/130) en *M. musculus* capturados en Molas. De manera similar, Torres-Castro y col. [39] mencionan una frecuencia de 8 % (2/25) en *M. musculus* capturados en Cenotillo. A nivel nacional (México), el hallazgo de este trabajo coincide con lo reportado por Gutiérrez-Molina y col. [11] con *M. musculus* capturados en la región Nautla, Veracruz, aunque la frecuencia de infección descrita por estos autores fue más alta (62,9 %, 17/28). Todos estos hallazgos sugieren la participación de *M. musculus* en el ciclo epidemiológico de *Leptospira* spp. en la región de estudio y partes de México, a través de la exposición de otros animales y de fuentes de alimentación o de agua con su orina contaminada con la bacteria.

Se necesitan más estudios epidemiológicos para conocer la influencia de las características de los sitios de muestreo (tipo de vegetación, especies de hospedadores y reservorios, especies de ectoparásitos [vectores], entre otras) y climáticas (estación climática del año, precipitación pluvial, temperatura, entre otras) en las frecuencias de infección con *Borrelia* spp. y *Leptospira* spp. en la población endémica de pequeños roedores. Para el caso particular de *Borrelia* spp. es necesario conocer si los artrópodos vectores que transmiten al género bacteriano,

están interactuando con las especies de pequeños roedores capturados, así como con otros hospedadores accidentales en los sitios de captura, que permitan su distribución [6]. Asimismo, es importante reforzar una de las debilidades del presente trabajo como lo fue el número de individuos capturados (n=82). En este sentido, investigaciones sugieren que es esencial capturar y analizar un número determinado de individuos que permita establecer si las especies endémicas de roedores (*H. gaumeri*, *R. rattus* y *M. musculus*) son verdaderos portadores de *B. burgdorferi* s.l., por esto, es preciso aumentar el esfuerzo de captura y el número de individuos estudiados [43].

CONCLUSIONES

Se concluye que, si bien la frecuencia de infección con *Leptospira* spp. fue baja y no se encontró evidencia de ADN de *B. burgdorferi* s.l. en la población estudiada de roedores, no puede descartarse su participación como hospederos accidentales o reservorios en los respectivos ciclos de transmisión de las bacterias evaluadas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México por el financiamiento de los estudios de doctorado de uno de los autores del trabajo. La investigación fue financiada por el proyecto FMVZ-2019-0003.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] BOEY, K.; SHIOKAWA, K.; RAJEEV, S. *Leptospira* infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. **PLoS Negl. Trop. Dis.** 13(8): e0007499. 2019.
- [2] BUNIKIS, J.; GARPMO, U.; TSAO, J.; BERGLUND, J.; FISH, D.; BARBOUR, A.G. Sequence typing reveals extensive strain diversity of the Lyme borreliosis agents *Borrelia burgdorferi* in North America and *Borrelia afzelii* in Europe. **Microbiology (Reading)**. 150(Pt 6): 1741-1755. 2004.
- [3] BUNIKIS, J.; TSAO, J.; LUKE, C.J.; LUNA, M.G.; FISH, D.; BARBOUR, A.G. *Borrelia burgdorferi* infection in a natural population of *Peromyscus leucopus* mice: A longitudinal study in an area where Lyme Borreliosis is highly endemic. **J. Infect. Dis.** 189(8): 1515-1523. 2004.
- [4] CASANOVAS-MASSANA, A.; HAMOND, C.; SANTOS, L.A.; DE OLIVEIRA, D.; HACKER, K.P.; BALASSIANO, I.; COSTA, F.; MEDEIROS, M.A.; REIS, M.G.; KO, A.I.; WUNDER, E.A. *Leptospira yasudae* spp. nov. and *Leptospira stimsonii* spp. nov., two new species of the pathogenic group isolated from environmental sources. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 70(3): 1450-1456. 2020.
- [5] ESPINOSA-MARTÍNEZ, D.V.; SÁNCHEZ-MONTES, D.S.; LEÓN-PANIAGUA, L.; RÍOS-MUÑOZ, C.A.; BERZUNZA-CRUZ, M.; BECKER, I. New wildlife hosts of *Leptospira interrogans* in Campeche, Mexico. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.** 57(2): 181-183. 2015.
- [6] GASSNER, F.; TAKKEN, W.; PLAS, C.L.; KASTELEIN, P.; HOETMER, A.J.; HOLDINGA, M.; VAN OVERBEEK, L.S. Rodent species as natural reservoirs of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in different habitats of *Ixodes ricinus* in The Netherlands. **Ticks Tick Borne Dis.** 4(5): 452-458. 2013.
- [7] GORDILLO-PÉREZ, G.; TORRES, J.; SOLÓRZANO-SANTOS, F.; GARDUÑO-BAUTISTA, V.; TAPIA-CONYER, R.; MUÑOZ, O. Estudio seroepidemiológico de borreliosis de Lyme en la Ciudad de México y el noreste de la República Mexicana. **Salud Pub. Mex.** 45(5): 351-355. 2003.
- [8] GORDILLO-PÉREZ, G.; TORRES, J.; SOLÓRZANO-SANTOS, F.; DE MARTINO, S.; LIPSKER, D.; VELÁZQUEZ, E.; RAMON, G.; ONOFRE, M.; JAULHAC, B. *Borrelia burgdorferi* infection and cutaneous Lyme disease, Mexico. **Emerg. Infect. Dis.** 13(10): 1556-1558. 2007.
- [9] GORDILLO-PÉREZ, G.; GARCÍA-JUÁREZ, I.; SOLÓRZANO-SANTOS, F.; CORRALES-ZÚÑIGA, L.; MUÑOZ-HERNÁNDEZ, O.; TORRES-LÓPEZ, J. Serological evidence of *Borrelia Burgdorferi* infection in Mexican patients with facial palsy. **Rev. Invest. Clin.** 69(6): 344-348. 2017.
- [10] GUEVARA-VALMAÑA, O.I.; MARTÍNEZ-JIMÉNEZ, A.; MENDOZA-GARCÍA, J. Enfermedad de Lyme en la Ciudad de México. **Med. Int. Méx.** 35(3): 435-440. 2019.
- [11] GUTIÉRREZ-MOLINA, R.; CRUZ-ROMERO, A.; ROMERO-SALAS, D.; BALLADOS-GONZÁLEZ, G.; JIMÉNEZ-HERNÁNDEZ, J.A.; IBARRA-PRIEGO, N.; SERNA-LAGUNES, R.; SÁNCHEZ-MONTES, S. Molecular evidence for the presence of *Leptospira borgpetersenii* in synanthropic rodents in the Nautla region, Veracruz, México. **Therya.** 10(2): 171-174. 2019.
- [12] HAAKE, D.A.; SUCHARD, M.A.; KELLEY, M.M.; DUNDOO, M.; ALT, D.P.; ZUERNER, R.L. Molecular evolution and mosaicism of leptospiral outer membrane proteins involves horizontal DNA transfer. **J. Bacteriol.** 186(9): 2818-2828. 2004.
- [13] HUANG, C.I.; KAY, S.C.; DAVIS, S.; TUFTS, D.M.; GAFFETT, K.; TEFFT, B.; DIUK-WASSER, M.A. High burdens of *Ixodes scapularis* larval ticks on white-tailed deer may limit Lyme disease risk in a low biodiversity setting. **Ticks Tick Borne Dis.** 10(2): 258-268. 2019.
- [14] INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA (INEGI). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Tizimín, Yucatán. 2009. En línea: <https://bit.ly/3ORpDzP>. 03/01/2022.
- [15] JAULHAC, B.; HELLER, R.; LIMBACH, F.X.; HANSMANN, Y.; LIPSKER, D.; MONTEIL, H.; SIBILIA, J.; PIÉMONT, Y. Direct molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species in synovial samples from patients with Lyme arthritis. **J. Clin. Microbiol.** 38(5): 1895-1900. 2000.
- [16] MACARI-JORGE, A.; CÁRDENAS-MARRUFO, M.F.; PENICHE-LARA, G. Seroprevalencia de infección por *Borrelia burgdorferi* en una población rural ocupacionalmente expuesta de Yucatán, México. **Rev. Latinoam. Patol. Clin. Med. Lab.** 64(1): 4-7. 2017.
- [17] MARGOS, G.; CHU, C.Y.; TAKANO, A.; JIANG, B.G.; LIU, W.; KURTENBACH, K.; MASUZAWA, T.; FINGERLE, V.; CAO, W.C.; KAWABATA, H. *Borrelia yangtzensis* spp. nov., a rodent-associated species in Asia, is related to *Borrelia valaisiana*. **Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.** 65(11): 3836-3840. 2015.
- [18] MARGOS, G.; GOFTON, A.; WIBBERG, D.; DANGEL, A.; MAROSEVIC, D.; LOH, S.M.; OSKAM, C.; FINGERLE, V. The genus *Borrelia* reloaded. **PLoS One.** 13(12): e0208432. 2018.

- [19] MORSHED, M.G.; LEE, M.K.; MAN, S.; FERNANDO, K.; WONG, Q.; HOJGAARD, A.; TANG, P.; MAK, S.; HENRY, B.; PATRICK, D.M. Surveillance for *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes* ticks and small rodents in British Columbia. **Vector Borne Zoon. Dis.** 15(11): 701-705. 2015.
- [20] PANTI-MAY, J.A.; TORRES-CASTRO, M.A.; HERNÁNDEZ-BETANCOURT, S.F. Parásitos zoonóticos y micromamíferos en la península de Yucatán, México: Contribuciones del CCBA-UADY. **Trop. Subtrop. Agroecosystems.** 24(1): 18. 2021.
- [21] PANTI-MAY, J.A.; DE ANDRADE, R.R.C.; GURUBEL-GONZÁLEZ, Y.; PALOMO-ARJONA, E.; SODÁ-TAMAYO, L.; MEZA-SULÚ, J.; RAMÍREZ-SIERRA, M.; DUMONTEIL, E.; VIDAL-MARTÍNEZ, V.M.; MACHAÍN-WILLIAMS, C.; DE OLIVEIRA, D.; REIS, M.G.; TORRES-CASTRO, M.A.; ROBLES, M.R.; HERNÁNDEZ-BETANCOURT, S.F.; COSTA, F. A survey of zoonotic pathogens carried by house mouse and black rat populations in Yucatan, Mexico. **Epidemiol. Infect.** 145(11): 2287-2295. 2017.
- [22] RATTI, V.; WINTERB, J.M.; WALLACE, D.I. Dilution and amplification effects in Lyme disease: Modeling the effects of reservoir-incompetent hosts on *Borrelia burgdorferi* sensu stricto transmission. **Ticks Tick Borne Dis.** 12(4): 101724. 2021.
- [23] REID, F.A.; FIELD, A. Rodents (order Rodentia). **Guide to the Mammals of Central America & Southeast México.** 2nd. Ed. Oxford University Press, New York. Pp 186-250. 2009.
- [24] REYES-NOVELO, E.; RUÍZ-PIÑA, H.; ESCOBEDO-ORTEGÓN, J.; RODRÍGUEZ-VIVAS, I.; BOLIO-GONZÁLEZ, M.; POLANCO-RODRÍGUEZ, Á.; MANRIQUE-SAIDE, P. Situación actual y perspectivas para el estudio de las enfermedades zoonóticas emergentes, reemergentes y olvidadas en la península de Yucatán, México. **Trop. Subtrop. Agroecosystems.** 14(1): 35-54. 2011.
- [25] RODRÍGUEZ-GARCÍA, A.; ARROYO-GARZA, I.; PATIÑO-RAMÍREZ, B. Uveítis secundaria a Borreliosis de Lyme en México. **Rev. Mex. Oftalmol.** 94(1): 39-45. 2020.
- [26] RODRÍGUEZ-ROJAS, J.J.; RODRÍGUEZ-MORENO, Á.; SÁNCHEZ-CASAS, R.M.; HERNÁNDEZ-ESCAREÑO, J.J. Molecular detection of *Leptospira interrogans* and *Borrelia burgdorferi* in wild rodents from Mexico. **Vector Borne Zoon. Dis.** 20(11): 860-863. 2020.
- [27] RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; CEN-AGUILAR, F.; DOMÍNGUEZ-ALPÍZAR, J.L.; COB-GALERA, L.A.; SOLÍS-CALDERÓN, J.J. Detección de espiroquetas del género *Borrelia* en hemolinfas de teleoginas de *Boophilus microplus* en el estado de Yucatán, México. **Vet. Mex.** 27(2): 187-188. 1996.
- [28] SÁNCHEZ-MONTES, S.; ESPINOSA-MARTÍNEZ, D.V.; RÍOS-MUÑOZ, C.A.; BERZUNZA-CRUZ, M.; BECKER, I. Leptospirosis in Mexico: Epidemiology and potential distribution of human cases. **PLoS One.** 10(7): e0133720. 2015.
- [29] SÁNCHEZ, R.S.T.; SANTODOMINGO, A.M.S.; MUÑOZ-LEAL, S.; SILVA-DE LA FUENTE, M.C.; LLANOS-SOTO, S.; SALAS, L.M.; GONZALEZ-ACUÑA, D. Rodents as potential reservoirs for *Borrelia* spp. in northern Chile. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 29(2): e000120. 2020.
- [30] SHUKLA, J. 16S rRNA PCR for differentiation of pathogenic and non-pathogenic leptospira isolates. **Indian J. Med. Microbiol.** 21(1): 25-30. 2003.
- [31] SOLÍS-HERNÁNDEZ, A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; ESTEVE-GASSENT, M.D.; VILLEGAS-PÉREZ, S.L. Prevalencia de *Borrelia burgdorferi* sensu lato en roedores sinantrópicos de dos comunidades rurales de Yucatán, México. **Biomed.** 36(Supl.1): 109-117. 2016.
- [32] SOLÍS-HERNÁNDEZ, A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; ESTEVE-GASSENT, M.D.; VILLEGAS-PÉREZ, S.L. Detección de *Borrelia burgdorferi* sensu lato en perros y sus garrapatas en comunidades rurales de Yucatán, México. **Rev. Biol. Trop.** 66(1): 428-437. 2018.
- [33] SUÁREZ-GALAZ, A.R.; HERNÁNDEZ-BETANCOURT, S.; PANTI-MAY, J.A.; MANRIQUE-SAIDE, P.C.; TORRES-CASTRO, M. Evidencia de *Leptospira* spp. en musarañas *Cryptotis mayensis*. Nuevo hospedador en Yucatán, México. **Rev. Biomed.** 32(3): 161-165. 2021.
- [34] TAKHAMPUNYA, R.; THALOENGSOOK, S.; TIPPAYACHAI, B.; PROMSATHAPORN, S.; LEEPITAKRAT, S.; GROSS, K.; DAVIDSON, S.A. Retrospective survey of *Borrelia* spp. from rodents and ticks in Thailand. **J. Med. Entomol.** 58(3): 1331-1344. 2021.
- [35] TORRES-CASTRO, M.A.; GUTIÉRREZ-RUIZ, E.; HERNÁNDEZ-BETANCOURT, S.; PELÁEZ-SÁNCHEZ, R.; AGUDELO-FLÓREZ, P.; GUILLERMO-CORDERO, L.; PUERTO, F.I. First molecular evidence of *Leptospira* spp. in synanthropic rodents captured in Yucatan, Mexico. **Rev. Méd. Vet.** 165(7-8): 213-218. 2014.
- [36] TORRES-CASTRO, M.; HERNÁNDEZ-BETANCOURT, S.; AGUDELO-FLÓREZ, P.; ARROYAVE-SIERRA, E.; ZAVALA-CASTRO, J.; PUERTO, F.I. Revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. **Rev. Med. Inst. Mex. Seg. Soc.** 54(5): 620-625. 2016.
- [37] TORRES-CASTRO, M.A. ¿Son los roedores sinantrópicos un problema para la salud pública de Yucatán? **Rev. Biomed.** 28(3): 183-190. 2017.
- [38] TORRES-CASTRO, M.A.; CRUZ-CAMARGO, B.E.; MEDINA-PINTO, R.; MOGUEL-LEHMER, C.; ARCILA-FUENTES, W.; MEDINA, R.; ORTIZ-ESQUIVEL, J.; LÓPEZ-ÁVILA, A.; NOH-PECH, H.R.; PANTI-MAY, J.A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; PUERTO, F.I. Absence of molecular evidence of *Leptospira* spp. in urine samples collected from rodents captured in Yucatán, México. **Austral J. Vet. Sci.** 49(3): 195-198. 2017.
- [39] TORRES-CASTRO, M.; CRUZ-CAMARGO, B.; MEDINA-PINTO, R.; REYES-HERNÁNDEZ, B.; MOGUEL-LEHMER, C.; MEDINA, R.; ORTIZ-ESQUIVEL, J.; ARCILA-FUENTES, W.; LÓPEZ-ÁVILA, A.; NOH-PECH, H.; PANTI-MAY, A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, I.; PUERTO, F.I. Detección molecular de leptospirosis patógenas en roedores sinantrópicos y silvestres capturados en Yucatán, México. **Biomed.** 38(Supl. 2): 51-58. 2018.
- [40] 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 Cordoba.** 25(2): e1815. 2020.
- [41] VILLAREAL-JULIO, R.G.; AGUDELO-FLÓREZ, P.; ÁLVARO-LÓPEZ, J.; PELÁEZ-SÁNCHEZ, R.G. New molecular target for the phylogenetic identification of *Leptospira* species directly from clinical samples: an alternative gene to 16S rRNA. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 53: e20190333. 2020.

[42] WECK, B.C.; SERPA, M.C.A.; LABRUNA, M.B.; MUÑOZ-LEAL, S. A novel genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato* associated with cricetid rodents in Brazil. **Microorganisms**. 10(2): 204. 2022.

[43] ZHANG, F.; GONG, Z.; ZHANG, J.; LIU, Z. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in rodents from Gansu, Northwestern China. **BMC Microbiol**. 10: 157. 2020.