

Identificación de *Leptospira interrogans* en *Otodylomys phyllotis* (Rodentia: Cricetidae) de Yucatán, México

Identification of *Leptospira interrogans* in *Otodylomys phyllotis* (Rodentia: Cricetidae) from Yucatan, Mexico

Marco Torres-Castro^{1*} , Alejandro Suárez-Galaz¹ , Aarón Yeh-Gorocica¹ , Erika Sosa-Bibiano² , Nalleli Loria-Cervera² , Karina López-Ávila² ,
José Luis Ochoa-Valencia^{3,5} , César Lugo-Caballero⁴ 

¹Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Zoonosis y otras Enfermedades Transmitidas por Vector. Mérida, México.

²Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Inmunología. Mérida, México.

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

⁴Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes. Mérida, México.

⁵Universidad de la Costa, Licenciatura en Medicina Veterinaria. Santiago Pinotepa Nacional, Oaxaca, México.

*Autor para correspondencia: antonio.torres@correo.uady.mx

RESUMEN

Los pequeños roedores son los reservorios naturales más importantes de especies patógenas de *Leptospira* spp. En Yucatán, México, varias especies de estos pequeños roedores han sido descritas como portadores. Se reconoce que, para disminuir el riesgo de transmisión de *Leptospira* spp. a los hospederos susceptibles, entre ellos los seres humanos, es relevante identificar a los portadores y conocer su distribución. El objetivo es evidenciar la presencia de *Leptospira* spp. patógena en pequeños roedores capturados en Tinum, Yucatán, México. Se capturaron 47 roedores de las especies *Heteromys gaumeri*, *Otodylomys phyllotis*, *Peromyscus yucatanicus*, *Sigmodon hispidus* y *Mus musculus* en cuatro sitios del municipio de estudio. Se recolectó un fragmento de riñón que se empleó en la extracción de ADN total. Se utilizaron dos reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) punto final para detectar ADN de *Leptospira* spp. La especie de bacteria se determinó mediante análisis bioinformáticos y la construcción de un árbol filogenético. Las reacciones arrojaron una frecuencia total de infección del 8,5% (IC 95% 3,3 – 19,9%). Todos los ejemplares positivos fueron *O. phyllotis*. La especie identificada en los análisis bioinformáticos y el árbol filogenético fue *L. interrogans*. Esta especie de *Leptospira* es importante para la salud pública, debido a que es responsable de la mayor parte de los casos graves de leptospirosis en humanos. Asimismo, ha sido identificada previamente en pequeños roedores de México y Yucatán. Los hallazgos apuntan a que *O. phyllotis* es portador de *L. interrogans*. Son necesarios más estudios para establecer el riesgo de transmisión por contacto con otros hospederos susceptibles, incluyendo seres humanos.

Palabras Claves: Bacterias; epidemiología; infección; leptospirosis; mamíferos; rodentia

ABSTRACT

Small rodents are the most relevant natural reservoirs of pathogenic *Leptospira* species. Several species of these small rodents have been described as carriers in Yucatan, Mexico. It is recognized that identifying the carriers and knowing their distribution is relevant to reducing the transmission risk of *Leptospira* spp. to susceptible hosts, including humans. The aim is to evidence the presence of pathogenic *Leptospira* spp. in small rodents captured in Tinum, Yucatan, Mexico. Forty-seven rodents of the species *Heteromys gaumeri*, *Otodylomys phyllotis*, *Peromyscus yucatanicus*, *Sigmodon hispidus* and *Mus musculus* were captured in four sites from the study municipality. A kidney fragment was collected and used in the extraction of total DNA. Two endpoint polymerase chain reactions (PCR) were used to detect *Leptospira* spp. DNA. The bioinformatic analysis and the construction of a phylogenetic tree determined the bacteria species. The reactions showed a total infection frequency of 8.5% (95% CI 3.3 – 19.9%). All positive specimens were *O. phyllotis*. The species identified in the bioinformatic analysis and the phylogenetic tree was *L. interrogans*. This *Leptospira* species is relevant for public health because it is responsible for most severe cases of leptospirosis in humans. Likewise, it has been previously identified in small rodents from Mexico and Yucatan. The study shows that *O. phyllotis* carries *L. interrogans*. More research is needed to determine the risk of transmission to other hosts, including humans.

Key words: Bacteria; epidemiology; infection; leptospirosis; mammals; rodentia

INTRODUCCIÓN

Leptospira spp. es un género de bacterias espiroquetas gramnegativas (familia *Leptospiraceae*) que comprende 72 especies genómicas validadas (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=leptospira>) que están agrupadas, según su grado de virulencia y patogenicidad, en dos clados y cuatro subclados que incluyen especies saprófitas (clado S, subclados S1 y S2) y patógenas (clado P, subclados P1 y P2). Estas últimas son capaces de ocasionar enfermedad, conocida como leptospirosis, en humanos y animales, por lo que tienen importancia para la salud pública y animal. Entre las especies patógenas se encuentran *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. mayottensis*, *L. borgpetersenii*, *L. alexanderi* y *L. weilli* [1, 2].

La Organización Mundial de la Salud cataloga a la leptospirosis como enfermedad tropical desatendida. Es considerada una de las enfermedades zoonóticas con mayor distribución en el mundo. Algunas proyecciones señalan que anualmente se presentan alrededor de un millón de casos nuevos que provocan 60 mil muertes en países de todos los continentes. No obstante, la mayoría de los casos y las muertes ocurren en habitantes de áreas con climas tropicales y subtropicales de países en vías de desarrollo [3].

En México, el primer caso registrado de leptospirosis fue en un habitante de la ciudad de Mérida, capital del estado de Yucatán [4]. Históricamente, en este país las tasas de incidencia y prevalencia reportadas para la enfermedad han sido variables debido a la influencia de factores abióticos y bióticos como la aplicación de mejores pruebas diagnósticas (más sensibles y específicas), las variables climatológicas (alta pluviosidad, inundaciones, huracanes, temperatura, humedad relativa, etc.), así como la distribución y diversidad de las poblaciones de reservorios naturales y hospederos accidentales y susceptibles, entre otros [5, 6].

En un análisis realizado por Yescas–Benítez y col. [6] con información depositada en los boletines epidemiológicos del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Dirección General de Epidemiología de México, concluyen que la leptospirosis se presenta en habitantes de la mayoría de los estados que conforman el país. De igual forma, señalan que los casos se registran durante todo el año, con un incremento en la prevalencia en la temporada de lluvias (agosto–octubre), y que Sinaloa y Tabasco fueron los estados con el mayor número de casos registrados para el periodo 2013–2019.

Particularmente para Yucatán, en el periodo del 2000 al 2010, se reportaron 56 casos de leptospirosis humana, que representaron el 3,6 % del total de casos identificados durante esos años en México [7]. Posteriormente, del 2013 al 2019, se reportaron 24 casos que representaron el 1,3 % del total de casos identificados en el país. En este periodo, Yucatán ocupó el séptimo puesto de los estados con el mayor número de reportes [6]. En el periodo 2020 al 2023, se registraron 54 casos que representaron el 6,3 % (54/857) del acumulado de casos para México. Debido a este aumento, Yucatán pasó a ocupar el tercer puesto de los estados con el mayor número de reportes, por debajo de Sinaloa y Veracruz [8].

En la epidemiología de la leptospirosis, los reservorios naturales y hospederos accidentales son los encargados de mantener y aumentar la transmisión en ambientes silvestres (enzootica) y antropizados (zoonótica) [5, 6, 7]. Los reservorios naturales de varias especies patógenas de *Leptospira* son los pequeños roedores, principalmente las especies *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* y *Mus musculus*, conocidas como sinantrópicas [5]. Los pequeños roedores, incluidas

las especies silvestres, pueden albergar leptospirosis en su tejido renal que son expulsadas por la orina al ambiente, contaminando distintos entornos y medios como fuentes de agua, lodo, alimentos, suelo, etc., con los que tienen contacto los hospederos susceptibles (transmisión indirecta), lo que representan la fuente de infección más frecuente para humanos, mascotas y animales de producción [9, 10, 11]. Otra vía de contagio para los hospederos susceptibles es el contacto directo con la orina o tejidos de animales infectados [12].

En Yucatán, existen estudios que han detectado, a través de ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), la presencia de *Leptospira* spp. patógenas en pequeños roedores capturados en entornos con distintos grados de perturbación por el uso de suelo para actividades antropogénicas, entre ellos *R. rattus*, *M. musculus*, *Heteromys gaumeri*, *Ototylomys phyllotis* y *Peromyscus yucatanicus* [13, 14, 15, 16, 17]. Sin embargo, se sabe que, para identificar los posibles escenarios de transmisión de *Leptospira*, es necesario conocer la diversidad y distribución de los reservorios naturales [18]. El objetivo del presente estudio es evidenciar la presencia de *Leptospira* patógena en pequeños roedores capturados en el municipio de Tinum, Yucatán.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo y sitios de estudio

Se realizó un estudio transversal descriptivo en el municipio de Tinum, localizado en la región oriente del estado de Yucatán, México. Tiene una altura promedio de 22 m.s.n.m y ocupa una superficie de 393,44 km². En la región predomina el clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, una temperatura media anual de 26,3 °C y precipitación media de 85,9 mm. La vegetación original es la selva mediana subcaducifolia y la fauna se compone principalmente de reptiles y aves [19].

Como parte de un proyecto de investigación para conocer la epidemiología de *Leishmania* spp. en áreas endémicas de Yucatán, en el municipio de estudio se seleccionaron por conveniencia cuatro sitios donde previamente se localizaron casos de leishmaniosis en humanos [20], mismos que fueron seleccionados para la estrategia de muestreo del presente trabajo. Los sitios tenían diferentes gradientes de conservación vegetativa y usos de suelo. El sitio I fue un área peri-rural ubicada a las afueras de la localidad de X-Calakoop (20.64°N, 88.51°W). El sitio II fue un fragmento de selva rodeado de parches de vegetación secundaria (20.66°N, 88.49°W). El sitio III fue una milpa abandonada ubicada en la periferia de la localidad (20.67°N, 88.47°W). El sitio IV fue el poblado rural de Loop Xul (20.66°N, 88.46°W) (FIG. 1).

Captura de pequeños roedores

La captura de pequeños roedores se realizó en noviembre (sitios I y II) y diciembre (sitios III y IV) de 2021, y en febrero de 2022 (sitio II). La estrategia de captura en los sitios I, II y III fue por transectos. Se ubicaron cuatro transectos con 30 trampas Sherman (7.5 cm × 23 cm × 9 cm); (HB Sherman Traps Inc., EUA) para un total de 120 trampas en cada sitio. En el sitio IV (poblado Loop Xul) las trampas se colocaron en seis viviendas y su área peridomiliar que se escogieron por conveniencia. Para esto, los ocupantes fueron invitados a participar en el presente estudio y se pidió su aprobación para ingresar a sus hogares. Se distribuyeron 20 trampas Sherman por vivienda en puntos estratégicos como bodegas, cuartos, cocinas, corrales de animales, jardines, árboles frutales, etc.

Yucatán, México

Localidad de estudio

■ Tinum, Yucatán

Sitios de estudio

● Sitios de estudio

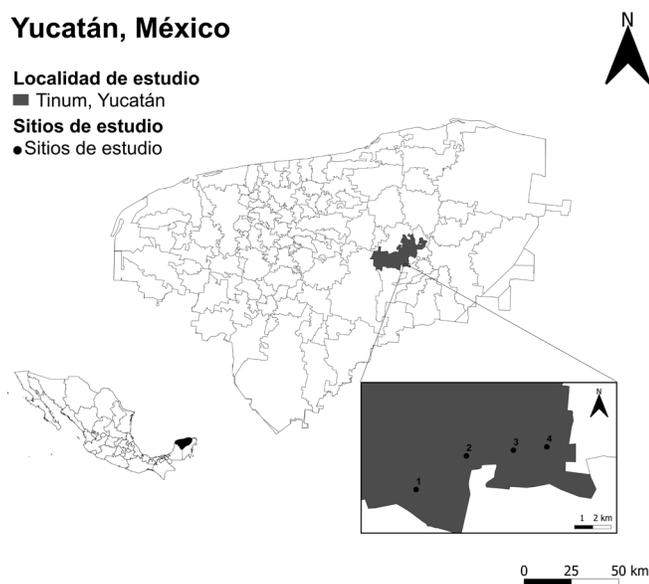


FIGURA 1. Mapa de México mostrando la ubicación del estado de Yucatán (área aumentada), con la extensión del municipio de Tinum (área sombreada) y la ubicación geográfica de los sitios de estudio (recuadro)

Las trampas se cebaron con hojuelas de avena y saborizante artificial de vainilla en todos los sitios. Se revisaron en dos días consecutivos por cada mes de captura para un total de 960 noches/trampa en todo el periodo de captura.

Recolección de muestras biológicas

Los roedores capturados se trasladaron a las instalaciones del Laboratorio de Inmunología del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” (CIR) de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) para su procesamiento. La insensibilización y anestesia se realizaron con isoflurano (Piramal Critical Care Inc.®, EUA) y la eutanasia se aplicó con una sobredosis de pentobarbital sódico (Laboratorios Aranda®, México) según los lineamientos de la *American Veterinary Medical Association* [21].

Durante la etapa de anestesia e insensibilización se recolectaron los datos de especie, identificadas con apoyo de bibliografía especializada [22], sexo (macho o hembra), edad (juvenil o adulto) y condición reproductiva (activo o inactivo). Corroborada la ausencia de respiración y latido cardíaco, se realizó un corte de manera aséptica en la línea alba del cuerpo y se colectó un riñón completo que se depositó en un tubo para microcentrifuga (2 mL, Corning®, México) y se conservó a -79°C hasta su uso.

Extracción de ADN genómico y detección de *Leptospira* spp.

Para la extracción de ADN genómico se empleó el kit comercial Wizard Genomic DNA Purification® (Promega®, EUA), siguiendo las indicaciones del fabricante. Para ello, se utilizaron fragmentos de 10 a 25 mg (incluyendo corteza y médula) de cada riñón colectado. La pureza y concentración del ADN extraído se midieron con un espectrofotómetro (NanoDrop 2000®, Thermo Scientific®, EUA). Posteriormente, se almacenó a -20°C (Hisense®, FC88D6BWX1, China) hasta su uso.

La detección de *Leptospira* spp. se llevó a cabo con la técnica de PCR punto final. Se realizaron dos reacciones para la amplificación

de fragmentos parciales de los genes *16S-rRNA* (conservado en todas las especies de *Leptospira*) [18] y *LipL32* (presente únicamente en las especies patógenas) [17]. Para ejecutar estas reacciones se siguió la metodología descrita por Suárez-Galaz y col. [23]. Todas las reacciones incluyeron ADN de *L. borgpetersenii* como control positivo y una mezcla de los reactivos usados en la reacción sin material genómico como control negativo. Los objetivos de amplificación (genes), oligonucleótidos y amplicones se presentan en la TABLA I.

TABLA I
Genes, oligonucleótidos y amplicones para la detección de *Leptospira* spp. en los roedores capturados en Tinum, Yucatán, México

Genes	Oligonucleótidos (5'-3')	Amplicón (pb)
<i>16S-rRNA</i>	F. 16S4F: GTGAACGGGATTAGATACC R. 16S6R: CTAGACATAAAGGCCATGA	440
<i>LipL32</i>	F. LipL32/270F: GCTGAAATGGGAGTTCGTATGATT R. LipL32/692R: CCAACAGATGCAACGAAAGATCCTTT	423

F: forward. R: reverse. pb: pares de bases

Los productos de amplificación de ambas reacciones se analizaron mediante electroforesis (Shelton Scientific®, QS-710, EUA) en geles de agarosa (Norgen Biotek Corp.™, Canadá) al 1,5 % teñidos con bromuro de etidio al 8 %. Para el registro de resultados se visualizaron en un fotodocumentador (Bio-Rad®, Gel Doc XR+ System, EUA).

Análisis bioinformáticos y construcción de árbol filogenético

Debido a que el objetivo de investigación fue evidenciar la presencia de *Leptospira* patógenas, únicamente se realizó la secuenciación de los fragmentos correspondientes al gen *LipL32*. La purificación de los amplificados se hizo con el kit ZymoClean Gel DNA Recovery™ (Zymo-Research®, EUA), según las instrucciones del fabricante. Los purificados se enviaron para su secuenciación (método Sanger) (Applied Biosystems™, 3130xl, EUA) al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Las secuencias obtenidas (longitud de 414 pares de bases [pb]) se visualizaron y editaron con el programa MEGA X®. A continuación, para obtener los porcentajes de identidad y cobertura, se contrastaron con secuencias depositadas en el GenBank® utilizando la herramienta BLAST-n y el algoritmo Megablast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

El alineamiento global de las secuencias editadas con las secuencias de *Leptospira* spp. que se obtuvieron del GenBank® se realizó con la herramienta CLUSTALW. La selección del mejor modelo de sustitución nucleotídica se basó en el criterio de información bayesiana (BIC por sus siglas en inglés) [24]. El árbol filogenético se construyó con el programa MEGA X® usando el método de máxima verosimilitud con 1.000 repeticiones *bootstrap* [25].

Aspectos éticos

La captura y extracción de pequeños roedores se realizaron con permiso para colecta científica de la Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental, Dirección General de Fauna Silvestre de México (oficio No. SGPA/DGVS/12783/19). El método de eutanasia y la toma de muestras biológicas se aprobaron por el Comité de Ética en Investigación, CIR, UADY (oficio No. CEI-22-2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se capturaron 47 roedores pertenecientes a tres familias (*Heteromyidae*, *Cricetidae* y *Muridae*) y cinco especies (*H. gaumeri* (16), *O. phyllotis* (22), *P. yucatanicus* (2), *Sigmodon hispidus* (4) y *M. musculus* (3))(TABLA II).

En la TABLA II se presentan las frecuencias y porcentajes de los datos (sexo, edad y estado reproductivo) y las capturas por sitio de estudio para las especies de roedores estudiados. Como se observa, el mayor porcentaje (68,1%, 32/47) de los roedores capturados

fueron hembras. Asimismo, los roedores adultos (70,2 %, 33/47) y activos (66 %, 31/47) representaron la mayor proporción de las capturas. En relación con la captura por sitio de estudio, el sitio II (fragmento de selva) fue donde se obtuvo la mayor cantidad de roedores (55,3 %, 26/47).

En todas las especies, a excepción de *P. yucatanicus* donde la proporción fue igual (50 %, 1/2), la mayor parte de los individuos capturados fueron hembras, adultos y activos. En el sitio III (milpa abandonada) se capturó por lo menos un espécimen de todas las especies estudiadas. *Peromyscus yucatanicus* únicamente se capturó en el sitio III.

TABLA II
Frecuencias y porcentajes de los datos poblacionales y resultados de PCR para las especies de roedores de Tinum, Yucatán, México

Datos	Especies*					Total (n = 47)
	<i>Ototylomys phyllotis</i> (n = 22)	<i>Heteromys gaumeri</i> (n = 16)	<i>Sigmodon hispidus</i> (n = 4)	<i>Mus musculus</i> (n = 3)	<i>Peromyscus yucatanicus</i> (n = 2)	
Sexo (%)						
Macho	9 (40,9)	3 (18,8)	1 (25)	1 (33,3)	1 (50)	15 (31,9)
Hembra	13 (59,1)	13 (81,2)	3 (75)	2 (66,7)	1 (50)	32 (68,1)
Edad (%)						
Juvenil	6 (27,3)	7 (43,8)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	14 (29,8)
Adulto	16 (72,7)	9 (56,2)	4 (100)	3 (100)	1 (50)	33 (70,2)
Condición reproductiva (%)						
Inactiva	7 (31,8)	7 (43,8)	1 (25)	0 (0)	1 (50)	16 (34)
Activa	15 (68,2)	9 (56,2)	3 (75)	3 (100)	1 (50)	31 (66)
Sitio de estudio (%)						
I	2 (9)	1 (6,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (6,4)
II	17(77,4)	9 (56,2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	26 (55,3)
III	3 (16,6)	5 (31,2)	4 (100)	2 (66,7)	2 (100)	16 (34)
IV	0 (0)	1 (6,3)	0 (0)	1 (33,3)	0 (0)	2 (4,3)
Resultado PCR** (%)						
Negativo	18 (81,8)	16 (100)	4 (100)	3 (100)	2 (100)	43 (91,5)
Positivo	4 (8,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (8,5)

*Las especies están ordenadas por abundancia de captura. **Ambas reacciones (*16s-rRNA* y *LipL32*).

Las reacciones moleculares (*16S-rRNA* y *LipL32*) arrojaron una frecuencia de *Leptospira* spp. de 8,5 % (4/47; IC 95 % 3,3 - 19,9 %) (TABLA II). Todos los individuos positivos (n = 4) fueron *O. phyllotis* (FIG. 2). La frecuencia de hembras y machos en los roedores positivos fue la misma (50 %, 2/4) y todos fueron adultos (100 %, 4/4). Según el sitio de estudio, se capturó un roedor positivo (25 %, 1/4) en el sitio I, y tres (75 %, 3/4) en el sitio III.

El análisis bioinformático realizado con las secuencias recuperadas arrojó coincidencias, en todos los casos, con secuencias de *L. interrogans* con identidades del 99 % al 100 % y coberturas del 93 % al 99 %.

El árbol filogenético basado en las secuencias de un fragmento parcial del gen *LipL32* se construyó mediante el método de máxima verosimilitud con el modelo de sustitución Kimura 2–parámetros [26]. Este incluyó secuencias de siete especies patógenas de *Leptospira* con clave de acceso GenBank MK568984.1 (*L. borgpetersenii*), AY461929.1 (*L. weilii*), AY461928.1 (*L. santarosai*), OR920391.1 (*L. kirschneri*),

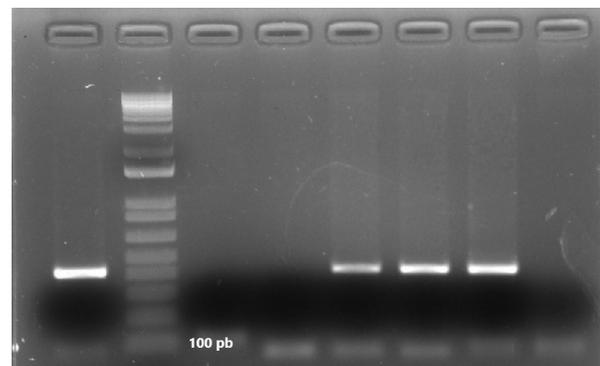


FIGURA 2. Análisis de amplicones en gel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio al 8%. Se muestran productos de PCR pertenecientes al fragmento de *LipL32* de *Leptospira*. Carril 1. Control positivo ADN de *L. borgpetersenii* (423 pares de bases [pb]). Carril 2. Marcador de peso molecular de 100 pb 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®, Thermo Fisher Scientific®). Carriles 3 y 4. Muestras negativas. Carriles 5–7. Muestras positivas de *Ototylomys phyllotis*. Carril 8. Muestra negativa

AF181556.1 (*L. noguchii*), JN683897.1 (*L. mayottensis*), MN373266.1 (*L. interrogans*) y MN373267.1 (*L. interrogans*), una secuencia de *Treponema denticola* (JQ298391.1) como grupo externo y las secuencias (OQ65317 y OQ656316) recuperadas de dos de las muestras positivas de *O. phyllotis*. Ninguna de estas correspondió a *Leptospira* aisladas en México. El análisis demostró que estas últimas están altamente relacionadas (valor de soporte de rama de 100) con las secuencias de *L. interrogans* (FIG. 3).

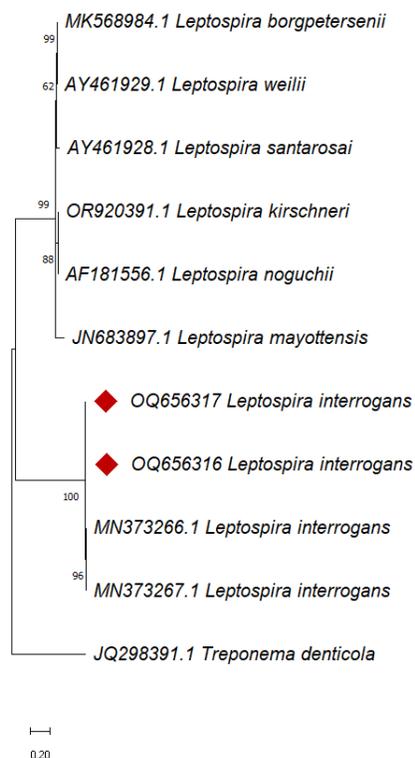


FIGURA 3. Árbol filogenético del fragmento parcial del gen *LipI32* construido con el método de máxima verosimilitud y el modelo de sustitución nucleotídica Kimura 2 - implementado en MEGA X® con 1.000 repeticiones *bootstrap*. Los valores de *bootstrap* (> 0,5) se indican en los nodos. La barra de escala indica las sustituciones de nucleótidos por sitio. En el clado inferior, formado por secuencias de *L. interrogans*, se localizan las secuencias generadas en este estudio (identificadas con un rombo y los accesos OQ65317 y OQ656316). El clado superior incluyó secuencias que pertenecen a otras especies patógenas de *Leptospira*

En el presente estudio se capturaron roedores de cinco especies distintas en sitios con diferentes grados de conservación y usos de suelo. De estas, dos son endémicas para la península de Yucatán (*P. yucatanicus* y *H. gaumeri*) y una introducida (*M. musculus*). Estas especies representan el 50 % de la diversidad reportada de pequeños roedores para Yucatán [27]. Las cinco especies han sido identificadas como portadoras de varios agentes etiológicos que ocasionan enfermedades con importancia en salud pública y animal, como *Rickettsia* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii*, parasitosis por helmintos, entre otras. Por lo que su inclusión en los estudios epidemiológicos es fundamental para comprender los ciclos de transmisión de los agentes etiológicos y minimizar el riesgo de

infección en las poblaciones de hospederos susceptibles, incluidos los humanos y animales domésticos y mascotas [28, 29].

La participación de los pequeños roedores en la epidemiología y los ciclos de transmisión de *Leptospira* patógenas es bien conocida a nivel mundial [30]. Se reconocen tres tipos de ciclos: urbano, rural y silvestre. En todos, los pequeños roedores son elementos relevantes [31], por lo que, a nivel global, existen incontables investigaciones que han evidenciado la presencia de *Leptospira* en tejido renal de numerosas especies, sinantrópicas y silvestres, capturadas en entornos urbanos, suburbanos, rurales, naturales, entre otras [32, 33].

En México, algunos trabajos han evidenciado diferentes frecuencias de *Leptospira* en pequeños roedores capturados en varios estados y regiones. Por ejemplo, Gutiérrez-Molina y col. [34] reportaron 62,9 % (17/28) en roedores capturados en la región Nautla, Veracruz. De igual manera, Espinosa-Martínez y col. [35] identificaron 20 % (2/10) de infección en roedores capturados en Calakmul, Campeche. En roedores capturados en Quintana Roo, Campeche y Nuevo León, Rodríguez-Rojas y col. [36] reportaron 14,9 % (17/114) de *Leptospira* spp. Todas estas frecuencias son superiores a la identificada en los roedores de Tinum (8,5 %, 4/47).

Los factores que influyen en la variación entre las frecuencias de *Leptospira* spp. en las poblaciones de pequeños roedores y otros reservorios no son claros. En este sentido, se han propuesto, entre otros, el tamaño de la muestra estudiada, ya que un tamaño elevado es directamente proporcional a la frecuencia de *Leptospira* spp., y las condiciones climáticas del área donde se realiza el estudio que afectan tanto a la sobrevivencia de *Leptospira* spp. en el ambiente como la distribución y el número de roedores. Otros elementos como la metodología de captura de los roedores y las pruebas de laboratorio empleadas para la identificación de *Leptospira* spp., también influye en la frecuencia de detección [32, 37].

Particularmente en Yucatán, los estudios también han evidenciado frecuencias variables de *Leptospira* spp. Torres-Castro y col. [13] reportaron 4,8 % (9/187) de *Leptospira* en roedores capturados en viviendas de la comisaría de Molas. En roedores capturados en viviendas y parches de selva baja subcaducifolia del municipio de Cenotillo, Torres-Castro y col. [15] hallaron una frecuencia de 5,4 % (5/92). De igual forma, en orina recolectada en una muestra representativa de estos roedores no se encontró evidencia de *Leptospira* spp. (0 %, 0/84) [38]. En roedores capturados en barrios suburbanos de la ciudad de Mérida y en viviendas del municipio de Opichén, Panti-May y col. [14] encontraron una frecuencia de 0,9 % (1/118). Recientemente, Dzib-Paredes y col [16], con roedores capturados en viviendas de las comunidades marginadas de Chan San Antonio y Sucopó, ubicadas en la zona oriente de Yucatán, reportaron 1,21 % (1/82). Todas estas frecuencias de *Leptospira* son menores comparadas con la obtenida en los roedores del presente trabajo (8,5 %, 4/47).

En el trabajo más reciente, realizado con roedores capturados en cinco sitios distintos de Yucatán, Suárez-Galaz y col. [17] reportaron una frecuencia de *Leptospira* de 20,5 % (16/78) que es, hasta el momento, la única frecuencia superior en comparación con la registrada en los roedores de Tinum.

Los cuatro individuos positivos a *Leptospira* spp. encontrados en este trabajo fueron *O. phyllotis*. El hallazgo de *Leptospira* spp. en este roedor, coincide con lo reportado por Espinosa-Martínez y col. [35] en roedores capturados en Calakmul, Campeche. De igual manera, recientemente, Suárez-Galaz y col. [17] describieron evidencia de

Leptospira spp. en *O. phyllotis* capturados en Yucatán. Por lo tanto, los hallazgos presentados refuerzan la participación de este roedor en la epidemiología de *Leptospira*. En el trabajo de Suárez–Galaz y col. [17] la frecuencia de *Leptospira* spp. específicamente para *O. phyllotis* fue de 22,2% (2/9), la cual es similar a la evidenciada en los *O. phyllotis* capturados en todos los sitios de Tinum (18,2%, 4/22). Sin embargo, no se conocen los factores ecológicos o epidemiológicos que influyen en la presencia de *Leptospira* spp. en esta especie, por lo que son necesarios más estudios epidemiológicos para demostrar el riesgo de transmisión de *Leptospira* spp. hacia los hospederos susceptibles por el contacto con *O. phyllotis*, sobre todo en sitios con algún grado de perturbación antropogénica.

El árbol filogenético demostró que las secuencias obtenidas en este trabajo corresponden a *L. interrogans*. Este hallazgo coincide con reportes en roedores de varias especies de México. Espinosa–Gutiérrez y col. [35] identificaron esta especie patógena de *Leptospira* spp. en tejido renal de *H. gaumeri* y *O. phyllotis* capturados en Campeche. En Yucatán, Torres–Castro y col. [13, 15] la hallaron en tejido renal de *M. musculus*, *R. rattus* y *H. gaumeri*.

Leptospira interrogans es la especie que ocasiona la mayor parte de los casos fatales de leptospirosis humana, por lo que tiene relevancia para la salud pública [39]. En este sentido, en áreas donde es endémica se ha establecido que entre los factores involucrados en su transmisión se encuentran la exposición indirecta a orina contaminada, el contacto directo con roedores portadores y realizar actividades en medios naturales donde estos animales circulan [40].

Por último, aunque los mecanismos y las vías de transmisión de *Leptospira* spp. en los roedores silvestres de Yucatán no han sido explorados, algunas evidencias apuntan a que la transmisión entre estos mamíferos silvestres ocurre por la convivencia con otros portadores infectados (murciélagos, zarigüeyas, etc.) que excretan bacterias viables por su orina y contaminan el entorno que comparten [41].

CONCLUSIONES

Se demostró la presencia de *L. interrogans* en *O. phyllotis* capturados en entornos intervenidos por el humano en el estado de Yucatán. Estos hallazgos aumentan el conocimiento sobre la epidemiología de *Leptospira* spp. en la región de estudio, sobre todo, el relacionado con los reservorios de las bacterias. Se necesitan otros abordajes para conocer el riesgo de transmisión de *L. interrogans* hacia los humanos y otros hospederos vertebrados susceptibles por el contacto directo o indirecto con *O. phyllotis*.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no existir conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Al personal de vectores de la Jurisdicción Sanitaria No. 2 de los Servicio de Salud del estado de Yucatán (SSY) por su valioso apoyo durante el trabajo de campo. El trabajo de campo fue financiado por el proyecto “Estudio eco–epidemiológico para la caracterización de un foco emergente de leishmaniosis en el municipio de Tinum, Yucatán”, CONACYT–FOSISS 2018.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Vincent AT, Schiettekatte O, Goarant C, Neela VK, Bernet E, Thibeaux R, Ismail N, Mohd Khalid MKN, Amran F, Masuzawa T, Nakao R, Amara Korba A, Bourhy P, Veyrier FJ, Picardeau M. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. 2019; 13(5):e0007270. doi: <https://doi.org/ghg4zf>
- [2] Korba AA, Lounici H, Kainiu M, Vincent AT, Mariet JF, Veyrier FJ, Goarant C, Picardeau M. *Leptospira ainlahdjerensis* sp. nov., *Leptospira ainzelensis* sp. nov., *Leptospira abararensis* sp. nov. and *Leptospira chreensis* sp. nov., four new species isolated from water sources in Algeria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* [Internet]. 2021; 71(12):005148. doi: <https://doi.org/jqsc>
- [3] Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez–Silveira MS, Stein C, Abela–Ridder B, Ko AI. Global morbidity and mortality of leptospirosis: A systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. 2015; 9(9):e0003898. doi: <https://doi.org/b7sd>
- [4] Noguchi H, Kligler IJ. Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated from a case of yellow fever in Merida, Mexico. *J. Exp. Med.* [Internet]. 1920; 32(5):627–637. doi: <https://doi.org/fk9jmk>
- [5] Torres–Castro M, Hernández–Betancourt S, Agudelo–Flórez P, Arroyave–Sierra E, Zavala–Castro J, Puerto FI. Revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* [Internet]. 2016 [consultado 18 Ene. 2024]; 54(5):620–655. Disponible en: <https://goo.su/mRAwj1>
- [6] Yescas–Benítez JE, Rivero–Perez N, Montiel–Díaz HE, Valladares–Carranza B, Peláez–Acero A, Morales–Ubaldo AL, Zaragoza–Bastida A. Comportamiento epidemiológico de la leptospirosis en México durante el periodo 2013–2019. *Rev. Salud Pública.* [Internet]. 2020; 22(4):421–427. doi: <https://doi.org/kq3c>
- [7] Sánchez–Montes S, Espinosa–Martínez DV, Ríos–Muñoz CA, Berzunza–Cruz M, Becker I. Leptospirosis in Mexico: Epidemiology and potential distribution of human cases. *PLoS One.* [Internet]. 2015; 10(7):e0133720. doi: <https://doi.org/gpwxm>
- [8] Dirección General de Epidemiología. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Sistema Único de Información. Boletín Epidemiológico [Internet]. [Consultado 16 Ene. 2024]; 34 p. Disponible en: <https://goo.su/4vKmf>
- [9] Griffiths J, Yeo HL, Yap G, Mailepessov D, Johansson P, Low HT, Siew CC, Lam P, Ng LC. Survey of rodent–borne pathogens in Singapore reveals the circulation of *Leptospira* spp., Seoul hantavirus, and *Rickettsia typhi*. *Sci. Rep.* [Internet]. 2022; 12(2692). doi: <https://doi.org/m4tb>
- [10] Levett PN. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* [Internet]. 2001; 14(2):296–326. doi: <https://doi.org/fgtwkb>
- [11] Ellis WA. Animal leptospirosis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* [Internet]. 2015; 387:99–137. doi: <https://doi.org/jqr4>
- [12] Cosson JF, Picardeau M, Mielcarek M, Tatard C, Chaval Y, Suputtamongkol Y, Buchy P, Jittapalpong S, Herbreteau V, Morand S. Epidemiology of *Leptospira* transmitted by rodents in southeast Asia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. 2014; 8(6):e2902. doi: <https://doi.org/m4tc>

- [13] Torres-Castro MA, Gutiérrez-Ruiz E, Hernández-Betancourt S, Peláez-Sánchez R, Agudelo-Flórez P, Guillermo-Cordero L, Puerto FI. First molecular evidence of *Leptospira* spp. in synanthropic rodents captured in Yucatan, Mexico. *Revue Méd. Vét.* [Internet]. 2014 [consultado 16 Ene. 2024]; 165(7-8):213-218. Disponible en: <https://goo.su/Ri1d>
- [14] Panti-May JA, de Andrade RRC, Gurubel-González Y, Palomo-Arjona E, Sodá-Tamayo L, Meza-Sulú J, Ramírez-Sierra M, Dumonteil E, Vidal-Martínez VM, Machaín-Williams C, de Oliveira D, Reis MG, Torres-Castro MA, Robles MR, Hernández-Betancourt SF, Costa F. A survey of zoonotic pathogens carried by house mouse and black rat populations in Yucatan, Mexico. *Epidemiol. Infect.* [Internet]. 2017; 145(11):2287-2295. doi: <https://doi.org/m4td>
- [15] 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 FI. Detección molecular de leptospiras patógenas en roedores sinantrópicos y silvestres capturados en Yucatán, México. *Biomédica.* [Internet]. 2018; 38(Supl. 2):51-58. doi: <https://doi.org/kq3q>
- [16] Dzib-Paredes G, Rodríguez-Vivas RI, Panti-May A, Noh-Pech H, Rosado-Aguilar JA, Torres-Castro M. Frecuencia de *Borrelia burgdorferi* sensu lato y *Leptospira* spp. en pequeños roedores de Yucatán, México. *Rev. Cient. FCV-LUZ.* [Internet] 2022; 32:1-8. doi: <https://doi.org/krvq>
- [17] Suárez-Galaz A, Reyes-Novelo E, Hernández-Betancourt S, Panti-May A, Estrella E, Sánchez-Montes S, Noh-Pech H, Lugo-Caballero C, Colunga-Salas P, Peláez-Sánchez R, Sosa-Escalante J, Herrera-Flores BG, Rodríguez-Vivas RI, Torres-Castro M. Study on the relation of the characteristics of the capture sites with the *Leptospira* spp. occurrence in bats and rodents from Yucatan, Mexico. *Acta Trop.* [Internet]. 2024; 249:107072. doi: <https://doi.org/m4tf>
- [18] Torres-Castro M, Panti-May JA, MacSwiney-González MC, Lugo-Caballero C, Suárez-Galaz A, Suárez-Galaz M, Yeh-Gorocica A, Cruz-Camargo B. Detección de *Leptospira* spp. en murciélagos de la península de Yucatán, México. *Rev. Cient. FCV-LUZ.* [Internet]. 2023; 33(2):1-6. doi: <https://doi.org/m4tg>
- [19] Tinúm. [Internet]. Mérida, Yucatán: Secretaría de Fomento Económico y Trabajo. Gobierno Estatal de Yucatán. [consultado 27 Dic. 2023]. Disponible en: <https://goo.su/Nu4RGd6>
- [20] Sosa-Bibiano EI, Sánchez-Martínez LA, López-Ávila KB, Chablé-Santos JB, Torres-Castro JR, Fernández-Figueroa EA, Rangel-Escareño C, Loria-Cervera EN. *Leishmania (Leishmania) mexicana* infection in wild rodents from an emergent focus of cutaneous leishmaniasis in Yucatan, Mexico. *J. Trop. Med.* [Internet] 2022; 2022:8392005. doi: <https://doi.org/m4th>
- [21] Leary S, Underwood W, Anthony R, Cartner S, Grandin T, Greenacre C, Gwaltney-Brant S, McCrackin MA, Meyer R, Miller D, Shearer J, Turner T, Yanong R. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. American Veterinary Medical Association. [Internet]. 2020 [consultado 27 Dic. 2023]. pp. 60-62. Disponible en: <https://goo.su/ricE3t>
- [22] Reid F. A field guide to the mammals of America Central and Southeast México. 2a ed. Oxford (UK): Oxford University Press; 2009. 346 p.
- [23] Suárez-Galaz AR, Hernández-Betancourt S, Panti-May JA, Manrique-Saide P, Torres-Castro M. Evidencia de *Leptospira* spp. en musarañas *Cryptotis mayensis*. Nuevo hospedero en Yucatán, México. *Rev. Biomédica.* [Internet]. 2021; 32(3):134-138. doi: <https://doi.org/kq3r>
- [24] Felsenstein J. Phylogenies and the comparative method. *Amer. Naturalist* [Internet]. 1985; 125(1):1-15. doi: <https://doi.org/dqzk28>
- [25] Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* [Internet] 2004; 101(30):11030-11035. doi: <https://doi.org/fth7tb>
- [26] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* [Internet]. 1980; 16(2):111-120. doi: <https://doi.org/dj9hbb>
- [27] Hernández-Betancourt SF, Cimé-Pool JA, Chablé-Santos J. Pequeños roedores. *Biodiversidad.* [Internet]. 2010; pp. 272-273. [Consultado 08 Ene. 2024]. Disponible en: <https://goo.su/zygdP>
- [28] Panti-May JA, Torres-Castro MA, Hernández-Betancourt SF. Parásitos zoonóticos y micromamíferos en la península de Yucatán, México: contribuciones del CCBA-UADY. *Trop. Subtrop. Agroecosystems* [Internet]. 2021; 24(1):1-11. doi: <https://doi.org/m4tp>
- [29] Torres-Castro MA. ¿Son los roedores sinantrópicos una amenaza para la salud pública de Yucatán? *Rev. Biomédica* [Internet]. 2017; 28(3):183-190. doi: <https://doi.org/m4tq>
- [30] Vieira AS, Pinto PS, Lilienbaum W. A systematic review of leptospirosis on wild animals in Latin America. *Trop. Anim. Health Prod.* [Internet]. 2018; 50(2):229-238. doi: <https://doi.org/gcx886>
- [31] Medeiros LDS, Domingos SCB, Azevedo MIND, Peruquetti RC, de Albuquerque NF, D'Andrea PS, Botelho ALM, Crisóstomo CF, Vieira AS, Martins G, Teixeira BR, Carvalho-Costa FA, Lilienbaum W. Small mammals as carriers/hosts of *Leptospira* spp. in the western Amazon Forest. *Front. Vet. Sci.* [Internet] 2020; 7:569004. doi: <https://doi.org/m4tr>
- [32] Boey K, Shiokawa K, Rajeev S. *Leptospira* infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. 2019; 13(8):e0007499. doi: <https://doi.org/m4ts>
- [33] Nova RIT, Susanna D, Warsito GM. The presence of rodents infected with *Leptospira* bacteria in various countries and the leptospirosis potential in humans: A systematic review. *Malaysian J. Public Health Med.* [Internet]. 2020 [Consultado 08 Ene 2024]; 20(2):185-196. doi: <https://doi.org/m4tt>
- [34] Gutiérrez-Molina R, Cruz-Romero A, Romero-Salas D, Ballados-González G, Jiménez-Hernández JA, 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* [Internet]. 2019; 10(2):171-174. doi: <https://doi.org/m4tv>
- [35] Espinosa-Martínez DV, Sánchez-Montes DS, León-Paniagua L, Ríos-Muñoz CA, Berzunza-Cruz M, Becker I. New wildlife hosts of *Leptospira interrogans* in Campeche, Mexico. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* [Internet]. 2015; 57(2):181-183. doi: <https://doi.org/f69s5b>

- [36] Rodríguez-Rojas JJ, Rodríguez-Moreno Á, Sánchez-Casas RM, Hernández-Escareño JJ. Molecular detection of *Leptospira interrogans* and *Borrelia burgdorferi* in wild rodents from Mexico. Vector Borne Zoonotic Dis. [Internet]. 2020; 20(11):860–863. doi: <https://doi.org/m4tw>
- [37] Luna J, Salgado M, Tejada C, Moroni M, Monti G. Assessment of risk factors in synanthropic and wild rodents infected by pathogenic *Leptospira* spp. captured in southern Chile. Animals. [Internet]. 2020; 10(11):2133. doi: <https://doi.org/ghxn98>
- [38] Torres–Castro MA, Cruz–Camargo BE, Medina–Pinto R, Moguel–Lehmer C, Arcila–Fuentes W, Medina R, Ortiz–Esquivel J, López–Ávila A, Noh–Pech HR, Panti–May HA, Rodríguez–Vivas RI, Puerto FI. Absence of molecular evidence of *Leptospira* spp. in urine samples collected from rodents captured in Yucatán, México. Austral J. Vet. Sci. [Internet]. 2017; 49(3):195–198. doi: <https://doi.org/gckgkr>
- [39] Rao M, Amran F, Kamaruzaman AA, Hakim Esa HA, Abdul Hameed A, Mohamed Shabery NA. Case report: fatal human Leptospirosis caused by *Leptospira interrogans* genotype ST149. Am. J. Trop. Med. Hyg. [Internet]. 2021; 104(1):216–218. doi: <https://doi.org/m4tx>
- [40] Philip N, Bahtiar Affendy N, Ramli SNA, Arif M, Raja P, Nagandran E, Renganathan P, Taib NM, Masri SN, Yuhana MY, Than LTL, Seganathirajah M, Goarant C, Goris MGA, Sekawi Z, Neela VK. *Leptospira interrogans* and *Leptospira kirschneri* are the dominant *Leptospira* species causing human leptospirosis in Central Malaysia. PLoS Negl. Trop. Dis. [Internet] 2020; 14(3):e0008197. doi: <https://doi.org/m4tz>
- [41] Mgode GF, Katakweba AS, Mhamphi GG, Fwalo F, Bahari M, Mdangi M, Kilonzo BS, Mulungu LS. Prevalence of leptospirosis and toxoplasmosis: a study of rodents and shrews in cultivated and fallow land, Morogoro rural district, Tanzania. Tanzania J. Hlth. Res. [Internet]. 2014; 16(3):e11. doi: <https://doi.org/m4t2>