



Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de Salud
Licenciatura en Biología

Informe de Servicio Social por Investigación

**Identificación de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola
en tejidos del Modelo Animal Hámster (*Mesocricetus auratus*) en
condiciones de inmunodepresión**

Que presenta

Metzy Joselyn José Lucas
(matrícula: 2203058915)

Asesoras

Dra. María Teresa Núñez Cardona
(Número Económico: 14473)
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco
Departamento Del Hombre y su Ambiente

M en C. Erika Margarita Carrillo Casas
(Cédula Profesional: 4556989)
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"
Departamento de Biología Molecular e Histocompatibilidad

Ciudad de México 08 de mayo del 2026

Índice

RESUMEN.....	3
1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo general:.....	6
2.2 Objetivos específicos:	6
3. METODOLOGÍA.....	6
3.1 Extracción de ADN por el método de Fenol-cloroformo	6
3.2 Cuantificación de ADN	8
3.3 Reacción en cadena de la polimerasa	8
Reactivos para PCR.....	8
3.4 Controles de la PCR	9
3.5 Análisis por electroforesis	9
4. ACTIVIDADES REALIZADAS.....	9
5. METAS ALCANZADAS	10
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
7. CONCLUSIONES	13
8. RECOMENDACIONES	14
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
10. VISTO BUENO DE LAS ASESORAS	17

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial causada por bacterias del género *Leptospira*, cuya capacidad de diseminación sistémica y persistencia en el hospedador representa un problema relevante para la salud pública y veterinaria. Dentro de las especies patógenas, *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola ha sido asociada principalmente a reservorios animales y cuadros clínicos severos. El presente estudio tuvo como objetivo identificar la presencia de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola en un modelo experimental de hámster (*Mesocricetus auratus*), en un grupo control y un grupo inmunodeprimido, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa de punto final (PCR). Se trabajó con hámsteres divididos en un grupo control y un grupo inmunodeprimido, los cuales fueron evaluados en los días 18 y 22 postinfección. De cada animal se obtuvieron muestras de hígado, riñón, bazo, corazón, cerebro, ojo y pulmón. El ADN genómico fue extraído a partir de los tejidos y cuantificado por espectrofotometría, observándose concentraciones variables entre órganos, pero con calidad para su análisis molecular. La detección del ADN bacteriano se realizó mediante PCR empleando iniciadores específicos para la serovariedad estudiada. Los resultados mostraron amplificación del fragmento esperado en muestras provenientes de animales infectados, mientras que los controles negativos no presentaron bandas, confirmando la especificidad y confiabilidad del ensayo. El ADN de *Leptospira* fue detectado en múltiples órganos, incluyendo riñón, hígado, pulmón, bazo, corazón, cerebro y ojo, tanto en el día 18, como en el día 22 postinfección, lo que evidenció la diseminación sistémica del patógeno. En el grupo inmunodeprimido se observó persistencia del ADN bacteriano en diversos tejidos, lo que sugiere que la depresión del sistema inmunológico favoreció la permanencia del microorganismo en el hospedador. Los resultados del presente estudio revelan la amplia distribución tisular de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola en el modelo experimental de hámster en condiciones de inmunodepresión y resalta la utilidad de la PCR como herramienta para la detección del patógeno. Estos hallazgos contribuyen a la comprensión de la patogénesis de la leptospirosis y del papel del estado inmunológico en la dinámica de la infección.

Palabras clave: *Leptospira*, *Leptospira interrogans*, Zoonosis, Inmunodepresión, PCR.

1. INTRODUCCIÓN

Leptospira interrogans es una espiroqueta patógena causante de la leptospirosis, una enfermedad zoonótica de distribución mundial que genera más de 500 000 casos anuales en seres humanos, con mayor prevalencia en regiones tropicales y subtropicales. Esta bacteria fue descrita por primera vez a finales del siglo XIX y principios del siglo XX, cuando Adolf Weil caracterizó el cuadro clínico grave asociado a ictericia, insuficiencia renal y hemorragias, posteriormente denominado enfermedad de Weil. A partir de estos hallazgos se identificó al agente etiológico perteneciente al género *Leptospira*, el cual agrupa especies patógenas y saprófitas de gran importancia médica y veterinaria (Levett, 2001).

Una de las principales características de *L. interrogans* es su amplia gama de huéspedes, que incluye peces, reptiles, aves, marsupiales y mamíferos, lo que refuerza su carácter zoonótico (Levett, 2001). Dentro de sus múltiples serovariedades, *L. interrogans* serovariedad Canicola destaca por su elevada prevalencia en caninos, considerados reservorios importantes, así como por su capacidad para infectar al ser humano, especialmente en contextos de convivencia estrecha con mascotas (Adler y De la Peña, 2010). Esta serovariedad presenta tropismo por órganos como hígado, riñones y pulmones, donde puede establecer infecciones persistentes.

La transmisión de la leptospirosis ocurre principalmente cuando animales portadores crónicos excretan la bacteria viable a través de la orina, contaminando suelos y cuerpos de agua. *Leptospira* posee una notable capacidad de supervivencia en el ambiente, ya que puede mantenerse viable en condiciones de humedad superiores al 20 %, en suelos y aguas con pH entre 5.5 y 7.6 y temperaturas de 4 a 40 °C (Levett, 2001). Asimismo, es capaz de metabolizar urea y persistir entre 6 y 18 horas en orina bovina pura, prolongando su supervivencia cuando esta se encuentra diluida. En ambientes favorables, puede permanecer infecciosa hasta 43 días en suelos húmedos y hasta 20 meses en agua dulce (Barragan et al., 2017).

Desde el punto de vista epidemiológico, la leptospirosis continúa representando un reto para la salud pública global. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el mundo se han registrado 16,144 casos confirmados de leptospirosis, y con mayor incidencia en países de Asia, África y América Latina (Costa et al., 2015). En México, el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) ha documentado casos en diversas entidades, lo que evidencia la circulación activa del patógeno y su importancia como problema de salud pública (Yescas-Benítez et al., 2020). A pesar de que la serovariedad Canicola ha sido ampliamente estudiada, persisten vacíos de conocimiento respecto a su patogenia y distribución tisular en organismos

inmunodeprimidos, lo que resalta la necesidad de estudios experimentales que aborden esta problemática.

La identificación precisa de *Leptospira* en tejidos es fundamental para comprender su patogenia, mejorar el diagnóstico clínico y prevenir brotes, lo que ha impulsado el uso de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), debido a su alta sensibilidad y especificidad (Waggoner y Pinsky, 2016). En este contexto, el modelo animal hámster (*Mesocricetus auratus*) ha sido ampliamente utilizado para el estudio de la leptospirosis aguda, debido a su elevada susceptibilidad a la infección y a la reproducibilidad del modelo experimental (Haake, 2006). Los hámsteres desarrollan manifestaciones clínicas y alteraciones tisulares comparables a las observadas en humanos, lo que permite analizar la diseminación bacteriana, la inflamación y el daño en órganos diana como hígado y riñones (Gomes-Solecki et al., 2017).

La inmunodepresión se define como un estado caracterizado por la disminución general de la actividad del sistema inmunitario ya sea por enfermedades crónicas, infecciones, desnutrición, envejecimiento o por alteraciones genéticas que afectan los mecanismos de defensa del hospedero. El sistema inmunitario desempeña un papel fundamental durante la infección por *Leptospira*, ya que la respuesta innata y adaptativa contribuyen a limitar la multiplicación bacteriana, promover la eliminación del patógeno y prevenir su diseminación hacia órganos como hígado, riñón y pulmón. En condiciones normales, macrófagos, neutrófilos y linfocitos, junto con la producción de anticuerpos específicos, participan activamente en el control de la infección (Abbas et al., 2023; Delves et al., 2021; Haake y Levett, 2015)

Puede decirse que aún existe información limitada sobre el comportamiento de la leptospirosis en condiciones de inmunodepresión, la cual puede favorecer la colonización, persistencia y diseminación tisular de *Leptospira*, al limitar la respuesta inflamatoria del hospedero (Haake y Levett, 2015).

El presente estudio tuvo como objetivo identificar la presencia de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola en tejidos de hámster sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) de ejemplares inmunodeprimidos y su comparación con un grupo de animales control, mediante la aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final, con el fin de evaluar su distribución tisular.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general:

Identificar la presencia de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola en tejidos del Modelo Animal hámster (*Mesocricetus auratus*) en condiciones de inmunodepresión.

2.2 Objetivos específicos:

- a) Obtener los tejidos del Modelo Animal Hámster infectados con *L. interrogans* serovariedad Canicola en condiciones de inmunodepresión.
- b) Obtener ADN de las muestras de tejido por extracción de lisis alcalina.
- c) Determinar la presencia de *L. interrogans* serovariedad Canicola en tejidos del Modelo Animal Hámster (*Mesocricetus auratus*) en condiciones de inmunodepresión mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final.
- d) Analizar el impacto del estado inmunológico de inmunodepresión sobre la infección de *L. interrogans* en tejidos del Modelo Animal Hámster (*Mesocricetus auratus*).

3. METODOLOGÍA

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Biología Molecular e Histocompatibilidad del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”. Se emplearon tejidos de un modelo animal hámster (*Mesocricetus auratus*), correspondientes a un grupo control y a un grupo inmunodeprimido, evaluados en los días 18 y 22 postinfección. Los animales fueron infectados experimentalmente con *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola. Posteriormente, se realizó la extracción y cuantificación del ADN a partir de diversos tejidos, incluyendo hígado, riñón, bazo, corazón, cerebro, ojo y pulmón. Finalmente, la identificación de *Leptospira* se efectuó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final.

3.1 Extracción de ADN por el método de Fenol-cloroformo

Para el aislamiento de ADN, se transfirieron 100 µg de tejido recién diseccionado a un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml y se trituraron mecánicamente con un pistilo estéril. Posteriormente, se añadió 1 ml de amortiguador de lisis y 20 µL de proteinasa K (20 µg/ml) en solución SNET (50 mM Tris-base, 5 mM EDTA, 400 mM NaCl y 1 % SDS) (Tabla 1). La mezcla se incubó durante toda la noche a 56 °C en baño María, manteniendo los tubos en posición horizontal sobre una plataforma oscilante.

Al término de la incubación, los tejidos fueron digeridos y la solución presentó una coloración gris lechosa; seguido, se añadieron 800 µl de fenol equilibrado y se

centrifugó a 3 000 rpm durante 10 min a 4 °C. La fase acuosa fue recuperada y transferida a un tubo nuevo, al cual se añadió 1 ml de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1). La mezcla se agitó suavemente y se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente.

Posteriormente, el ADN se precipitó mediante la adición de etanol y acetato de sodio 3 M a pH 6. La pastilla obtenida se lavó con 1 ml de etanol al 70 % y se centrifugó a 3 000 rpm durante 15 min a 4 °C. El etanol se eliminó y el pellet se dejó secar al aire durante 15 min a temperatura ambiente. Finalmente, el ADN se suspendió en 250 µl de amortiguador TE (pH 8.0) (Tabla 2), con agitación suave y se conservó a 4 °C hasta su análisis.

Tabla 1. Composición de la solución SNET

Reactivo	Concentración inicial	Concentración final	Volumen final (µl)
Tris-HCL (pH 8)	1 M	25 mM	40
EDTA	0.5 M	5 µM	400
NaCl	1 M	100 µM	200
SDS	10 %	0.01 %	400
Proteinasa K	20 mg/ml	20 µg/ml	20

Tabla 2. Concentraciones de la solución amortiguadora TE

Reactivos	Concentración inicial	Concentración final	Volumen final (µl)
EDTA (pH 8,0)	0.5 M	1 mM	2
Tris-base (pH 8,0)	1 M	10 mM	10
Agua destilada	—	—	988

3.2 Cuantificación de ADN

La calidad y cantidad del ADN obtenido se determinaron mediante espectrofotometría en el equipo NanoDrop One® (Thermo Fisher Scientific), de acuerdo con las especificaciones del fabricante. El instrumento se calibró con amortiguador TE (pH 8.0). como blanco. Para cada medición se colocó 1 µl de muestra sobre el pedestal del equipo. La concentración de ADN se expresó en ng/µl y la pureza se evaluó mediante las relaciones de absorbancia A260/A280 y A260/A230.

3.3 Reacción en cadena de la polimerasa

La amplificación del ADN se realizó por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final. En un tubo de microcentrifuga estéril y libre de nucleasas, mantenido en hielo, se preparó una mezcla de reacción con un volumen final de 50 µl con las condiciones de reacción: Amortiguador 5X Colorless, 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP, 0.1 µM del iniciador Can-F (CAA AGG TGA TTC ACA AGG), 0.1 µM del iniciador Can-R (TCA GTG CAT TAG CCG TAT), 2.5 U de GoTaq® ADN polimerasa (Promega) y 0.5 mg de ADN molde y agua libre de nucleasas para ajustar al volumen final como se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Reactivos y concentraciones para preparación de PCR.

Reactivos	Concentración inicial	Concentración final	Volumen final (µl)
Buffer Colorless 5x	5X	1X	10
Solución de MgCl ₂	25 mM	1.5 mM	3
dNTPs	10 mM	0.2 mM	1
Iniciador Can-F (CAA AGG TGA TTC ACA AGG)	10 µM	0.1 µM	0.5
Iniciador Can-R (TCA GTG CAT TAG CCG TAT)	10 µM	0.1 µM	0.5
Go Taq® ADN polimerasa	5 U/µl	1.25 U/µl	1.25
Agua Ultrapura estéril	-	-	28.75
ADN de la muestra	100 ng	-	5
Volumen total			50

Las reacciones se colocaron en un termociclador bajo el siguiente programa: una desnaturalización inicial a 95 °C durante 2 min, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 s, alineación a 60 °C durante 30 s y extensión a 72 °C durante 1 min. Finalmente, se realizó una extensión final a 72 °C durante 2 min.

3.4 Controles de la PCR

En cada corrida de PCR se incluyeron controles positivos y negativos. Como control positivo se utilizó ADN genómico de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola. Como control negativo se empleó ADN bacteriano no relacionado a las espiroquetas y un control libre de ADN molde (NTC). Los controles se sometieron a las mismas condiciones de amplificación que las muestras experimentales.

3.5 Análisis por electroforesis

Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, teñido con bromuro de etidio 0.5 µg/ml. La corrida electroforética se realizó en una cámara OWL de 11 pozos con voltaje de 60 V durante 80 min. Posteriormente, los geles se visualizaron en un transiluminador UV para la detección de los productos amplificados.

4. ACTIVIDADES REALIZADAS

Se llevó a cabo la extracción de ADN a partir de muestras de tejidos previamente obtenidas, empleando metodologías estandarizadas para garantizar la integridad y calidad del material genético.

Posteriormente, se realizó la estandarización y aplicación de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola. Este procedimiento incluyó la preparación de la mezcla de reacción, compuesta por ADN molde, iniciadores (*primers*) específicos, nucleótidos, tampón de reacción, cloruro de magnesio y ADN polimerasa.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador bajo condiciones previamente optimizadas, que comprendieron una fase de desnaturalización inicial, seguida de ciclos repetidos de desnaturalización, alineamiento de los iniciadores y extensión, finalizando con una extensión terminal. Asimismo, se incluyeron controles positivos y negativos para validar la especificidad y confiabilidad de la técnica.

Los productos de PCR fueron posteriormente analizados mediante electroforesis en gel de agarosa, permitiendo la visualización de las bandas correspondientes al fragmento esperado. Finalmente, los resultados fueron interpretados conforme a los criterios establecidos para técnicas moleculares, manteniendo un registro

sistemático de los datos experimentales y cumpliendo con las normas de bioseguridad y buenas prácticas de laboratorio.

5. METAS ALCANZADAS

En el desarrollo del presente estudio se logró identificar la presencia de *L. interrogans* serovariedad Canicola en tejidos de hámster (*Mesocricetus auratus*) mediante la aplicación de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final. Asimismo, fue posible obtener ADN de buena calidad y concentración a partir de diferentes tejidos; hígado, riñón, bazo, corazón, cerebro, ojo y pulmón, de los grupos de animales inmunodeprimidos y del grupo control.

De igual manera, se logró evaluar la distribución del ADN de *Leptospira* en los distintos órganos analizados en dos momentos postinfección, lo que permitió observar la persistencia del patógeno bajo condiciones de inmunodepresión. Finalmente, se estableció y aplicó exitosamente el protocolo de extracción de ADN y amplificación por PCR de punto final reproducible para la detección de *L. interrogans* serovariedad Canicola en tejidos animales.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se obtuvo ADN genómico a partir de tejidos provenientes de hámsteres (*Mesocricetus auratus*), correspondientes a un grupo control y a un grupo inmunodeprimido, sacrificados en los días 18 y 22 postinfección con *L. interrogans* serovariedad Canicola. De cada animal se recolectaron muestras de hígado, riñón, bazo, corazón, cerebro, ojo y pulmón, esto con el objetivo de evaluar la distribución tisular del patógeno mediante técnicas moleculares.

La cuantificación del ADN por espectrofotometría evidenció concentraciones variables entre los diferentes órganos analizados, lo cual es esperado, considerando las diferencias en la composición celular, vascularización y contenido de tejido conectivo de cada órgano. No obstante, todas las muestras presentaron concentraciones y relaciones de absorbancia adecuadas para su posterior análisis por PCR de punto final, lo que permitió descartar inhibición o degradación significativa del ADN extraído. Estos resultados concuerdan con reportes previos que señalan que la variabilidad en el rendimiento de ADN es una característica común cuando se trabaja con tejidos de distinta naturaleza histológica (Coutinho et al., 2014).

La detección de *L. interrogans* serovariedad Canicola se realizó mediante PCR de punto final, lo que permitió identificar la presencia de ADN bacteriano en muestras provenientes de animales infectados. Las muestras correspondientes al grupo

control no mostraron amplificación, confirmando la especificidad del ensayo. Asimismo, el control positivo presentó amplificación del fragmento esperado, mientras que el control negativo y el control libre de ADN molde no mostraron bandas, lo que confirmó la ausencia de contaminación y la confiabilidad del procedimiento experimental (figura 1).

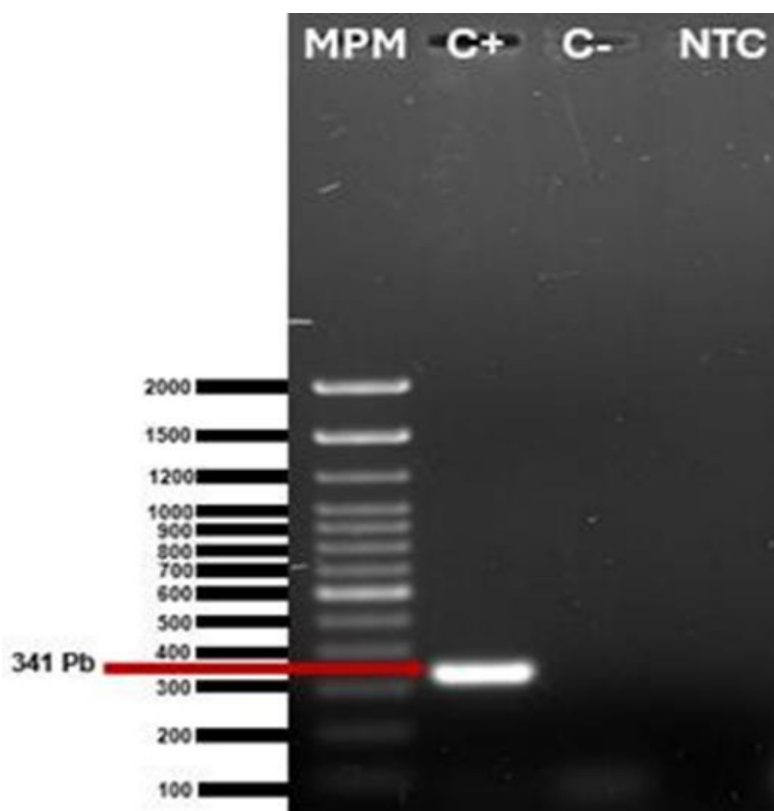


Figura 1. Amplificación por PCR de *L. interrogans* serovariedad Canicola (341 pb) visualizada mediante electroforesis en gel de agarosa. En línea 1. Marcador de peso molecular 100 pb Ladder; Línea 2.- Control positivo (C+); Línea 3. Control negativo (C-); Línea 4. NTC.

El ADN de *L. interrogans* fue detectado en los órganos analizados, que incluyen al hígado, riñón, pulmón, bazo, corazón, cerebro y ojo, tanto en el día 18 como en el día 22, postinfección. Estos hallazgos evidencian una diseminación sistémica del patógeno en el modelo experimental, lo cual coincide con la naturaleza multiorgánica de la leptospirosis descrita en modelos animales y en infecciones humanas.

Aunque el riñón es considerado el principal órgano blanco, debido a la colonización de los túbulos renales, diversos estudios han demostrado que *Leptospira* puede localizarse en distintos tejidos durante las fases aguda y subaguda de la infección (Adler y de la Peña, 2010; Ko et al., 2009).

La detección del patógeno en órganos como hígado y pulmón resulta particularmente relevante, ya que estos órganos suelen asociarse con manifestaciones clínicas graves de la leptospirosis, como ictericia, hemorragia pulmonar y falla orgánica múltiple. La presencia de ADN Leptospiral en bazo y corazón sugiere una interacción directa del patógeno con órganos clave del sistema inmunológico y cardiovascular, lo que podría contribuir a la respuesta inflamatoria sistémica observada durante la infección (Haake y Levett, 2015).

Es de especial interés la detección de ADN Leptospiral en cerebro y ojos, órganos que no se consideran blancos primarios de la infección. Sin embargo, estudios recientes han documentado la capacidad del patógeno para atravesar barreras biológicas como la hematoencefálica y la hematoocular, lo que se ha asociado con manifestaciones neurológicas y oculares tanto en humanos como en modelos animales (Rajapakse et al., 2015; Arrieta-Bechara y Carrascal- Maldonado, 2022). Estos resultados refuerzan la concepción de la leptospirosis como una enfermedad sistémica con amplio tropismo tisular.

Al analizar específicamente el comportamiento de la infección en el grupo inmunodeprimido, se observó la presencia de ADN Leptospiral en los mismos órganos evaluados, lo que sugiere que la alteración del sistema inmunológico favorece la persistencia y diseminación del patógeno. La inmunodepresión limita la capacidad del hospedador para controlar la leptospiremia, permitiendo que *Leptospira* se mantenga en circulación por periodos prolongados y colonice múltiples tejidos. Este fenómeno ha sido descrito en modelos experimentales donde la inmunosupresión se asocia con cargas bacterianas más elevadas y una eliminación menos eficiente del patógeno (Coutinho et al., 2014; Daroz et al., 2021).

La detección del ADN bacteriano en los días 18 y 22 postinfección en animales inmunodeprimidos sugiere una persistencia del patógeno más allá de la fase inicial de la infección, que se relaciona con el desarrollo de lesiones tisulares crónicas y el establecimiento de estados de portador. En este sentido, el riñón continúa desempeñando un papel central, ya que la colonización renal persistente ha sido asociada con la excreción prolongada de *Leptospira* y con la transmisión del patógeno a otros hospedadores (Ko et al., 2009).

El uso de la PCR como herramienta es fundamental para la detección de la infección en este modelo experimental, especialmente en el grupo inmunodeprimido, a diferencia de las pruebas serológicas, que dependen de la producción de anticuerpos. La PCR permite la detección directa del ADN bacteriano, independientemente del estado inmunológico del hospedador. Esto es particularmente relevante en condiciones de inmunodepresión, donde las pruebas

serológicas pueden arrojar resultados falsamente negativos debido a una respuesta humoral deficiente (Levett et al., 2005).

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que *L. interrogans* serovariedad Canicola presenta una amplia distribución tisular en el modelo de hámster, con persistencia del patógeno en fases tardías postinfección en condiciones de inmunodepresión. Estos hallazgos refuerzan la utilidad del modelo experimental empleado para el estudio de la patogénesis de la leptospirosis y subrayan la importancia de considerar el estado inmunológico del hospedador en la interpretación de los resultados moleculares y en el análisis de la dinámica de la infección.

7. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que fue posible identificar la presencia de *L. interrogans* serovariedad Canicola en diversos tejidos de hámster (*Mesocricetus auratus*) mediante la técnica de PCR. La calidad y concentración del ADN extraído fueron adecuadas para su análisis, lo que permitió una detección confiable del patógeno en los órganos evaluados.

La amplificación específica observada en las muestras infectadas, junto con la ausencia de bandas en los controles negativos, confirma la especificidad y validez del método empleado. Esto demuestra que la PCR es una herramienta útil y sensible para la detección directa de *Leptospira* en tejidos.

Los resultados de la presente investigación también evidenciaron que el patógeno no solo infecta al riñón, sino que puede invadir otros órganos como hígado, pulmón, bazo, corazón, cerebro y ojos, lo que reafirma el carácter sistémico de la leptospirosis.

En el grupo inmunodeprimido se observó la presencia persistente del ADN bacteriano en distintos tejidos, lo que sugiere que el estado inmunológico del hospedador influye en la capacidad del organismo para controlar la infección. Esto resalta la importancia del sistema inmune en la limitación de la diseminación del patógeno.

En conjunto, este trabajo aporta información relevante sobre la distribución tisular de *L. interrogans* serovariedad Canicola y refuerza la utilidad del modelo experimental empleado para el estudio de la patogénesis de la leptospirosis.

8. RECOMENDACIONES

A partir de los hallazgos obtenidos, se recomienda realizar una validación exhaustiva del protocolo de PCR estandarizado, considerando parámetros como sensibilidad analítica, especificidad, límite de detección y reproducibilidad, con el fin de consolidarlo como una herramienta confiable para la detección de *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola en tejidos.

Se sugiere profundizar en la posible presencia de inhibidores de la PCR en muestras de tejido, particularmente en condiciones de inmunodepresión, evaluando estrategias de purificación adicionales o el uso de controles internos que permitan monitorear la eficiencia de la amplificación.

Asimismo, se recomienda ampliar el enfoque experimental hacia el análisis de la carga bacteriana mediante técnicas cuantitativas, lo cual permitiría establecer correlaciones más precisas entre la presencia del patógeno, el grado de inmunodepresión y la afectación tisular en el modelo de hámster (*Mesocricetus auratus*).

De igual manera, sería pertinente integrar enfoques multidisciplinarios que incluyan análisis histopatológicos y estudios de respuesta inmune, con el objetivo de comprender de manera más integral los mecanismos de patogenicidad de *Leptospira interrogans* en condiciones de inmunodepresión.

Se recomienda también la confirmación de los productos amplificados mediante técnicas de secuenciación, lo que permitiría descartar amplificaciones inespecíficas y fortalecer la validez molecular de los resultados obtenidos.

Finalmente, se propone que futuras investigaciones consideren la estandarización de modelos experimentales comparativos, así como la evaluación de diferentes serovariedades, con el fin de generar conocimiento más amplio y aplicable en el diagnóstico y estudio de la leptospirosis.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

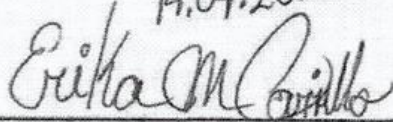
- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. y Pillai, S. (2023). Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System (10.^a Ed.). Elsevier Health Sciences, 196– 217.
- Adler, B. y de la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 287–296.
- Arrieta-Bechara, C. E. y Carrascal-Maldonado, A. Y. (2022). Ocular leptospirosis: a review of current state of art of a neglected disease. *Romanian Journal of Ophthalmology*, 66(4), 282.
- Costa, F., Hagan, J. E., Calcagno, J., Kane, M., Torgerson, P., Martinez-Silveira, M. S., Stein, C., Abela-Ridder, B., y Ko, A. I. (2015). Global morbidity and mortality of leptospirosis: A systematic review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(9), e0003898.
- Coutinho, M. L., Matsunaga, J., Wang, L., de la Peña-Moctezuma, A., Lewis, M. S., Babbitt, J. T. y Haake, D. A. (2014). Kinetics of *Leptospira interrogans* infection in hamsters after intradermal and subcutaneous challenge. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(11).
- Daroz, B. B., Fernandes, L. G., Cavenague, M. F., Kochi, L. T., Passalia, F. J., Takahashi, M. B., y Nascimento, A. L. (2021). A review on host-*Leptospira* interactions: what we know and future expectations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 777709.
- Delves, P. J., Martin, S. J., Burton, D. R. y Roitt, I. M. (2021). *Roitt's Essential Immunology* (14th ed.). London: Wiley-Blackwell.
- Gomes-Solecki, M., Santecchia, I. y Werts, C. (2017). Animal models of leptospirosis: of mice and hamsters. *Frontiers in Immunology*, 8, 58.
- Haake, D. A. (2006). Hamster model of leptospirosis. *Current protocols in Microbiology*, Capítulo 12, Unidad-12E-2.
- Haake, D. A. y Levett, P. N. (2015). Leptospirosis in humans. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 65–97.
- Ko, A. I., Goarant, C. y Picardeau, M. (2009). *Leptospira*: The dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nature reviews Microbiology*, 7(10), 736–747.
- Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 296–326.

- Levett, P. N., Morey, R. E., Galloway, R. L., Turner, D. E., Steigerwalt, A. G. y Mayer, L. W. (2005). Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *Journal of Medical Microbiology*, 54(1), 45-49.
- Rajapakse, S., Rodrigo, C., Balaji K., Samudhya Deepika F. (2015). Atypical manifestations of leptospirosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 109(5), 294–302.
- Waggoner, J. J., y Pinsky, B. A. (2016). Molecular diagnostics for human leptospirosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 29(5), 440-445.
- Yescas-Benítez, J. E., Rivero-Perez, N., Montiel-Díaz, H. E., Valladares-Carranza, B., Peláez-Acero, A., Morales-Ubaldo, A. L., y Zaragoza-Bastida, A. (2020). Comportamiento epidemiológico de la leptospirosis en México durante el periodo 2013-2019. *Revista de Salud Pública*, 22, 421-427.

10. VISTO BUENO DE LAS ASESORAS



Dra. María Teresa Núñez Cardona
Número Económico: 14473
Depto. Del Hombre y su Ambiente
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

14.04.2026 .


M en C. Erika Margarita Carrillo Casas
Cédula Profesional: 4556989
Investigadora en Ciencias Médicas
Depto. Biología Molecular e Histocompatibilidad
Subdirección de Enseñanza e Investigación
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"