



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

**"SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS BOVINA EN
CUATRO MUNICIPIOS UBICADOS EN EL SUR DE ESTADO DE VERACRUZ"**

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIA ANIMAL

PRESENTA

MVZ. SAID AMHIN RODRÍGUEZ BATISTA

DIRECTORES

DRA. DORA ROMERO SALAS

DR. DAVID I. MARTÍNEZ HERRERA

H. VERACRUZ, VER

FEBRERO 2010

**SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS BOVINA EN CUATRO MUNICIPIOS
UBICADOS EN EL SUR DEL ESTADO DE VERACRUZ**

Por:

MVZ Said Amhín Rodríguez Batista

Colegio de Profesores de Posgrado

De la

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

De la

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Como requerimiento parcial para

Obtener el grado de

MAESTRO

En

CIENCIA ANIMAL

Febrero de 2010

CONTENIDO

DEDICATORIA	i
RECONOCIMIENTO	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
FUENTE DE FINANCIAMIENTO	iv
INDICE	v
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix

DEDICATORIA

Dedico este trabajo antes que nada al socio, accionista mayoritario, amigo y compañero leal en mi vida, que es mi dios padre, y a mi santa madre que día a día me dió aliento para seguir en contra de cualquier obstáculo, la Virgen de Guadalupe, muchas gracias de todo corazón.

A mi padre, I.I. Gonzalo Rodríguez Díaz, por haberme dado la vida e inculcado valores necesarios para lograr los sueños, las metas trazadas, estar conmigo cuando mas te necesite y sobre todo por ser un gran amigo. Te amo.

A la gran inspiradora de todo lo que soy y de lo que he realizado en el trayecto de la vida, a la MVZ. MC. Edith Batista Fuentes, no me cansaré de decírtelo en toda mi vida, GRACIAS POR LO QUE ME HAS HECHO, MAMA ERES LO MAXIMO.

A mis hermanos Alan, Anhuar, Kitzia, gracias por todo el apoyo brindado. Los adoro y espero ustedes sigan estos pasos cada uno en su carrera y área personal.

A mis abuelitas Lola y Martha gracias por sus oraciones y por ser un apoyo moral a lo largo de este paso en mi vida profesional.

A Renée Mansur Pulido gracias por llegar a mi vida en el momento que mas te necesite, nunca pensé tener al gran amor tan cerca de mi (vecinos), gracias por tu apoyo incondicional y la dicha de haberte conocido y ser parte de mis días, TE AMO.

A mi Bono y mi Puca, gracias por su compañía.

II**RECONOCIMIENTOS**

A la Universidad Veracruzana por darme y hacerme lo que soy, llevo el sello **UV** plasmado en mi corazón.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por cobijarme durante mis estudios de licenciatura y posgrado.

AL CONACYT por la beca otorgada para llevar a cabo los estudios de maestría.

III**AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Dora Romero Salas, investigador de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Veracruzana, por ser como una segunda madre, por sus consejos, opiniones y sobre todo por enseñarme el mundo real que nos espera a cada profesionista que egresa de esta magna casa de estudios.

Al Dr. David I. Martínez Herrera, investigador de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana, por ser un amigo sincero, por ser un buen director no solo de la tesis si no del rumbo que debe llevar uno como profesionista.

A la Dra. Violeta Pardío Sedas, investigador de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana, gracias por sus conocimientos, sus críticas constructivas y sobre todo por sus consejos para la realización de este trabajo ya que sin usted no hubiera sido posible.

Al Dr. Apolo Adolfo Carrasco García investigador de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por su apoyo incondicional en la realización de este trabajo de investigación.

A la Dra. Lorena López De Buen investigador de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por su apoyo incondicional en la realización de este trabajo de investigación

Ana, Gerardo, Paris, Mariel, Tomás, Oscar y todos los que hacen posible la realización del trabajo llevado a cabo en el laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana.

Al honorable cuerpo de académicos que conforman la Maestría en Ciencia Animal.

A los ganaderos de la zona sur del estado de Veracruz por todas la facilidades brindadas.

A todos aquellos que contribuyeron con sus conocimientos y comentarios para la formación profesional dentro de la Maestría en Ciencia Animal.

IV

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El siguiente trabajo fue realizado dentro del proyecto de investigación **“Enfermedades causantes de abortos en bovinos (brucelosis, leptospirosis, diarrea viral, rinotraqueitis infecciosa y neosporosis) del Estado de Veracruz, prevalencia y factores de riesgo asociados”**, apoyado por Fondos Mixtos CONACYT y Gobierno del Estado de Veracruz con clave 37066 y bajo la responsabilidad técnica de la Dra. Dora Romero Salas.

Durante la realización de esta tesis fue otorgada una beca por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), con número de registro **227306**. La beca comprendió el periodo de febrero/2009 a julio/2009, y correspondió a la convocatoria nacional de internet enero-febrero 2009 (**PNPC**).

INDICE

Resumen	1
Abstract	3
Introducción	3
1. ANTECEDENTES	6
1.1 Generalidades	6
1.2 Vías de infección	7
1.3 Factores de riesgo	8
1.4 Patogenia	9
1.5 Virulencia	11
1.5.1 Inmunidad	20
2.0 Situación Mundial	30
2.1 Situación en México	31
2.2 Situación en Veracruz	34
3.0 Diagnóstico	38
3.1 Epidemiología	39
4.0 JUSTIFICACIÓN	40
5.0 HIPÓTESIS	40
6.0 OBJETIVO GENERAL	40
6.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
7.0 MATERIAL Y MÉTODOS	41
7.1 Diseño del estudio seroepidemiológico	41
7.2 Tamaño de muestra por municipio seleccionado	42
7.3 Sitio de estudio	46
7.4 Aplicación de encuestas	46
7.5 Toma de muestras	47
7.5.1 Diagnóstico de laboratorio	48
7.5.2 Diseño estadístico	48
7.5.3 Análisis de los datos	50
8.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
8.1 Seroprevalencias	61
8.2 Factores de riesgo	66
9 CONCLUSIONES	67
10 RECOMENDACIONES	68
11 LITERATURA CONSULTADA	81
ANEXO	81

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1.	Seroprevalencia de leptospirosis en Unidades de Producción del estado de Tabasco	22
CUADRO 2.	Seroprevalencia de leptospirosis en Unidades de Producción del estado de Tabasco	22
CUADRO 3.	Seroprevalencia de leptospirosis en Unidades de Producción del estado de Tabasco	23
CUADRO 4.	Seroprevalencia de leptospirosis en Unidades de Producción del estado de Campeche	23
CUADRO 5.	Seroprevalencia de leptospirosis en Unidades Producción del estado de Campeche	24
CUADRO 6.	Seroprevalencia de leptospirosis en Unidades de Producción del estado de Chiapas	24
CUADRO 7.	Seroprevalencia de leptospirosis en Unidades de Producción del estado de Chiapas	24
CUADRO 8.	Seroprevalencia de serovares en Unidades de Producción del estado de Tabasco	25
CUADRO 9.	Seroprevalencia de serovares en Unidades de Producción del estado de Campeche	25
CUADRO 10.	Seroprevalencia de serovares en Unidades de Producción del estado de Chiapas	25
CUADRO 11.	Orden de frecuencias y tasa de seropositividad de leptospira recibidos en el laboratorio de la Universidad Autónoma Metropolitana de Xochimilco durante 1995-2000	28
CUADRO 12.	Distribución de tamaños de muestra de los bovinos en los municipios seleccionados de la zona sur del estado de Veracruz	41

CUADRO 13.	Distribución del tamaño de muestra de unidades de producción bovina en los municipios seleccionados en la zona sur del estado de Veracruz	42
CUADRO 14.	Seroprevalencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	50
CUADRO 15.	Seroprevalencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> en las Unidades de Produccion de la zona sur del estado de Veracruz	52
CUADRO 16.	Seroprevalencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> por serotipo en la zona sur del estado de Veracruz	54
CUADRO 17.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. tarassovi</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	54
CUADRO 18.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. wolffy</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	55
CUADRO 19.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. hardjo</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	56
CUADRO 20.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. hardjo</i> de aislamiento en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	56
CUADRO 21.	Seroprevalenciaa contra el serovar <i>L. icterohaemorrhagiae</i> Palo Alto de aislamiento en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	57
CUADRO 22.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. pyrogenes</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	57
CUADRO 23.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. lai-lai</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	58
CUADRO 24.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. canicola</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	58
CUADRO 25.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. pomona</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	59
CUADRO 26.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. bratislava</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	59
CUADRO 27.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. autatumnalis</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	60

CUADRO 28. Seroprevalencia contra el serovar *L. ballum* en los 60 municipios de la zona sur del estado de Veracruz

CUADRO 29. Seroprevalencia contra el serovar *L. grippothyphosa* en los 61 municipios de la zona sur del estado de Veracruz

CUADRO 30.	Seroprevalencia contra el serovar <i>L. muenchen</i> en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz	61
CUADRO 31	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> de acuerdo a la edad en el ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz	62
CUADRO 32	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> de acuerdo a la raza en el ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz	63
CUADRO 33	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> de acuerdo a la procedencia del ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz	63
CUADRO 34	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> de acuerdo a la etapa productiva en el ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz	64
CUADRO 35	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> de acuerdo al tipo de ganadería en el ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz	64
CUADRO 36	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> de acuerdo al manejo de la placenta en el ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz	65
CUADRO 37	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra <i>Leptospira</i> de acuerdo al manejo del ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz	65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Mapa del municipio de Acayucan	42
FIGURA 2.	Mapa del municipio de Cosoleacaque	43
FIGURA 3.	Mapa del municipio de Sayula de Alemán	44
FIGURA 4.	Mapa del municipio de Las Choapas	45

VIII

RESUMEN

Rodriguez Batista, Said Amhin. M en C Universidad Veracruzana. Septiembre de 2009. **Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la presencia de la leptospirosis en cuatro municipios de la zona sur del estado de Veracruz.** Tesis de Maestría en Ciencia Animal. Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Directores: Dora Romero Salas, David I. Martínez Herrera.

El objetivo de este estudio epidemiológico fue conocer prevalencias y factores de riesgo asociados a la presencia de leptospirosis en los municipios de Acayucan, Las Choapas, Cosoleacaque y Sayula de Alemán. El trabajo se desarrolló en unidades de producción bovina con ganado productor de carne, leche y doble propósito, y en edad reproductiva entre 18 y 84 meses. El estudio fue de tipo transversal y polietápico estratificado. Para el cálculo del tamaño de muestra, se consideró una prevalencia del 10% y una población de 375,462 bovinos, por medio del programa Win Episcopo 2.0 con un nivel de confianza del 95% y un error del 0.1, por lo que se obtuvo una muestra de 318 bovinos. La fracción de muestreo dentro de cada explotación fue de acuerdo con el inventario de ganado existente en donde, se aplicó una encuesta general y otra individual. Se tomaron muestras sanguíneas, se obtuvo suero para la realización de la prueba de Microaglutinación (MAT) para la identificación de anticuerpos contra *Leptospira* spp. El análisis de las variables fue descriptivo, conformado por prevalencias, factor de riesgo mediante la razón de momios (RM u OR). De los 318 sueros, resultaron 134/318 positivos con una prevalencia de 42.13% (OR=0.994; IC95%:0.631-1.568), observándose prevalencias para Acayucan 100%, Las Choapas 20.94% (OR=0.367; IC95%:0.197-0.685), Sayula de Alemán 90.47% (OR =12.430; IC95%:5.786-26.700), Cosoleacaque 38.29% (OR=0.846; IC95%:0.480-1.491). En cuanto a las variables se observó que ser un individuo de 73-84 meses 67.27% (OR=2.804; IC95%: 1.577-4.986), individuo de las razas Simbrah 88.23% (OR =10.130; IC95%: 4.919-20.850), Beefmaster 88.23% (OR=10.130; IC95%: 4.919-20.850), Simmental 89.47% (OR=11.170; IC95%: 5.322-23.460), comprado 31.34% (OR=3.074; IC95%:1.720-5.494), becerra 66.66% (OR=2.804; IC95%:1.577-4.986), vaca de mas de 5 partos 85.36% (OR=7.825; IC95%: 3.974-15.410), ganado lechero 74.35% (OR=3.930; IC95%:2.162-7.146), se junta con ganado vecino 56.52% (OR=1.831; IC95%:1.045-3.207), son factores de riesgo, y las variables individuo de 49-60 meses 22.52% (OR=0.412; IC95%:0.224-0.761), raza criolla 25.33% (OR=0.460; IC95%:0.252-0.841), vaca de 3-5 partos 19.23% (OR=0.324; IC95%:0.171-0.613), doble propósito 27.38% (OR=0.511; IC95%:0.282-0.925), entierra la placenta 21.42% (OR=0.367; IC95%: 0.197-0.685) son factores de protección. Los serovares mas frecuentes fueron *L. icterohaemorrhagiae* 20.75%, *L. hardjo* aislamiento 18.23%, *L. hardjo* 16.35%, *L. tarassovi* 14.46%, *L. wolffy* 11%. Se concluye que la leptospirosis es una enfermedad presente en unidades de producción en municipios de la zona sur del estado de Veracruz y que los factores de riesgo son: edad avanzada, origen del animal, número de partos, ser encaste europeo, ganado lechero y juntar el ganado con vecinos, y los factores de protección son: ser bovino de raza criolla, enterrar la placenta, vaca de 3 a 5 partos, individuo de 49-60 meses, doble propósito.

ABSTRACT

Rodriguez Batista, Said Amhin. MCA Universidad Veracruzana. November, 2009.
Seroprevalencia and factors of risk associated with the presence of the leptospirosis in four municipalities of the south zone of the condition (state) of Veracruz Dra. Dora Romero Salas y Dr. David I. Martinez Herrera.

For what the aim of this epidemiological study was to know prevalencias, associate factors of risk, in municipalities of the Acayucan, the Choapas, Cosoleacaque and Sayula of Alemán The work developed in units of bovine production with producing cattle of meat, milk and double intention, in reproductive age between 18 and 84 months, The study of transverse type, polietápico stratified. For the calculation of the size of sample, she was considered to be a prevalencia of 10 % and a population of 375,462 bovine ones, by means of Win's statistical program episcopo 2.0 with a confidence level of 95 % and a mistake of 0.1, for what for this case it he was of bovine 318. The sampling fraction inside every exploitation development was in agreement with the inventory of existing cattle, I apply to him them a general survey and individual other one. They took you show that they were transported to the laboratory of parasitología of the Unit of Diagnosis of the Relay Zootecnica tower of Mill of the FMVZ-UV, where wthey was obtained for the accomplishment of the test proof of Microagglutination (MAT), for the identification of antibodies against *Leptospira* spp. The analysis of the variables was descriptive, shaped for prevalencias, factor of risk by means of the reason of bargains (RM or OR). 318 wheys were analyzed, turning out to be a 134/318 positives it is demonstrated by a prevalencia of 42.13 % (OR=0.994; IC_{95%}:0.631-1.568), the prevalencias being observed in Acayucan by 100 %, The Choapas by 20.94 % (OR=0.367; IC_{95%}:0.197-0.685), Sayula of the Alemán 90.47 % (OR=12.430; IC_{95%}: 5.786-26.700) Cosoleacaque with 38.29 % (OR=0.846; IC_{95%}: 0.480-1.491) obtained that all the UP have though he is a positive individual, as for the variables there was obtained that to be an individual of 73-84 months 67.27 % (OR=2.804; IC_{95%}: 1.577-4.986) individual of the races Simbrah 88.23 % (OR=10.130; IC_{95%}: 4.919-20.850) Beefmaster 88.23 % (OR=10.130; IC_{95%}: 4.919-20.850) Simmental 89.47 % (OR= 11.170; IC_{95%}: 5.322-23.460) bought 31.34 % (OR=3.074; IC_{95%}: 1.720-5.494) snapdragon 66.66 % (OR=2.804; IC_{95%}:1.577-4.986) Becomes vacant of mas of 5 childbirths% (OR=7.825 IC_{95%}: 3.974-15.410) dairy cattle 74.35 % (OR=3.930; IC_{95%}: 2.162-7.146) joins with neighboring (similar) cattle 56.52 % (OR=1.831; IC_{95%}: 1.045-3.207) they are factors of risk, and the variables individual of 49-60 months 22.52 % (OR=0.412; IC_{95%}: 0.224-0.761) creole race 25.33 % (OR=0.460; IC_{95%}: 0.252-0.841) cow of 3-5 childbirths 19.23 % (OR=0.324; IC_{95%}:0.171-0.613) double intention 27.38 % (OR=0.511; IC_{95%}:0.282-0.925) buries the placenta 21.42 % (OR=0.367; IC_{95%}: 0.197-0.685) they are protection factors, serotipos mas frequent they were *L. icterohaemorrhagiae* 20.75 %, *L. hardjo isolation* 18.23 %, *L. hardjo* 16.35 %, *L. tarassovi* 14.46 %, *L. wolffy* 11 %. Concluding that the leptospirosis is a disease that is present in the units of production of the municipalities of the south zone of the condition (state) of Veracruz and that the associated factors of risk are: advanced age, rates, origin of the animal, I number of childbirths, function zootecnica and to join the Ganado with neighbors, And the protection factors are: to be bovine of Creole race, to bury the placenta, to be a cow from 3 to 5 childbirth.

INTRODUCCIÓN

Las leptospiras son microorganismos saprofitos acuáticos, que permanecen en las aguas de ríos, lagos, drenajes (aguas negras) y en el mar (Menges y Galton., 1961). La leptospirosis fue descrita la primera vez por A. Weil en 1886 (Menges y Galton., 1961). El género *Leptospira*, está constituido por dos especies *L. interrogans* y *L. biflexa*, donde la primera es patógena y la segunda, saprófita. *Leptospira interrogans* incluye alrededor de 23 serogrupos y 218 serovares y *L. biflexa*, 28 serogrupos y 60 serovares. La clasificación en serovares se basa en técnicas de microaglutinación. Asimismo, los serovares de referencia, se encuentran agrupados en más de 23 serogrupos de acuerdo con la estructura antigénica predominante que comparten (Carter y Wise, 2004).

Estudios de ADN realizados por Odriozola (2001), aún en desarrollo, han establecido algunos cambios taxonómicos con respecto a esta clasificación, de modo que el género *Leptospira* comprende tres especies no patógenas: *L. biflexa*, *L. meyerii*, *L. wolbachii*, y las siguientes siete especies patógenas: *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* y *L. weilii*; distribuidas en 24 serogrupos y 237 serovares. Plank y Dean incluyen *L. alexanderi* y *L. fainei*. Levett incorpora *L. parva* como no patógena y otras cuatro geno-especies. Clásicamente, se ha descrito asociación entre especie de leptospira y manifestaciones clínicas, lo que con frecuencia no se correlaciona en la práctica (Odriozola, 2001).

La leptospirosis tiene una distribución universal, afecta a alrededor de 160 especies de mamíferos domésticos y silvestres y predomina en climas cálidos. Los mamíferos infectados constituyen el reservorio, pues excretan el microorganismo por largo tiempo a través de la orina lo que contamina el ambiente. La sobrevivencia de las leptospiras se ve favorecida por un ambiente cálido, húmedo y un pH neutro o ligeramente alcalino. Por lo general, los serovares de *L. interrogans* se asocian con infecciones en determinadas especies animales (Acha y Szyfres, 2003; Carter y Wise, 2004; Odriozola., 2001) por ejemplo *L. interrogans* serovar *hardjo* se encuentra más asociada a bovinos, *L. interrogans* serovar *canicola* a perros, *L. interrogans* serovar *bratislava* a cerdos; en cambio otras, se encuentran en una mayor cantidad de

hospederos como *L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* que infecta con más frecuencia a roedores, zarihueyas y mapaches y, *L. interrogans* serovar *pomona* a porcinos, bovinos, mapaches, felinos silvestres, zarihueyas y equinos. Del mismo modo, los roedores y los perros son considerados los principales portadores de las leptospiras patógenas (Acha y Szyfres 2003; Carter y Wise; 2004) Para los bovinos de México, los serovares más comunes son *L. interrogans* serovar *hardjo*, *L. interrogans* serovar *pomona* y *L. interrogans* serovar *tarassovi* (Odriozola., 2001).

En los bovinos por lo general, se manifiesta como infección endémica y esporádica. Más de la mitad de los países del mundo han informado haber aislado uno o mas de los 200 serovares de *L. interrogans*. Los roedores que viven en las habitaciones humanas o en sus alrededores y los animales domésticos son los reservorios y la fuente más importante de infección por medio de la orina; asimismo, se considera en el hombre como una enfermedad ocupacional (Aidorevich y Soyano., 1990). Así en las zonas urbanas, es frecuente por la presencia de un elevado número de ratas, por que a estos roedores se les considera como portadores permanentes de *Leptospira interrogans* (Montes *et al.*, 2002).

1. ANTECEDENTES

1.1 Generalidades

Las leptospiras son bacterias delgadas, helicoidales, móviles que miden de 10 a 20 micras de longitud. Debido a que son tan delgadas (0.1-0.2 micras), se requiere de microscopio de campo oscuro o de contraste de fases para poder observarlas, y la estructura detallada de la célula se asemeja a la de las bacterias Gram negativas (Picardeau *et al.*, 2000). Poseen una membrana externa, peptidoglucano y membrana citoplasmica o interna; el peptidoglucano es el responsable de su forma helicoidal. Las leptospiras tienen ganchos en uno o ambos polos y tienen un movimiento de rotación y contorsión constantes en medios líquidos; poseen dos flagelos que se originan en cada polo y se localizan en el espacio periplásmico entre la membrana externa y el peptidoglucano (Cullen *et al.*, 2002). Los flagelos tienen una estructura general semejante a la de otras bacterias Gram negativas. Se ha llegado a pensar que los flagelos juegan un papel importante en la morfología helicoidal de la *Leptospira* spp; sin embargo, recientemente se ha podido mutar el gen *flaB* en *L.biflexa* (Picardeau *et al.*, 2000) y de esa manera se demostró sin lugar a duda el papel esencial del flagelo en la motilidad pero no en morfología. La membrana externa de *Leptospira* spp contiene proteínas, lípidos, lipoproteínas y lipopolisacáridos (LPS). Las más abundantes lipoproteínas de la membrana externa están expuestas a la superficie y pueden estar involucradas en patogénesis e inmunidad (Cullen *et al.*, 2002) y en el inicio de la leptospirosis.

La leptospirosis se considera una enfermedad reemergente (Ochoa *et al.*, 2000) de distribución mundial con comportamiento endémico y con brotes en varios continentes. Afecta a los animales domésticos y salvajes que eliminan el microorganismo por la orina (Ochoa *et al.*, 2000). El hombre es un hospedero accidental y puede presentar desde una enfermedad leve y autolimitada hasta una enfermedad mortal con una insuficiencia multiorgánica (Ochoa *et al.*, 2000). La enfermedad compromete también la salud de los animales; así, los bovinos y los porcinos presentan a veces una enfermedad clínica manifiesta (en hospederos no adaptados) y en otras ocasiones (en hospederos adaptados), problemas

reproductivos, como la infertilidad que conduce a importantes pérdidas económicas (Ochoa *et al.*, 2000).

La leptospirosis es importante por su distribución mundial, debido al compromiso de la salud humana, animal y por sus repercusiones económicas. Las posibilidades de intervención han sido estudiadas y se dispone de tratamiento para seres humanos y animales con antibióticos, profilaxis, vacunas y de medidas específicas de saneamiento básico (Ochoa *et al.*, 2000). Por otro lado, la frecuencia es alta en países donde se cultiva arroz y la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha cifrado su prevalencia en humanos entre cuatro y 100 casos por cada 100,000 habitantes de esos países y ha descrito un brote en China con una incidencia de 1,300 casos por 100,000 habitantes (OMS., 2003).

Numerosos animales silvestres son portadores y vectores de leptospiras; sin embargo, los roedores son los principales reservorios para estos agentes infecciosos que han evolucionado o coevolucionado con el hospedero, adaptándose incluso a algunas especies de la fauna silvestre que no sufren la enfermedad ni mueren por la infección, por lo que pasan a ser reales e importantes hospederos y reservorios de este patógeno virulento, prácticamente de por vida (Faine, 1994). En consecuencia, se transforman en fuente de infección para la especie humana y también para animales domésticos, por lo que en ocasiones son la causa de la aparición de enfermedades emergentes o bien de reemergentes, de ahí que sea importante el conocimiento geográfico de los nichos ecológicos de los reservorios (Thomson, 1961; Faine, 1994).

Los serovares de las especies patógenas son causantes de la leptospirosis, zoonosis de amplia distribución mundial, que ha sido descrita en casi en todo el mundo, enfermedad que puede llegar a ser fatal en su forma aguda en el hombre y animales domésticos (Odriozola, 2001). Las leptospiras pueden pasar de un animal portador a otro, se pueden presentar casos esporádicos en el hombre y en animales domésticos, en dependencia de la vecindad inmediata del portador que elimina leptospiras vivas virulentas por la orina (Faine., 1994). Para los brotes de leptospirosis se requiere que la espiroqueta sobreviva y se mantenga virulenta fuera del hospedero y que la población susceptible llegue a tomar contacto con vehículos inanimados contaminados (Zamora *et al.*, 1994). En consecuencia, revisten gran importancia las condiciones

ecológicas, puesto que la sobrevivencia de las leptospiras en el medio ambiente es favorecida por la humedad, el pH del suelo cercano a la neutralidad y una temperatura inferior a 25° C (Zamora *et al.*, 1994). En aguas estancadas y en áreas húmedas con un pH óptimo resisten por una o unas pocas semanas y en aguas servidas por 10 días (Faine., 1994; Zamora *et al.*, 1994). La luz solar directa, la desecación, la hipersalinidad (agua de mar 18 - 24 h), los desinfectantes corrientes, los detergentes, el jabón y el pH inferior a 5 o superior a 8, afectan al microorganismo; por cierto, también influye la concurrencia microbiana, sobre todo de los microorganismos proteolíticos (Faine., 1994).

Estudios en animales de vida libre en muchas partes del mundo han revelado que las leptospiras están ampliamente distribuidas en una gran cantidad de animales, en particular en roedores, insectívoros y carnívoros, los que pueden actuar como portadores (Mailloux., 1973; Mesina y Campbell, 1975; Francia., 1984; Faine.,1994). Además, debe considerarse a otras especies que albergan la espiroqueta, entre las cuales se pueden citar a osos, bisontes de vida libre, coipos, pequeños marsupiales, artiodáctilos, quirópteros, incluso aves, batracios, lobos marinos y reptiles, pero no se puede olvidar que algunas especies domésticas también son reservorios (Sebek y Vlcek, 1990; Gravekamp *et al.*, 1991; Kahn *et al.*, 1991; Kita y Anusz, 1991; Kuiken *et al.*, 1991; Zieris, 1991; Modric y Huber, 1993; Howearth *et al.*, 1994; Lewis y Twigg, 1972; Faine, 1994). Con todo, la incidencia y prevalencia de los serovares difiere en forma considerablemente de acuerdo con los países y en un mismo país, de región a región. Una variedad de hospederos se infecta con el mismo serovar y una misma especie animal puede sucumbir con uno o más serovares, aunque por lo general un serovar es portado principalmente por una determinada especie animal (Faine., 1994).

Existe información discrepante con relación a la liebre en cuanto a la susceptibilidad de los lagomorfos. Así, en un trabajo realizado en Alemania con 377 liebres, se diagnosticó la infección en 102, lo que corresponde a un 27.1%; en cambio, en Yugoslavia consideran que esta especie animal no tendría mayor importancia en la mantención de la espiroqueta, ya que encuentran sólo a 15 casos positivos de un total de 201 ejemplares examinados (7.5%), lo que de todos modos no es una tasa baja. Ahora bien, esta diferencia podría estar relacionada a factores ecológicos como también a la ausencia o presencia de la enfermedad en animales domésticos (Dedek *et al.*, 1990; Trifunovic *et al.*, 1991).

1.2 Vías de infección

La transmisión directa entre los animales se da a través de la orina contaminada, fluidos uterinos post aborto, placenta infectada, contacto sexual o infección *in utero* (Howeerth *et al.*, 1994). Es probable que las formas anteriores de contagio sean de gran importancia en las infecciones por serovariedades *L. hardjo*, ya que con frecuencia los brotes se presentan en forma independiente en la época de lluvias y no están determinados por los sistemas de manejo de las unidades de producción (Kita y Anusz, 1991).

La transmisión indirecta juega un papel muy importante en las infecciones esporádicas que ocurren cuando hay una exposición en un ambiente contaminado con material infectado y se ven favorecidas por factores que permiten la sobrevivencia de la leptospira fuera del hospedero, así como por un sistema de manejo que facilita el contacto entre el portador y los animales susceptibles (Gravekamp *et al.*, 1991). Las condiciones favorables para que la bacteria sobreviva fuera del hospedero son humedad, temperatura cálida y pH ligeramente alcalino, si estas condiciones se dan, las infecciones se hacen más frecuentes (Modric y Huber, 1993). Las zonas encharcadas donde los animales se congregan han sido asociadas a brotes de leptospirosis; sin embargo, en la epidemiología de la enfermedad los ecosistemas que favorecen la supervivencia de las leptospiras son poco importantes, ya que las bacterias se mantienen en los hospederos (Modric y Huber, 1993).

1.3 Factores de riesgo

En un hato libre de leptospira existen factores de riesgo importantes que facilitan la infección, como son a) una política de hato abierto que conlleva el riesgo de comprar animales portadores asintomáticos; b) la convivencia de los bovinos con otras especies domésticas, como por ejemplo los ovinos favorecen la presentación de brotes de leptospirosis causados por la serovariedad *L. hardjo*; c) la introducción poco controlada de animales de la misma especie, como en el caso de la maquila por sementales y; d) el acceso del ganado a los ríos y arroyos que pueden estar contaminados con orina de animales portadores (Zieris, 1991).

Los principales problemas que se derivan al mantener la infección en un hato es la presencia de animales enfermos y aunque no está claro, existe la posibilidad de que sí lleguen a sanar, permanezcan como portadores asintomáticos el resto de su vida y

también la presencia de animales susceptibles que esto es frecuente si en el manejo existe la práctica de retirar a las becerras después del nacimiento para criarlas en áreas apartadas y reintegrarlas al hato al estar gestantes. (Carroll y Campbell, 1987) Como resultado se pueden obtener animales no inmunes a las enfermedades comunes del hato, entre las que puede estar incluida la leptospirosis (Guerreiro *et al.*, 2001).

1.4 Patogenia

La descripción clásica de la leptospirosis en humanos corresponde a la llamada enfermedad de Weil, una enfermedad aguda, febril caracterizada por ictericia (coloración amarillenta de piel y mucosas), hemorragias, lesión pulmonar, esplenomegalia, nefritis y muerte (Faine., 1998). La enfermedad puede ser menos severa con signos semejantes a los de la influenza. En los animales, los signos son también muy variables, que van desde insignificantes hasta mortales y representan un riesgo de salud pública (Faine *et al.*, 1999; Guerreiro *et al.*, 2001). Las serovariedades *L. hardjo*, *L. grippothyphosa* y *L. pomona* son los mas comunes involucradas en abortos, infertilidad, ictericia, fiebre, agalactia, hemoglobinuria y nacimiento de becerros prematuros en ganado bovino y menos frecuente en ovejas, cabras y otros ungulados (Carroll y Campbell, 1987; Faine, 1998; Feresu, 1987; Prescott *et al.*, 1987). Muchas especies de animales silvestres actúan como reservorios para *Leptospira*, aunque en formas clínicas de leptospirosis son raras en ellos (Dierauf *et al.*, 1985). La foma clínica mas común en animales silvestres es el aborto (Guerreiro *et al.*, 2001). Brotes de leptospirosis han sido reportados en leones marinos (Dierauf *et al.*, 1985; Godinez *et al.*, 1999) y en casos aislados en rinocerontes en cautiverio también han sido identificados (Jessup *et al.*, 1992).

Tanto animales domésticos como silvestres, en particular roedores, bovinos, cerdos y perros pueden convertirse en portadores asintomáticos. Leptospiras patógenas se mantienen viables en los túbulos contorneados del riñón de animales portadores (Faine *et al.*, 1999). Ahí pueden persistir por periodos de semanas a años y en

algunas asociaciones de serovariedades con hospederos específicos (icterohaemorrhagiae-roedores) a menudo de por vida (Faine, 1998). De los riñones, las leptospiras son excretadas en la orina y pueden contaminar el suelo, agua o alimento. Los animales pueden excretar leptospiras en forma intermitente o regular (Godinez *et al.*, 1999); por ejemplo, los rangos de excreción en ganado bovino varían de animal a animal y de tiempo en tiempo, desde muy pocas hasta 10^8 ml de orina (Ellis *et al.*, 1986; Faine, 1998; Thiermann, 1982). Estos animales son una fuente importante de infección, no sólo para otras vacas sino para granjeros y trabajadores de ranchos y otras personas y animales (Waitkins, 1986).

1.5 Virulencia

Los mecanismos específicos por los cuales las leptospiras causan daño a los tejidos del hospedero y enferman en forma continua sigue sin entenderse con exactitud (Thiermann, 1982). Reportes de los llamados mecanismos de patogenicidad casi siempre fallan en identificar los componentes responsables en leptospiras (Ballad *et al.*, 1986); por ejemplo, las leptospiras virulentas se adhieren a las células epiteliales renales del ratón *in vitro* (Ballad *et al.*, 1986), mientras que la adherencia a cultivo de fibroblastos es aumentada por anticuerpos (Vinh *et al.*, 1984); sin embargo, en ningún caso fueron identificadas adhesinas de *Leptospira* (Vinh *et al.*, 1984). Las leptospiras virulentas resisten la acción bactericida del complemento y de los neutrófilos de hospederos no inmunes (Cinco y Banfi, 1983; Wang *et al.*, 1984); sin embargo, son destruidas rápidamente por cualquiera de estos mecanismos en presencia de anticuerpos específicos (Anderson y Johnson, 1968; Farrelly *et al.*, 1987; Vinh *et al.*, 1982). No existe evidencia inequívoca de toxinas secretadas por *Leptospira* (Wang *et al.*, 1984). Por el otro lado, el daño endotelial fue asociado con la presencia de leptospiras en los riñones de los cobayos inoculados en forma experimental (de Brito *et al.*, 1992). La habilidad de las leptospiras para invadir células e inducir apoptosis en macrófagos fue correlacionada con virulencia (Merien *et al.*, 1997). Ambas propiedades fueron perdidas después de un solo subcultivo *in vitro* (Barocchi *et al.*, 2002). *Leptospira* no es considerada un patógeno intracelular; sin

embargo, la bacteria debe penetrar las barreras epiteliales y endoteliales para su distribución por vía hemática y para su localización en órganos blanco como los riñones y el hígado (Merien *et al.*, 2000). *Leptospiras* virulentas fueron capaces de atravesar una monocapa de células MDCK polarizadas (Barocchi *et al.*, 2002) con mayor eficacia que cepas no virulentas (Barocchi *et al.*, 2002). Una proteína de 36 kDa fue identificada en una cepa virulenta de *L. icterohaemorrhagiae* pero no fue determinada en una variante avirulenta ni en una cepa saprófita (Merien *et al.*, 2000), pero la cepa variante no fue definida genéticamente.

La actividad hemolítica ha sido reportada en un número de serovariedades de *Leptospira*. Genes que codifican esfingomielinasas (un tipo de hemolisinas) han sido identificados en diferentes especies de *Leptospiras* (De Brito *et al.*, 1992). Esfingomielinasas SphA y SphB no estimularon inmunidad protectora en hámsters. El significado en patogenia e inmunidad de otras enzimas esfingomielinasas permanece indeterminado (Yanagihara *et al.*, 1983).

El LPS de *Leptospira* es el componente de superficie más abundante en las leptospiras y contribuye a la patogenia asociada con la enfermedad (Isogai *et al.*, 1990). La estructura del LPS es desconocida, pero análisis químicos del LPS mostraron la presencia de hexosas comunes, amino-hexosas y pentosas, así como, de algunos azúcares raros en LPS como xilosa y arabinosa (Vinh *et al.*, 1986; Vinh *et al.*, 1989). Azúcares metilados y O-acetilados también han sido reportados (Yanagihara *et al.*, 1983). La composición es sin embargo, similar a la del LPS de otras bacterias Gram negativas.

A pesar de las similitudes estructurales, bioquímicas e inmunológicas del LPS de las leptospiras, de las bacterias Gram negativas, puede activar macrófagos y actuar como un mitogeno de células B que son productoras de anticuerpos (Isogai *et al.*, 1990; Isogai *et al.*, 1990).

1.5.1 Inmunidad

La IgM opsoniza a las leptospiras de tal forma que los fagocitos los engolfen en los órganos del sistema mononuclear fagocitario (reticuloendoteliales) presentes en hígado, bazo pulmones y nodos linfáticos, lo que resulta en la rápida eliminación de

leptospiras del torrente sanguíneo (Vinh *et al.*, 1986). Las leptospiras son capaces de persistir en algunos sitios inmunológicamente privilegiados después de que anticuerpos y fagocitos las han eliminado de otros sitios (Faine., 1998).

Los anticuerpos contra *Leptospira* son producidos de manera temprana durante la infección y los títulos máximos son alcanzados en 2 a 3 semanas. Las leptospiras pueden ser inactivadas de forma directa por el complemento u opsoninas por inmunoglobulinas específicas contra epítomos del LPS que aparecen como formas degeneradas esféricas dentro de los macrófagos y granulocitos. Los epítomos específicos protectores de las leptospiras son complejos de oligosacaridos que incluyen azúcares fosforilados y amino azúcares de las cadenas laterales del LPS (Jost *et al.*, 1989; Mindwinter *et al.*, 1994). Anticuerpos monoclonales contra el LPS resultaron protectores contra leptospirosis en cuyos y hamsters (Jost *et al.*, 1986; Shoone *et al.*, 1989). En bovinos, la IgM en general es identificada dentro de los primeros 10 días de la infección, pero algunas veces es retardada. En algunos individuos, la IgG nunca aparece y en otros es la primera respuesta en identificarse (Jost *et al.*, 1986; Shoone *et al.*, 1989).

La respuesta inmune a las leptospiras es casi completamente mediada por células B tanto en la infección inicial como en la respuesta inmediata a la reinfección (Adler y Faine., 1977; Adler *et al.*, 1980). La resistencia a la reinfección depende en apariencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos, serovariedad o serogrupo específicos (Jost *et al.*, 1989). Al presentarse infecciones subsecuentes, estas suceden por lo general por una serovariedad distinta (Zuerner *et al.*, 1991). Se estima que las IgG específicas persisten después de un episodio simple hasta por 0.5 a 20 años o más (Bolin *et al.*, 1989) Los anticuerpos contra LPS son un importante componente de la respuesta inmune en algunos animales (Jost *et al.*, 1989). En contraste, los bovinos con títulos elevados de anticuerpos contra LPS que no fueron protegidos contra el desafío experimental. Esto concluyó que otros mecanismos de inmunidad o de anticuerpos contra otros componentes de las leptospiras son necesarios para desarrollar inmunidad en esta especie (Bolin *et al.*, 1989; Bolin *et al.*, 1989; Zuerner *et al.*, 1991). Una bacterina contra la serovariedad *hardjo* indujo fuertes respuestas proliferativas antígeno específicas por células periféricas mononucleares. El Gamma interferon IFN- γ fue producido por hasta un tercio de las

células mononucleares que por otro lado se demostró se trataba de los tipos γ st y CD4+ (Naiman *et al.*, 2001). Estos resultados indicaron que esta vacuna protectora indujo una respuesta inmune de tipo celular en contraste con la creencia de que la inmunidad protectora contra la leptospirosis es primariamente de tipo humoral (Naiman *et al.*, 2001).

Guerreiro *et al.* (2001) confirmaron que los anticuerpos contra LPS son predominantemente IgM, mientras que los anticuerpos contra las proteínas son del tipo IgG. Seis proteínas, p76, p62, p48, p45, p37 y p32 se identificaron como blancos de la respuesta humoral durante la infección natural por sueros de pacientes (Guerreiro *et al.*, 2001). En este estudio se determinó que la proteína mayor de membrana externa, la lipoproteína LipL32 (o Hap 1) (Branger *et al.*, 2001) es la proteína inmunodominante reconocida por la respuesta humoral durante la infección natural en humanos (Haake *et al.*, 2000). Estudios semejantes no han sido desarrollados en animales salvo hamsters (Haake *et al.*, 2000). Estudios de inmunohistoquímica demostraron una reactividad intensa contra LipL32 en riñones de hamsteres infectados con *L. gripothyphosa* que resulta consistente con una expresión *in vivo* (Haake *et al.*, 2000).

La lipoproteína LipL41 es también reconocida por anticuerpos producidos durante la infección de leptospiras. Se obtuvo una inmunoprotección sinérgica en hamsters desafiados con la serovariante *L. gripothyphosa* con la porina OmpL1 en combinación con LipL41 recombinante expresada por *E. coli* como proteínas asociadas a membrana que constituyen el primer reporte e protección que usan proteínas recombinantes de *Leptospira* (Haake *et al.*, 1999). Ni OmpL1 ni LipL41 fueron protectoras cuando se administraron en forma individual. Por otro lado, el rango de protección (71%) resultó muy bajo al compararse el 100% de protección que puede ser alcanzado en animales de experimentación inmunizados con LPS (Haake *et al.*, 1999); sin embargo, la inmunidad basada en LPS esta restringida a los serovares que en forma antigénica se relacionan. Las investigaciones futuras deberán enfocarse hacia la caracterización de antígenos protéicos adicionales como potenciales candiados para vacunación.

2. Situación Mundial

En Inglaterra durante 1973, se registraron 50 casos de los cuales sólo el 34% correspondían a la enfermedad de Weil y el 66% restante varió desde un cuadro de meningitis, hasta fiebre como única manifestación clínica. Así mismo se encontró que en Estados Unidos de América el 77% de los pacientes habían cursado con mialgias, cefaleas, náuseas y vómitos, de manera exclusiva (Brokie, 1977).

En un estudio de tipo epidemiológico realizado por Hodgin *et al.* (1984) en hatos lecheros del Reino Unido, se obtuvieron tasas de abortos que iban del 1 al 18% y ocurrió una reducción de leche del 1 al 50% por vaca por hato, con una pérdida de 10 al 30% en la producción esperada de leche anual en los animales infectados. En ese estudio se consideró que la producción esperada en un año sería de 5,000 litros, en donde el costo de un simple aborto fue de 366 libras esterlinas, al considerar el monto la pérdida de la lactación. Por otra parte, también se estimó la pérdida de leche por una infección en el momento de la lactación y esta fue de 50 libras (Hodgin *et al.*, 1984).

En Cuba (Obregón *et al.*, 2004) existen condiciones apropiadas para la propagación de esta enfermedad en cualquier época del año debido a sus características climáticas, relieve y a los numerosos ríos y embalses, así como a la diversidad de reservorios que pueblan las zonas rurales y urbanas del país. Estos factores hacen que aumente la presencia de esta enfermedad, durante los meses de lluvia. Asimismo, el comportamiento epidémico ha estado enmarcado en tres etapas bien diferenciadas: la primera (1980-1990), presentó una tendencia de crecimiento, donde se notificaron 40 brotes de leptospirosis en los cultivos de plátano y caña de azúcar así como, el baño en ríos y las inundaciones fueron factores asociados a la presencia de leptospira de la zona; la segunda (1991-1994), se caracterizó por un marcado aumento en el número de casos; mientras que durante la tercera (1995- 2002), se observó una franca reducción.

Es interesante señalar que en un grupo de 56 alpacas exportadas de Chile a Nueva Zelanda (Obregón *et al.*, 2004), se comprobó que el 38% presentaba anticuerpos contra el serovar *L. pomona*, por lo que los autores fueron de la opinión que en Chile debe ser amplia la difusión de la leptospirosis en las alpacas (Hill y Wyeth., 1991). En EUA, existe información sobre otras especies de la región, ya que al menos en un caso, se comprobó la presencia de leptospiras en el riñón de un guanaco, pero no se logró identificar el serovar (Hodgin *et al.*, 1984).

La leptospirosis es una zoonosis presente en Chile, cuya incidencia se conoce a partir del año 2000, cuando fue incorporada como enfermedad de notificación obligatoria a través de vigilancia de laboratorio. En el 2002, se le declaró como enfermedad de notificación obligatoria caso a caso (Perret *et al.*, 2004), registrándose ese año 22 casos con una tasa de 0.14/10,000 habitantes en su mayoría hombres relacionados con actividades laborales de riesgo (Perret *et al.*, 2004). En 2003 se notificaron 33 casos, concentrados en los servicios de salud de Ñuble y Maule para una tasa de 0.2/100,000 habitantes. En el mundo se ha descrito una incidencia de 0.1-1/100.000 en países con clima templado y 10-100/100.000 habitantes en países tropicales y la seroprevalencia en algunas zonas de riesgo en Chile ha sido de 22% como ocurre en Valdivia (Perret *et al.*, 2004).

El primer informe existente en Chile sobre la pesquisa de leptospiras en ratas fue hecho por Ruíz en 1938, quien llega a resultados negativos, a pesar de haber visto espiroquetas en la orina de estos pequeños mamíferos, dado que no logró cultivar la espiroqueta y las reacciones serológicas también resultaron negativas. No obstante esos fracasos, se debieron a que el medio de cultivo empleado no era el adecuado. Por otra parte, la negatividad de las reacciones serológicas se pudieron haberse debido a que solamente utilizó un serovar como antígeno, por lo que, por obvias razones no se podían identificar anticuerpos frente a otros serovares.

Con posterioridad en la década del 50, Neghme *et al.* (1951), realizaron trabajos de tipo epidemiológico en la zona central del país, comprobándose que ratas y ratones capturados en el matadero de Santiago y en las plantaciones de arroz de la séptima Región, portaban leptospiras. También se investigó la infección leptospírica en otros animales de vida libre, la cual identificó solo en zorros (*D. culpoeus* y *D. griseus*), la existencia de anticuerpos en un 7.4%, ya sea frente a *L. gryppotyphosa* como también a *L. icterohaemorrhagiae* y *L. copenhageni*, situación que también se informó en Inglaterra (Fuensalida y Alvarez., 1961), sospechándose que se debe a que las ratas son gran parte de la dieta de los zorros (Neghme *et al.*, 1951; Castelli., 1959; Fuensalida y Alvarez., 1961).

El primer estudio realizado sobre reservorios de leptospiras en el Instituto de Ecología de Chile, data de 1976 en el que se da a conocer la captura de 127 ratones en un predio agrícola y el hallazgo de leptospiras en riñones identificadas por tinción argéntica. El examen microscópico permitió observar la espiroqueta en 5 (3.94%)

roedores, por lo que se constató al microorganismo en 3 *Akodon olivaceus* y en 2 *Oligoryzomys longicaudatus* (Zamora y Murúa., 1976).

Más tarde en 1982, se investigó la presencia de la infección leptospírica en 106 roedores silvestres capturados en el área rural de la provincia de Valdivia. En esa ocasión se empleó la tinción de Levaditti en el tejido renal para identificar la leptospira al microscopio y a la vez, se realizó un estudio seroprospectivo en esos pequeños mamíferos, donde se identificó que 47 (16%) eran positivos y que los anticuerpos frente a los serovares más frecuentemente constatados en los animales domésticos de la zona, tales como *L. Pomona*, *L. sejroe*, *L. copenhageni*, *L. tarassovi*, entre otros, pero prevaleció la infección en *A. longipilis*, *A. olivaceus* y *O. longicaudatus* (Riedemann y Zamora., 1982; Zamora et al., 1988).

En un estudio epidemiológico realizado por Riedemann et al. (1994) en 784 roedores múridos silvestres capturados durante 3 años en Valdivia, permitió comprobar que esán infectados en un proporción superior a los cazados en el área rural (41.4%) que en la ciudad (24.2%), de acuerdo al diagnóstico efectuado por serología, aislamiento y tinciones inmunohistoquímica, aunque el más prevalente, según la aglutinación microscópica, fue el serovar *L. pomona*, seguido en orden descendente por *L. canicola*, *L. hardjo*, *L. javanica*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. tarassovi*. Además, cabe señalar que de estos ratones y ratas se aislaron serovares que a través de la reacción de endonucleasa de restricción, no se pudo establecer una equivalencia con los serovares conocidos, por lo que se puede sospechar que existan nuevos tipos en Chile (Riedemann et al., 1994; Zamora et al., 1994; Zamora et al., 1995a; Zamora et al., 1995b; Zamora y Riedemann., 1999).

La prevalencia de la infección en el total de roedores capturados fue de 37.8% (41.4% en el área rural y 24.2% en la urbana), de acuerdo a todos los métodos de laboratorio empleados (Zamora et al., 1994). Así, de la especie *M. musculus* resultaron positivos 20/97 (20.6%) ejemplares, *A. longipilis* 87/175 (49,7%), *A. olivaceus* 91/206 (44.2%), *O. longicaudatus* 77/191 (40.3%), *R. rattus* 18/85 (21.2%), *R. norvegicus* 2/27 (7.4%), *G. valdivianus* 1/2 (50%) y de *A. microtus* 0/1 (0.0%). Se pudo apreciar que la prevalencia varió de manera notable de acuerdo a la estación del año en que se capturó el roedor y que fue mayor en invierno con un

41.4%, para disminuir en otoño y primavera a un 37.3% en cada una de esas estaciones y ser la más baja en verano con 29.8%. De todos modos, la proporción de animales infectados es alta en cualquier época del año. Situaciones semejantes se han descrito en el extranjero (Zamora., 1998), donde se dieron a conocer los valores de infección que son bajos en los roedores adultos durante los meses de verano, pero se incrementa desde comienzos del otoño hasta el inicio de la primavera (Zamora *et al.*, 1994; Zamora *et al.*, 1995A; Zamora *et al.*, 1995B; Zamora., 1998). Además de la existencia de reservorios, debe tenerse presente la interacción de varios factores ambientales de los cuales depende la sobrevivencia de la espiroqueta fuera del cuerpo animal, situación que es favorable en la zona. En un estudio epidemiológico realizado por Zamora *et al.* (1994), se pudo comprobar que la humedad que existe en el suelo, es suficiente para permitir que la leptospira viva por varios días en la naturaleza, más aún por la pluviosidad que caracteriza a Valdivia, que mantiene la tierra húmeda, lo que se debe asociar con la capacidad del suelo para contener agua y no sólo depender de la lluvia. Además, se pudo constatar que la temperatura del aire y el pH del suelo en predios ganaderos y forestales en estudio, fluctuaron entre los márgenes que se consideran adecuados para que este microorganismo sobreviva por un tiempo en el medio externo (Zamora *et al.*, 1994).

Diferentes factores concurren en la existencia de reservorios de leptospiras en un determinado lugar, tales como las condiciones ambientales que influyen en la sobrevivencia de la espiroqueta en el medio ambiente, el serovar que albergan estos reservorios, la especie animal que los porte y también, la técnica de diagnóstico utilizada, de ahí que exista analogía y diferencia entre los resultados obtenidos en el extranjero al compararlos con los hallazgos obtenidos en el medio. Así, en EUA, se informa de 59.2% y 77.4% de ratas positivas en la ciudad de Detroit (Thiermann., 1977); en cambio, en zonas áridas de Arizona, (Songer *et al.*, 1983) publican diferentes frecuencias de positividad en distintos lugares, ya que fue de 4.8% en un lugar, de 10.9% en otro y en un tercero alcanza a 19.2%. En Irlanda del Norte, al considerar diferentes tipos de exámenes, se da a conocer que un 20% de estos pequeños roedores son positivos (Brokie., 1977). Por su parte Cordeiro *et al.* (1981), publican en Brasil que el 11.39% del total de roedores examinados portan leptospiras y comprueban que 63 *Mus musculus* de 173 ejemplares capturados son positivos al cultivo; vale decir, una positividad en esta especie de roedor de 36.4%. A su vez, (Collings, 1984), realiza estudios en las islas Fiji de Oceanía e informa que el 55.8% de las ratas examinadas son positivas a la fijación del complemento. Al tener

presente estos y otros antecedentes del exterior como también los resultados logrados en Chile, es dable concluir que ratones y ratas son importantes hospederos de mantenimiento de leptospiras patógenas.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los diferentes trabajos epidemiológicos efectuados en la zona sur de Chile por Riedemann *et al.* (1986), tanto en roedores silvestres como en animales domésticos de la zona, se concluye que existen serovares de leptospiras pertenecientes a lo menos a las especies de *L. interrogans* y *L. borgpeterseni*, puesto que es del todo presumible la presencia de otros serovares que pueden o no pertenecer a esas (Riedemann *et al.*, 1986; Riedemann y Zamora., 1987; Zamora *et al.*, 1988, 1994, 1995a, 1995b; Zamora., 1998).

Por desgracia, no existen suficientes investigaciones en Chile que permitan elaborar un mapa epidemiológico de la leptospirosis en animales silvestres. Esto contrasta con la amplia información que existe en el exterior que da a conocer que diversas especies animales son portadores o reservorios de algún serovar de leptospira. Por tanto, el abanico de animales silvestres es muy amplio, lo que incrementa el riesgo de infección para el hombre y animales domésticos y dificultan los esfuerzos que se puedan realizar para controlar la zoonosis (Zamora, 1998).

La ubicación geográfica de los nichos ecológicos de las infecciones no se conoce en todos los casos y menos en Chile, puesto que a pesar de que en el extranjero se cuenta con información sobre el papel que les cabe a diferentes animales de vida libre, en Chile no existen mayores antecedentes (Riedemann y Zamora, 1987). De ahí la importancia que tienen las investigaciones sobre las enfermedades infecciosas en estos animales, estudios que son imprescindibles para obtener la información necesaria que permita dictar normas y medidas adecuadas de prevención. En consecuencia, dado el evidente interés en medicina veterinaria y en salud pública y por el innegable beneficio para los ganaderos, es imperioso que el estudio de las enfermedades infecciosas de los animales de vida libre- no sólo de la leptospirosis - no demore más y por el contrario, se otorgue a la brevedad, el prioritario lugar que merece y que aún no ha recibido (Acha y Szyfres, 2001).

Según Faine *et al.* (1999), Acha y Szyfres. (2001), y Levett. (2001), en muchos países tropicales el perro es un significativo reservorio de infección para el humano y puede ser una importante fuente de inicio de un brote epidémico además, puede

constituirse en una de las principales fuentes de leptospirosis no ocupacional en países templados. Los signos clínicos en la leptospirosis canina dependen de la edad e inmunidad del hospedador, de factores medioambientales y de la virulencia del serovar infectante (Groves *et al.*, 2000), afecta a perros de cualquier edad, pero la incidencia es mayor en machos (Tilley, 1998). En términos generales, el reconocimiento clínico de la leptospirosis canina no es factible de realizar, dado que las leptospiras pueden afectar diferentes sistemas orgánicos, lo que resulta en una extensa variedad de presentaciones clínicas (Effler *et al.*, 2002), la mayor parte de las cuales son crónicas y subclínicas (Grauer, 1998) y sin sintomatología patognomónica. La confirmación por parte del laboratorio se obtiene al demostrar o aislar el patógeno en muestras clínicas y/o se identifica la presencia de títulos de anticuerpos indicadores de infección activa contra uno o más serovares de leptospiras (Smits *et al.*, 1999).

La prueba de aglutinación microscópica, conocida por sus siglas MAT (Microscopic Agglutination Test), es la técnica de referencia internacional para la identificación de anticuerpos específicos anti-leptospiras respecto a la cual se comparan las demás técnicas desarrolladas, evaluándose y comparándose su sensibilidad y especificidad diagnóstica (Lottersberger *et al.*, 2002, Saengjaruk *et al.*, 2002).

La leptospirosis es considerada un serio problema de salud pública en el mundo entero (Lottersberger *et al.*, 2002). El perro actúa como un potencial diseminador de esta enfermedad ya que mantiene una estrecha relación con el hombre y al mismo tiempo, con otros animales tanto domésticos como salvajes (Lottersberger *et al.*, 2002). A pesar de su importancia, la leptospirosis canina es frecuencia subdiagnosticada (Sothers, 1997). En 2007 Ochoa *et al.* (2007) realizaron un trabajo de tipo epidemiológico para determinar la prevalencia de leptospirosis canina en 400 perros de la provincia de Valdivia en Chile, tal determinación se realizó mediante la prueba de MAT, en donde cada suero se enfrentó a ocho serovares de leptospira, encontrándose un 14.8 % de perros positivos, de los cuales la mayoría reaccionaron a los serovares *L. carneola*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. ballum*, con títulos entre 1:400 y 1:600. Los resultados obtenidos en ese estudio no muestran diferencias significativas de acuerdo al sexo, procedencia, raza, animales vacunados y no vacunados, pero sí se presentó relación entre el estado de perro callejero y la probabilidad de contraer la enfermedad, y entre los valores obtenidos para los perros vacunados con respecto a la infección por el serovar *L.ballum* que sugerirían una mayor probabilidad de

contraer esta infección por este serovar en los perros vacunados a los perros no vacunados. De Igual forma, la seroprevalencia obtenida en el trabajo, es relativamente baja comparada con otros trabajos realizados en Chile sobre leptospirosis canina, como los llevados a cabo en la ciudad de Chillan, donde García (1987) y Sothers (1997) obtuvieron 38.33% y 31.05% de serorreaccionantes en un total de 60 y 190 muestras, respectivamente; el mismo García (1987) cita a Fuensalida en 1958, quien determinó una prevalencia del 41,10% en la ciudad de Santiago, y a (Zamora, 1971), quien reportó un 37% de seroprevalencia en la comuna de Los Angeles, Bío Bío. Estas diferencias podrían deberse, de acuerdo a Acha y Szyfres (2001) y Andicoberry *et al.* (2001), que con frecuencia las infecciones y la prevalencia de la enfermedad se producen por un número limitado de serovares endémicos de un país o una región y está íntimamente ligada a factores ecológicos y medioambientales. Además, estas variaciones en la seroprevalencia podrían deberse al número de animales muestreados, al tipo de muestreo realizado y a las características de estos animales, sin olvidar que hace un par de décadas no era tan frecuente la vacunación contra leptospirosis canina como lo es en la actualidad.

La obtención de un 72.88% de los perros reaccionantes con títulos entre 1/400 y 1/1,600 podría corresponder a lo planteado por (Zamora y Riedemann., 1986), en un trabajo realizado en bovinos pero que podría extrapolarse a caninos, según los cuales la obtención de títulos superiores a 1/400 se considerarían indicativos de infección. Por otro lado, (Rentko y Ross., 1994) afirman que un título único contra un serovar contra el cual no ha sido vacunado, se considera como positivo, lo que sería aplicable para los animales reaccionantes a los serovares *L. autumnalis*, *L. ballum*, *L. hardjo* y *L. pomona*. Si bien todavía los serovares *L. canicola* e *L. icterohaemorrhagiae* son los de mayor incidencia, la aparición del serovar *L. ballum* se perfila como un serovar de gran importancia en la población canófila muestreada, lo que concordaría con las observaciones hechas por Groves *et al.* (2000) y Cai *et al.* (2002), quienes indican una tendencia cambiante en la epidemiología de la enfermedad en los Estados Unidos, donde los serovares *L. grippityphosa* y *L. pomona* han reemplazado a *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola* como los serovares prevalentes responsables de leptospirosis en cánidos. De acuerdo a Levitan (2001) esta disminución de los casos asociados con *L. canicola* e *L. icterohaemorrhagiae* es probable que se deba a los muchos años en los que se ha vacunado.

Al considerar el binomio hombre-perro, se ha reportado una positividad contra diversos serotipos de leptospiras en el 46% de los propietarios y en el 62% de sus perros (Levitan., 2001). En octubre de 1995, en Achuapa, Nicaragua se registraron 2,000 casos y 40 defunciones en humanos que presentaban una enfermedad febril hemorrágica. En un inicio, se estableció un diagnóstico de dengue hemorrágico, pero las pruebas serológicas fueron negativas para esa enfermedad y después se confirmó el diagnóstico de leptospirosis (Ochoa *et al.*, 2000). En ese mismo país, en el periodo posterior al huracán Mitch, se registraron 523 casos sospechosos de leptospirosis, con siete personas muertas, lo cual representa una tasa de letalidad de 1.3% (Ochoa *et al.*, 2004).

Las encuestas serológicas permiten explorar los factores de riesgo asociados con la presentación endémica o epidémica de la enfermedad en animales y humanos (Ochoa *et al.*, 2000). Un estudio epidemiológico realizado por Lottersberger *et al.* (2002) realizado en Nueva Zelanda investigó la presencia de *Leptospira interrogans* en 1,003 inspectores de carne y encontró una asociación entre la positividad y el número de años de empleo. Otro estudio epidemiológico realizado por Hill y Wyeth (1995) en trabajadores de alcantarillado de Canadá en 1995 registró una positividad del 12%, frente a 2% en el grupo control ($P=0,003$), resaltó la importancia de los roedores en la transmisión de la enfermedad y puso énfasis en la necesidad del uso adecuado de los elementos de protección personal (Ochoa *et al.*, 2000). La infección por leptospira en bovinos es importante por las pérdidas económicas que generan los problemas de infertilidad. Así en Venezuela en 1980, se verificó que el 40.8% de 1,526 abortos bovinos eran atribuibles a la leptospirosis y en Irlanda (1982), el serotipo *L. hardjo* se asoció con 49.7% de 348 abortos bovinos (Ochoa *et al.*, 2000). El aborto es una secuela crónica de la infección que se produce semanas después de la leptospiremia (Ochoa *et al.*, 2000).

En Colombia, la leptospirosis no es una enfermedad de notificación obligatoria y se desconoce tanto su prevalencia como su impacto económico, aunque se han descrito casos aislados en humanos y brotes en Barranquilla, Buenaventura y Lerida (Ochoa *et al.*, 2000). En ese estudio transversal se utilizó la técnica de MAT para seis serovares de leptospira con el objetivo de estimar la prevalencia de la infección en las poblaciones de operarios como bovinos y porcinos y, explorar algunas variables ambientales y del sistema de producción asociada a la seropositividad.

Hace un par de años (El Dictamen, 2007) reportó un brote de leptospirosis en Nicaragua, en el cual el número de sospechosos de estar contagiados aumentó de 3,331 a 3,790, mientras que el total de fallecidos por esta enfermedad se mantuvo en nueve casos, la curva estadística continúa en descenso y esperan erradicar la epidemia, esto informó el Ministro Nicaragüense de Salud.

Los factores infecciosos que causan más problemas en la reproducción, pueden ser de múltiples etiologías, pues se consideran entre las enfermedades bacterianas de más importancia a la brucelosis y leptospirosis (Sepúlveda *et al.*, 2001). En el área pecuaria, las ratas infectan casi todas las propiedades de cría de animales, estos depredadores pueden comer cerca del 10% de su peso cada día (10 a 15 kg/año/rata), y lo más importante, contaminan mucho más alimento del que pueden consumir, lo que favorece la transmisión y dispersión de las leptospiras por contaminación del alimento y agua a través de su orina (Sepúlveda *et al.*, 2001).

Sin lugar a dudas, otro transmisor importante de contaminación en granjas y establos son los perros, que por lo general siempre existe en este tipo de lugares en los que cumplen alguna función específica (vigilancia o compañía) (Sepúlveda *et al.*, 2001). Por la conducta muy especial de la especie canina de marcar sus territorios, esta se disemina con facilidad por toda la granja o establo. En algunas otras ocasiones, lleva la contaminación de manera directa al alimento y agua consumida o incluso en algunos casos, estos animales comparten un mismo espacio, lo que facilita aún más la contaminación directa del patógeno (Sepúlveda *et al.*, 2001).

En terneros puede producir ictericia y hemoglobinuria a veces acompañadas de nefritis y alteraciones meníngeas; en vacas, brotes de abortos o abortos esporádicos; en ganado lechero la infección de la ubre conduce a la mastitis con pérdida de producción láctea. No obstante, la mayoría de las infecciones en bovinos se caracterizan por ser asintomáticas o presentan una signología muy variada, la cual sólo puede ser diagnosticada por exámenes serológicos o por aislamiento del agente causal (Aidorevich y Soyano., 1991).

La mayoría de las pérdidas económicas que se presentan por esta enfermedad son aquellas causadas por infecciones inaparentes donde puede haber bajas en la

producción de leche o disminución en la eficacia de transformación de la proteína de las plantas en proteína animal (Aidorevich y Soyano., 1991). Debido a la diversidad de los signos, el diagnóstico clínico de la enfermedad en los animales domésticos, es más complicado en un individuo que en un hato (Aidorevich y Soyano., 1991).

La leptospirosis porcina es causa de falla reproductiva y ha sido reportada en unidades de producción de todas partes del mundo. Así el cerdo actúa como hospedero de mantenimiento de las serovariedades de *Leptospira interrogans*, pertenecientes a los serogrupos *L. pomona*, *L. australis* y *L. tarassovi*; asimismo, se le ha identificado como hospedero accidental de los serogrupos *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. sejroe*.

Es una enfermedad bacteriana que suele pasar inadvertida, pero son pocas las serovariedades que pueden ser endémicas en alguna región particular o algún país; en general, son aquellas que se encuentran adaptadas a una especie animal específica; sin embargo, al introducirse por primera vez en una piara de reproductores susceptibles la leptospira ocasiona una apreciable disminución en la producción de carne, debido a que provoca abortos, momificaciones, infertilidad nacimiento de camadas débiles (Sepúlveda *et al.*, 2001). La transmisión de la infección está determinada tanto por situaciones de manejo como por factores ambientales, que proveen las condiciones necesarias para la diseminación intraespecie e interespecie (Ochoa *et al.*, 2000). Por lo anterior, es importante hacer diagnósticos serológicos en las granjas, con la utilización de baterías de antígenos, donde se incluyan las serovariedades más frecuentes en las diferentes especies animales que se encuentran en la región o el país en particular (Ochoa *et al.*, 2000).

2.1 Situación en México.

En México los primeros trabajos sobre leptospirosis fueron realizados por Neugochi y Klieger en Yucatán en 1920 quienes aislaron leptospiras de pacientes con diagnóstico de fiebre amarilla. Entre 1921 y 1925, Pérez Grovas y Le Blanc reportaron casos de leptospirosis en el Puerto de Veracruz. Posteriormente, existieron otros reportes como el de Castañeda en 1928 y Bustamante en 1937 quienes todavía consideraban la enfermedad de Weil como una manifestación de la enfermedad amarilla. Varela en 1953 publicó un reporte preliminar de la leptospirosis en la ciudad de México y realizó un estudio en las ciudades de Veracruz, Tampico y Mexico, D.F. y que fue publicado

en 1954. Tres años después, Mendoza también reportó casos en la Ciudad de México (Mendoza *et al.*, 1958).

En un estudio realizado por Varela en 1961 en 19 estados de la República Mexicana, encontró que de las 41 localidades estudiadas, Villahermosa ocupaba el sexto lugar con una seroprevalencia general del 28.7% y seroprevalencias específicas del 26.4% para *Leptospira icterohaemorrhagiae*, del 1.8% para *L. pomona* y del 1.5% para *L. canicola*. En Macuspana se observó una seropositividad general del 16.8%. (Varela, 1961). Respecto a la seroprevalencia en animales se encontró que los cerdos presentaron un 28.8% en Mexico, D.F. en donde predominó *L. pomona* y del 10.7% de seroprevalencia para Oaxaca con predominio de *L. icterohaemorrhagiae*. En perros se encontró una seroprevalencia de 10.2% y en bovinos 9.8% en el Distrito Federal, predominan *L. icterohaemorrhagiae* en ambos grupos (Varela, 1961).

En Chiapas en 1975, el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste reportó una seropositividad del 14.5% en humanos y donde resultaron infectados el 23% de los perros domiciliados y el 55.5% de los perros callejeros; así como, el 16.6% de las ratas del género *Rattus rattus* y el 23.5% del género *Sigmondon sp* (IMSS, 1975).

En los estados de Tabasco, Campeche y Chiapas desde el año 2003 se ha querido conocer el perfil serológico de la leptospirosis bovina, ya que en estos estados de la República Mexicana ha sido diagnosticada; sin embargo, es de gran interés generar información útil para los médicos veterinarios y ganaderos principalmente, para que de esta manera puedan generar programas de prevención y control mas eficaces (Solis, 1997). Es necesario indicar que la batería de antígenos que se emplean para el diagnóstico puede variar de un laboratorio a otro; de hecho en algunos se utilizan diferentes serovariedades según la especie animal que se este estudia. Por otra parte los trabajos realizados en estos tres estados de la República coinciden con las cepas identificadas con excepción de la cepa H89 que se menciona en algunos casos, esta cepa fue aislada de un feto bovino abortado en una cuenca lechera cercana a Pachuca, Hgo. Fue tipificada despues como serovariedad *L. hardjo prajitino*. También la cepa *L. icterohaemorrhagiae* cepa *palo alto* fue aislada a partir de un cánido con diagnóstico clínico de leptospirosis y corresponde a la serovariedad *icterohaemorrhagiae* (Solis, 1997). Asimismo, la cepa Sinaloa ACR se aisló de fetos de cerdos durante un brote de abortos y está clasificada como serovariedad *L.*

portland vere. A continuación se presentan los cuadros con los resultados de los estudios que se revisaron para este análisis (Solis, 1997).

CUADRO 1. Seroprevalencia de leptospirosis en ranchos del estado de Tabasco (Solis, 1997).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA(%)
<i>L. hardjo-89</i>	64
<i>L. hardjo</i>	49
<i>L. wolffi</i>	45
<i>L. panama</i>	44
<i>L. gripothyphosa</i>	22
<i>L. bratislava</i>	21
<i>L. tarassovi</i>	9

*Prueba realizada a 300 bovinos, seropositividad general de 84.6%, 100% de los ranchos con animales positivos, 19 ranchos (rango de bovinos positivos por rancho 55-100%).

CUADRO 2. Seroprevalencia de leptospirosis en ranchos del estado de Tabasco (Gil, 1997).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA(%)
<i>L. hardjo</i>	19.5
<i>L. wolffi</i>	13.6
<i>L. tarassovi</i>	4.2
<i>L.icterohaemorrhagiae</i>	1.5
<i>L. pomona</i>	1.4
<i>L. gripothyphosa</i>	1.1
<i>L. pyrogenes</i>	0.6

*Prueba realizada a 757 bovinos, seropositividad general de 32%.

CUADRO 3. Seroprevalencia de leptospirosis en ranchos del estado de Tabasco (Baez, 2003).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA(%)
<i>L. hardjo-89</i>	69.5
<i>L. hardjo</i>	62.8
<i>L. wolffi</i>	54.2
<i>L. tarassovi</i>	18
<i>L. bratislava</i>	12.3
<i>L.icterohaemorrhagiae</i> cepa <i>palo alto</i>	4.7
<i>L. canicola</i>	1.9
<i>L. sinaloa</i>	0.9

*Prueba realizada a 105 bovinos, seropositividad general de 76.1%, 100% de los ranchos con animales positivos, 10 ranchos (rango de bovinos positivos por rancho 50-100%).

CUADRO 4. Seroprevalencia de leptospirosis en ranchos del estado de Campeche (Cano, 2003).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA(%)
<i>L. hardjo-89</i>	67.4
<i>L. wolffi</i>	49.7
<i>L. hardjo</i>	43.8
<i>L. bratislava</i>	6.4
<i>L. tarassovi</i>	5.9

*Prueba realizada a 203 bovinos, seropositividad general de 75.3%, 100% de los ranchos con animales positivos, 10 ranchos (rango de bovinos positivos por rancho 36-89%).

CUADRO 5. Seroprevalencia de leptospirosis en ranchos del estado de Campeche (Gil, 1997).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA(%)
<i>L. hardjo</i>	28.5
<i>L. wolffi</i>	19
<i>L. tarassovi</i>	0.02
<i>L. canicola</i>	0.02

*Prueba realizada a 42 bovinos, seropositividad general de 28.5%.

CUADRO 6. Seroprevalencia de leptospirosis en ranchos del estado de Chiapas (Gil, 1997).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA(%)
<i>L. hardjo</i>	17.1
<i>L. wolffi</i>	17.1
<i>L. tarassovi</i>	4
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	1.4

*Prueba realizada a 611 bovinos, seropositividad general de 29.7%.

CUADRO 7. Seroprevalencia de leptospirosis en ranchos del estado de Chiapas (Torres, 2000).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA(%)
<i>L. hardjo-89</i>	23.3

<i>L. hardjo</i>	13.3
<i>L. wolffi</i>	7.7
<i>L. gripothyphosa</i>	6.5
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	3.5
<i>L. tarassovi</i>	2.3

*Prueba realizada a 428 bovinos, seropositividad general de 36%.

CUADRO 8. Seroprevalencia de serovares en ranchos del estado de Tabasco, seropositividad de 49.6% (Torres, 2000).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA (%)
<i>L. hardjo-89</i>	65.4
<i>L. Hardjo</i>	31
<i>L. Wolffi</i>	25.3

*Prueba realizada a 100 bovinos, seropositividad general de 34%.

CUADRO 9. Seroprevalencia de serovares en ranchos del estado de Campeche, seropositividad de 67.3% (Torres, 2000).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA (%)
<i>L. hardjo-89</i>	67.4
<i>L. wolffi</i>	44.4
<i>L. hardjo</i>	41.2
<i>L. tarassovi</i>	5.3

*Prueba realizada a 100 bovinos, seropositividad general de 38%.

CUADRO 10. Seroprevalencia de serovares en ranchos del estado de Chiapas, seropositividad de 31.9% (Torres, 2000).

SEROVARIEDAD	PREVALENCIA (%)
<i>L. hardjo-89</i>	23.3
<i>L. wolffi</i>	15.5

<i>L. hardjo</i>	13.2
<i>L. icthrohaemorrhagiae</i>	2.3
<u><i>L. tarassovi</i></u>	<u>3.3</u>

*Prueba realizada a 100 bovinos, seropositividad general de 36%.

Es notable identificar que en todos los estudios analizados la serovariedad *L. hardjo*, a la pertenece la cepa *L. hardjo -89*, es la mas frecuente. En segundo lugar de importancia se encuentra la serovariedad *L. wolffi*. Además, debe destacarse que los porcentajes de positividad de estas dos leptospiras con respecto a las demás serovariedades son elevados en la mayoría de los estudios realizados por Torres (2000), Gil (1997), Cano (2003), Baez (2003), Solis (1997), pues llama la atención que en los cinco estudios, las proporciones de animales muestreados por rancho mostró rangos de entre 36 y 100% y también, se indica que en todos los ranchos estudiados hubo bovinos positivos a leptospira. Por otro lado, la serovariedad *L. tarassovi* también aparece entre las mas importantes, mientras que las serovariedades *L. icterohaemorrhagiae*, *L. griptothyphosa*, *L. pyrogenes*, *L. pomona* y *L. bratislava* varían en importancia de un estudio a otro, sin embargo, los proporciones de positividad de estas leptospiras son reducidas (Torres, 2000). Por tanto, los productos biológicos que se emplean para la prevención de leptospirosis bovina en esta región deberán contener por lo menos las serovariedades *L. hardjo* y *L. wolffi* y de acuerdo al perfil serológico de los animales a los que se va a inmunizar, se deberá elegir la bacterina que esta elaborada con las demás serovariedades importantes en el hato en particular (Torres, 2000).

En Tizimin, Yucatán se reportó una seropositividad en humanos similar (14.1%) a la reportada en Chiapas (Baez, 2003) con predominio del area rural 18.9% con respecto a la humana del 8%; de los animales estudiados que no contaban con un control zootécnico, se encontró una seropositividad de 23.4% en porcinos y de 11.3% en bovinos. La mayor reactividad encontrada en humanos y animales fue con *L. pomona*.

Entre trabajadores del rastro de Guadalajara, Jal. (Baez, 2003), se demostró una seroprevalencia de 24.7% con un riesgo relativo (RR) de 3.7 particularmente entre los trabajadores dedicados a la matanza de reses. La serovariedad más frecuente fue *L. pomona* con 68.4%. En este trabajo se demostró que cada 10 años de exposición incrementa un punto el RR de contraer la infección.

En el 2001 se estudió la seroprevalencia de leptospirosis en Puebla, Chihuahua y Tabasco (Gonzales, 2001). En Puebla se encontró una seropositividad del 26% y las serovariedades identificadas fueron *L. pomona* (70%) y *L. canicola* (30%); en Chihuahua la seropositividad fue del 35% con la presencia de *L. pomona* (40%), *L. canicola* (30%) y *L. icterohaemorrhagiae* (30%); y en Tabasco la seropositividad fue del 13.2% y las serovariedades: *L. canicola* (62%), *L. pomona* (27%) y *L. icterohaemorrhagiae* (11%). En este último Estado se estudiaron 17 localidades del municipio de Balancán; la localidad que presentó mayor seroprevalencia fue la cabecera municipal (19.3%). En cuanto a la convivencia con animales se encontró un RR de 2.26.

Al estudiar cinco casos de Tabasco y uno de Chiapas, entre 1996 y 1997 (Solis, 2000) se encontró que cinco convivían con perros, cuatro se introducían en aguas enpantanadas sin protección, todos tenían el hábito de caminar descalzos y reportaban la existencia de ratas en su vivienda. Asimismo, como resultado del estudio anterior realizado en Tabasco y Chiapas, en 1997 se reportó la coexistencia de leptospirosis y dengue en tres de los casos estudiados. Ese mismo año, la Secretaría de Salud de Tabasco, emitió una alarma epidemiológica en la que solicitó que los casos sospechosos o confirmados fueran reportados de forma inmediata a las jurisdicciones sanitarias.

Entre 1995-2000 se analizaron 1970 sueros de cerdos provenientes de varias granjas de México y que fueron recibidos en el laboratorio de leptospirosis de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco (Torres, 2000), Se consideraron como positivos los sueros con títulos iguales o mayores a 1:100, por lo que resultaron 39.8% de animales seropositivos (784/1970) y las serovariedades más frecuentes fueron: *L. bratislava* 22.5%, *L. icterohaemorrhagiae* cepa palo alto 14.5%, *L. portland vere* cepa Sinaloa ACR 13.8%, *L. icterohaemorrhagiae* 11.1%, *L. grippothyposa* 8.9%, *L. hardjo* cepa H 89 7.2%, *L. tarassovi* 7.1%, *L. panama* 5.8%, *L. pomona*, *L. hardjo* 5.1%, *L.*

wolffi 3%, *L. shermani* 2.4%, *L. pyrogenes* 1.2%, *L. canicola* 0.8%, *L. hebdomadis* 0.5%. La serovariedad *L. bratislava* ha sido reportada a causa de una falla reproductiva en varios países del mundo y en estudios serológicos, ocupa los primeros lugares. De los 1970 sueros analizados, 39,8% (784) resultaron positivos a una o varias serovariedades de leptospira; las serofrecuencias de las más comunes se observan en el cuadro 11.

CUADRO 11. Orden de frecuencias y proporciones de sueros de cerdos positivos a leptospira recibidos en el laboratorio de leptospira de la Universidad Autónoma Metropolitana de Xochimilco durante 1995-2000.

Serovariedad	Frecuencia de positividad
<i>L. bratislava</i>	22.5(443/1970)
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> cepa palo alto*	14.5(285/1970)
<i>L. portland vere</i> cepa Sinaloa ACR*	13.8(271/1970)
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	11.1(218/1970)
<i>L. grippothyphosa</i>	8.9(175/1970)
<i>L. hardjo</i> cepa hardjo-89*	7.2(141/(1970)
<i>L. tarassovi</i>	7.1(140/1970)
<i>L. panama</i>	5.8(114/1970)
<i>L. pomona</i>	5.1(100/1970)
<i>L. hardjo</i>	5.1(100/1970)

<i>L. wolffy</i>	30(59/1970)
<i>L. shermani</i>	2.4(47/1970)
<i>L. pyrogenes</i>	1.2(24/1970)
<i>L. canicola</i>	0.8(16/1970)
<i>L. hebdomadis</i>	0.5(10/1970)

*Aislamientos mexicanos.

Un estudio de tipo epidemiológico realizado por Moles *et al.* (2002), en varias regiones de México, se analizaron 4,043 sueros de bovinos por la técnica de MAT, en el que se tomó el rango de dilución 1:100 o mayor como positivo; así, se obtuvo una seroprevalencia de 31.1%; Las serovariedades más frecuentes de *Leptospira interrogans* fueron para *L. hardjo*, *L. wolffi* y *L. tarassovi* (Moles *et al.*, 2002). Asimismo, un estudio realizado por Segura-Correa *et al.* (2003), en sueros de vacas realizado en el estado de Yucatán, México en el que se utilizó la técnica de MAT, señaló que se encontraron 62.8% positivas; esta seroprevalencia se debió probablemente, a que la vacunación contra leptospirosis no se practica en Yucatán ya que los anticuerpos identificados con mayor frecuencia fueron contra las serovariedades *L. hardjo* (54.1%) y *L. tarassovi* (53.3%).

En 1993, se realizó en el valle de Atlixco, Pue., una prueba de identificación de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en bovinos de hatos lecheros, mediante la prueba de MAT, en donde fueron muestreados 116 animales, de los cuales 98 (84.48%) resultaron positivos y 18 (15.52%) negativos; sin embargo, cabe destacar que la mayoría de los sueros reaccionaron contra más de una serovariedad (Fernández *et al.*, 1993). Así también, la serovariedad con mayor número de

reactores fue *L. icterohaemorrhagiae* con una frecuencia de 45.69%; le siguen en orden decreciente *L. pyrogenes* con 21.55%, *L. pomona* con 13.8%, *L. canicola* y *L. celledoni* con 12.93% y el resto de las serovariedades reaccionaron en menor grado. De las 18 serovariedades que se emplearon para el diagnóstico de las muestras séricas, sólo *L. tarassovi* resultó negativa siempre (Fernández *et al.*, 1993).

Si se considera por otra parte que son escasos los estudios sobre leptospirosis en fauna silvestre y al considerar los antecedentes serológicos de esta enfermedad en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México (Luna *et al.*, 1996), se llevó a cabo el análisis de muestras de 19 diferentes especies animales para conocer la frecuencia serológica y el perfil inmunológico. Con ese fin, fueron analizadas 48 muestras séricas mediante la técnica de MAT en la que se emplearon 12 serovariedades de leptospira y se consideraron positivos los sueros cuyo título fue de 1:100 o mayores. Los resultados indicaron que en 15 distintas especies hubo reactores a 8 distintas serovariedades y que el 52% de los sueros reaccionaron a alguna serovariedad. En algunos sueros se encontraron títulos de hasta 1:1,600. Las serovariedades encontradas fueron *L. icterohaemorrhagiae* (40%), *L. canicola* y *L. pyrogenes* (26%), *L. hebdomadis* (23%), *L. pomona* y *L. grippotyphosa* (12%) y, *L. autumnalis* y *L. panama* con un 2% (Luna *et al.*, 1996).

2.2 Situación en Veracruz

En el año 1991 se analizaron 157 sueros de bovinos hembras de 2 años y mayores que pertenecían a la Posta Zootécnica Torreón del Molino de la Universidad Veracruzana mediante la prueba de MAT (Mateu, 1991), donde se utilizaron 11 serovares de leptospirosis y se observó que 119 (75.6%) animales resultaron positivos a uno mas serovares, 20 (12.7%) sospechosos y 18 (11.5%) negativos. De los 11 serovares utilizados, sólo mostraron reacción frente a *L. hardjo* (69.4%), *L. tarassovi* (69.4%) y *L. wolffi* (54.1%).

Otro trabajo que se encaminó para determinar la posible etiología de los problemas reproductivos de una granja porcina comercial del municipio de Cotaxtla, Ver. (Sánchez., 1990), fueron analizados los sueros de todos los cerdos (130) para la identificación de anticuerpos contra leptospira mediante la técnica de MAT con el uso de *Leptospira interrogans* de las serovariedades *L. akiyami*, *L. bataviae*, *L. canicola*, *L.*

grippotyphosa, *L. hebdomadis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. Pomona* y *L. wolffi*; sin embargo, el 100% de las muestras serológicas resultaron negativas en título de 1:100; el 9.28% con ligera aglutinación a 1:50 y 5.3%, con una reacción franca a 1:50, por lo que se concluyó que el problema que afecta a los cerdos de esa granja, no es debido a la presencia de serovares de leptospira contenidos en la prueba.

Para el año de 1993, también se realizaron pruebas para la determinación de anticuerpos contra leptospirosis bovina en la zona centro del estado de Veracruz (Solana., 1993). Se colectaron 312 sueros de bovino y que correspondieron al tamaño aproximado de la muestra requerida para estimar la prevalencia en una población de 2,000 bovinos. Los sueros fueron sometidos a prueba de MAT con antígenos de las serovariedades *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. canicola*, *L. hardjo*, *L. grippotyphosa*, *L. wolffi*, *L. ballum*, *L. sejroe*, *L. tarasovi*, *L. bataviae*. De este modo, 271 sueros titularon como positivos (86.8%), 25 resultaron sospechosos (8%) y 16 negativos (5%). Las serovariedades identificadas fueron *L. icterohaemorrhagiae* 29%, *L. grippotyphosa* 10%, *L. wolffi* 6% *L. ballum* 20%, *L. serjoe* 17%, *L. tarassovi* 79%, y *L. bataviae* 67%.

En 1994 se realizó la identificación de serovares, control y tratamiento de leptospirosis bovina en el municipio de Banderilla, Ver., (Barragán., 1995) donde se procesaron los sueros de 58 bovinos mediante la técnica de MAT en dos diferentes muestreos. En el primero, 5(2.9%) resultaron positivos, 35 (20.3%) negativos y 18 (10.44%) sospechosos y por lo tanto, la producción de Igs no fue específica, lo cual se comprobó en el segundo muestreo al observarse que todos los animales resultaron negativos. No obstante, los bovinos que resultaron positivos en el primer muestreo, presentaron un título que osciló entre 1/200 - 1/400 a las serovariedades de *L. ballum*, *L. bataviae* y *L. canicola*.

Para el año 2000 se realizó un trabajo (Lima., 2000) cuyo objetivo fue determinar la distribución de los serovares de *Leptospira interrogans* por zona, sexo y edad, así como la frecuencia de más de un serovar por animal en cánidos del área conurbada de la ciudad de Veracruz. Se colectaron 106 muestras séricas de animales entre 5 meses y 13 años de edad, que se analizaron por la prueba de MAT. El 58.88% fueron machos, se identificaron anticuerpos contra leptospira en 33.01% de los animales; asimismo, entre los perros que nunca habían sido vacunados contra leptospirosis, el

32.2% mostró anticuerpos contra ella, lo que indica la presencia de serovares de esta bacteria que son de vida libre. Los serovares más identificados fueron *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* y *L. hardjo*, la frecuencia de positividad fue 32%. En los animales nunca vacunados, se identificaron anticuerpos contra los serovares *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. tarassovi*.

En el año 2009 se realizó un trabajo (Noriega., 2009) en el norte del estado de Veracruz, utilizando 207 muestras de suero bovino y enfrentando las muestras a 12 serovariedades del género *Leptospira interrogans* practicando la prueba de MAT, obteniendo las prevalencias de los municipios de Papantla con 17.87%, Coyutla con 0.96%, Tecolutla con 0% de animales positivos y las serovariedades con mayor prevalencia fueron *L. canicola* 11.1% y *L. lai lai* con 10.62%.

3. Diagnóstico.

El diagnóstico de la leptospirosis desde el punto de vista clínico se debe diferenciar de cualquier enfermedad que ocasione alteraciones en la conducta reproductiva (Faine, 1993). Siempre es importante contar con los resultados de laboratorio para confirmar las observaciones de campo (Faine, 1993). El diagnóstico de laboratorio se puede dividir en dos categorías; la primera y más empleada, es el diagnóstico serológico y; la segunda, se refiere al diagnóstico bacteriológico en el que implica el aislamiento de la bacteria (Faine, 1993). Publicaciones realizadas por Moles (1997), en las que se mencionan ensayos sobre técnicas moleculares como PCR. El diagnóstico serológico se basa en la identificación y cuantificación de los anticuerpos circulantes cuya producción fue estimulada por el contacto con las leptospiras (Moles, 1997). El título o cantidad de anticuerpos orienta la interpretación de la prueba para determinar si el estímulo fue vacunal o por contacto con leptospiras de campo (Moles, 1997). Al respecto es importante indicar que los anticuerpos vacunales no son muy elevados y tienden a declinar rápido hasta mantenerse por debajo de títulos de 1:100, los cuales son considerados como casos positivos. Dado que la prueba de aglutinación microscópica (descrita por la OIE) es serovariedad específica, permite diagnosticar para cada suero diferentes serovariedades de leptospira. Es importante entender los pasos que se deben seguirse para realizar la técnica de MAT pues para obtener un diagnóstico completo es necesario probar cada uno de los sueros problema con cada una de las serovariedades que se determinaron en la batería de diagnóstico, que casi

siempre abarca 12 serovariedades (Gavaldón, 1997). Además, es necesario que cada suero con cada serovariedad sea analizado en distintas diluciones hasta obtener un título final (Myers, 1985). Por lo tanto, es evidente que el diagnóstico de la leptospirosis es muy laborioso y requiere de mucho tiempo para llevarse a cabo por el personal especializado (Myers, 1985).

La interpretación de la prueba, depende de acuerdo con la descripción que realiza la OPS (Faine, 1993), indica que un caso es presuntivo si tiene un título igual o superior a 1:100 y cursa con manifestaciones clínicas compatibles con leptospirosis. Si en un estudio de dos muestras pareadas con dos o tres semanas de diferencia, en el segundo muestreo aparece una seroconversión de cuatro diluciones o mas; así como, si en el primer análisis resulta un título menor de 1:50 y en el segundo manifiesta un título de 1:100 o superior, se considera como un caso con la enfermedad en curso (Gavaldón, 1997). Un caso presuntivo es al obtenerse un título de 1:00 o mayor en una sólo muestra frente a uno o varios antígenos de leptospira, así como si el título es tan elevado como 1:1600 o mas con datos clínicos de leptospirosis (González, 1990) En el caso de medicina veterinaria en los laboratorios de diagnóstico que realizan pruebas de sueros de bovinos y porcinos, esta última situación es la más frecuente.

Por otro lado, existen, otras técnicas serológicas que se han empleado en el diagnóstico de leptospirosis, tal es el caso de la hemoaglutinación utilizada en pacientes humanos en Cuba y quizá otros países (González, 1990). En relación a la técnica de ELISA es importante mencionar que a la fecha no se dispone de una prueba estandarizada a nivel comercial que identifique la posibles serovariedades implicadas en los casos diagnósticos (González, 1990). Las técnicas de biología molecular que se refieren a PCR en sus distintas modalidades, a la fecha se emplean solo para estudios de investigación y no se dispone de esta en forma comercial (Moles, 1997). Es probable que en un futuro se disponga de esta prueba en los laboratorios de diagnóstico que identifiquen cada una de las serovariedades presentes en la región y tenga un costo accesible para el ganadero (Gavaldon, 1997). La segunda categoría a que se refiere al diagnóstico bacteriológico, que implica la observación de la bacteria y/o aislamiento, su identificación en fluidos corporales por observación directa es posible durante los primeros 8 a 10 días al existir manifestaciones clínicas, pues las leptospiras se observan mediante un examen directo en el microscopio de campo obscuro en muestras de sangre, exudados

pleurales y peritoneales, humores oculares, líquido cefalorraquídeo y orina (Gavaldon, 1997).

Las muestras deben obtenerse en forma aseptica y enviarse al laboratorio de forma inmediata, y no se deben congelar (Moles, 1997). La sangre sin coagular se centrifuga para eliminar el paquete celular ya que que las leptospiras permanecen en el plasma (Moles, 1997). Siempre que sea posible, las muestras de tejido deben ser colectadas asépticamente, aunque los órganos de cadáveres y fetos generalmente se encuentran muy contaminados (Myers, 1985). Para observar leptospiras en una muestra de orina, es recomendable diluirla en una solución amortiguadora de fosfatos o con medio de cultivo líquido, y despues centrifugarla y, realizar la observación del sobrenadante (Moles, 1997). Aunque la ventaja de la observación directa es la rapidéz del diagnóstico, por desgracia las dificultades que se encuentran son de orden técnico y la interpretación de las observaciones son muy subjetivas, por lo que se necesita de personal calificado y con basta experiencia para realizarlo (Gavaldón, 1997). Este diagnóstico siempre debe ir apoyado de otros estudios como son los serológicos (Branger, 2001). Si se intenta realizar un cultivo de leptospiras a partir de muestras clínicas, se pueden obtener resultados satisfactorios, durante la fase febril, si las muestras se obtienen en condiciones asépticas y se emplean medios de cultivo adecuados (Branger, 2001). Se recomienda el uso de sustancias inhibidoras de crecimiento bacteriano, como neomicina y 5-fluouracilo (Branger, 2001). Los cultivos deben incubarse entre 28 y 30°C entre 2 y 3 meses; haciendo revisiones cada 7 a 14 días en el microscopio de campo obscuro. Si se observa estructuras similares a leptospiras, es necesario hacer resiembras. Por otro lado, para hacer aislamientos a partir de muestras de orina debe considerarse que durante el estado de Leptospiruria, hay que tomar en cuenta que hasta el día 14 ó 28 después de la infección, se produce una buena eliminación de la leptospiras, por lo que es muy importante obtener muestras de orina en condiciones de asepsia (Branger, 2001). En los animales grandes se sugiere el uso de furosemida como diurético. Debe evitarse la contaminación (Branger, 2001).

Las muestras de órganos se obtiene en los primeros días de la enfermedad durante la fase leptospirémica, por lo que serán muestras de biopsias o de animales inoculados en forma experimental; sin embargo, muchas veces es fácil obtener tejidos de fetos abortados o mortinatos o placentas (Cullen, 2002). En ocasiones existe la facilidad de

obtener riñones de los animales sacrificados en el rastro, que constituyen una buena muestra (Cullen, 2002). Las muestras de 1 gramo de tejido que se colectan en forma aséptica se manceran con mortero o se hacen pasar por una jeringa de 3 ml (sin aguja) y posteriormente se inoculan en un tubo con medio de cultivo (EMJH), se agita y se deja reposar para que las estructuras tisulares se sedimentan (Cullen, 2002). Se hacen diluciones de 1:10, 1:100 y 1:1,000 al inocular el sobrenadante en el medio de cultivo semisólido, con objeto de disminuir el posible efecto tóxico del tejido sobre las leptospiras (Bolin, 1989). Los animales de laboratorio son muy útiles para el primoaislamiento a partir de muestras clínicas, ya que las leptospiras virulentas pueden provocarles la enfermedad (Bolin, 1989). Las especies susceptibles son hamsters, cuyos y gerbos, pero siempre es necesario conocer su procedencia y asegurarse que sean libres de leptospiras (Bolin, 1989). Las muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo, orina, suspensión de tejido se inoculan intraperitonealmente (Guerreiro, 2002). Los animales se mantienen en observación para determinar pérdida de peso, fiebre y datos clínicos de la enfermedad. Entre los días 4 y 7 postinoculación, las leptospiras se pueden observar en muestras de sangre en el microscopio de campo obscuro o ser aisladas en medio de cultivo semisólido (Guerreiro, 2002). Si los animales se sacrifican, es posible observarlas y aislarlas de hígado, riñones, pulmón y sangre (Guerreiro, 2002). A partir de los 14 a 28 días después de inocularlos, los animales pasan a al fase de cronicidad, convirtiéndose en portadores asintomáticos, de los que se pueden recuperar la leptospira a partir de orina o macerado de riñon (Guerreiro, 2002).

3.1. Epidemiología

La fauna silvestre, entre las que destacan las zarigüellas, mapaches, zorrillos, roedores como las ratas y los ratones, entre otras, mantienen a las leptospiras en la naturaleza y representan una fuente de infección para los mamíferos domesticos (Rojas, 1994). Las condiciones del ecosistema son determinantes para la sobrevivencia de la bacteria, tal es el caso de los climas tropicales, templados y suelos húmedos con pH neutro o ligeramente alcalinos. Los estanques y charcos, que frecuencia se forman en los potreros, así como en los arroyos permiten que las leptospiras sobrevivan durante varias semanas (Cisneros, 1994). Durante la época de lluvias se producen inundaciones y el escurrimiento de aguas de una zona a otro favorece en forma notable la diseminación de la bacteria, lo que permite un aumento

en la incidencia (Cisneros, 1994). Las manifestaciones clínicas de los bovinos en el caso de la serovariedad *L. hardjo* son de difícil diagnóstico, ya que por general la enfermedad cursa como casos crónicos, mientras que si la infección es ocasionada por otras serovariedades, puede manifestarse en forma de brote de leptospirosis con curso agudo y manifestaciones muy aparentes (Luna, 1994). En los brotes de leptospirosis, es frecuente la presentación de un aumento marcado en el número de abortos y la aparición de casos de mastitis fría en gran cantidad de vacas, con una consecuencia hipólactea o franca agalactia (Luna, 1994). Es importante indicar que esta mastitis se presenta con una ausencia de inflamación en la glándula mamaria, la leche se observa una pigmentación amarillenta y en ocasiones con estrias sanguinolentas (Luna, 1994).

Si en el establo existe leptospirosis, los animales que se enferman presentan un cuadro poco aparente; en las becerras por lo general los datos clínicos son ictericia leve, hemoglobinuria y fiebre durante un periodo que puede durar solo algunas horas y esta acompañado de decaimiento, apatía y anorexia (Luna, 1994). En las hembras adultas que se encuentran en actividad reproductiva, la manifestación más evidente e importante es el aborto, pero se han indicado algunos casos de retención placentaria, así como el nacimiento de becerros débiles que tiene pocas posibilidades de sobrevivencia (Cisneros, 1994). El aborto suele ocurrir a las dos semanas después del contagio de la vaca gestante; sin embargo, en algunos animales se han presentado después de varias semanas de haber entrado en contacto con la bacteria, la explicación aún no está aclarada (Cisneros, 1994). El contagio indirecto es por lo general a partir de agua contaminada con orina de mamíferos silvestres o domésticos que están infectados y se encuentran en fase leptospirúrica o de eliminación de la leptospira por la orina, en donde los lagos, arroyos y charcos que a veces se encuentran dentro de los potreros, representan una fuente de contagio muy importante (Farrelly *et al.*, 1987). También existe el tipo de contagio directo de animal a animal si el bovino afectado elimina la leptospira, en la fase leptospirémica por la orina cerca de otros, por lo que vuelve a entrar en contacto con las mucosas de animales susceptibles (Farrelly *et al.*, 1987). Esta situación se ve favorecida al aumentar la densidad poblacional de los bovinos, si algunos animales entran en estrecho contacto con otros en los abrevaderos o al realizar algunas prácticas de manejo que los confine (Godínez *et al.*, 1999). Asimismo, se ha demostrado que los toros infectados eliminan leptospiras en el semen, por lo que son diseminadores de la

enfermedad y contagian a las hembras a través de la mucosa genital como consecuencia de la monta natural o al efectuar la inseminación artificial (Merien *et al.*, 2000). Esto también se ve apoyado al haberse logrado el aislamiento de leptospiras del tracto reproductor de hembras y machos sin manifestaciones clínicas aparentes (Haake, 2000); la situación más frecuente que ocurre en los hatos donde hay animales infectado con leptospiras y que conviven con otros animales que son susceptibles por falta de protección inmunológica, ya sea por que nunca hayan estado en contacto con leptospiras en forma natural o por medio de la vacunación, en donde es mas probable una transmisión de animal a animal en forma aislada, por lo que los otros animales presentarán abortos a distintos tiempos, en dependencia del momento en el que haya ocurrido el contagio de la vaca, por lo que será muy difícil la presentación de un brote epidémico de leptospirosis (Naiman *et al.*, 2001).

El diagnóstico de laboratorio es laborioso y tardado, pues se utiliza la prueba de serología descrita por la OPS y la OIE. Cada suero problema se da a probar contra una batería de 10 o mas serovariedades de *L. interrogans* (Picardeau *et al.*, 2001). La prueba es serovariedad especifica, lo que permite identificar qué tipo de leptospira es la que ha estimulado al sistema inmune del animal infectado. El resultado de la prueba se obtiene cuando si se ha identificado el título más alto de cada suero para la serovariedad con la que se ha probado. La OPS y la OIE indican que mediante esta prueba se han podido identificar los anticuerpos circulantes después de la primera semana de sufrir la enfermedad y también se han identificado los títulos máximos que se presentan en la tercera o cuarta semana (Waitkins, 1986). Estas organizaciones indican también que los anticuerpos pueden persistir durante varios meses e inclusive años.

Dentro de las medidas preventivas de la enfermedad se debe considerar como un factor de riesgo la introducción de animales a un hato (Moles *et al.*, 1997), por lo que es indispensable conocer los antecedentes no solo de los animales que se van a incorporar, si no también el estado general de salud del establo o rancho de procedencia. Asimismo es importante conocer la historia de la vacunación, para poder determinar correctamente las medidas sanitarias que se deben aplicar (Guerreiro *et al.*, 2001). Siempre es recomendable realizar un estudio serológico con el propósito de averiguar si los animales han tenido contacto con la leptospira y en caso afirmativo saber cual o cuales serovariedades han sido (Prescott *et al.*, 1992). Es importante

mantener en zona de cuarentena a los animales que ingresen y por lo menos dos semanas antes de introducirlos, se les debe vacunar con un biológico que contenga las serovariedades presentes en el hato, de lo contrario la protección será incompleta y existirá el riesgo de contagiarse y sufrir la enfermedad. En los bovinos que tienen la infección, es probable que siempre haya algunos animales enfermos y aunque no esta totalmente aclarado, existe la posibilidad de que al recuperarse, permanezcan como portadores y eliminadores de la bacteria a través de la orina, durante el resto de su vida (Vado *et al.*, 2002). El tratamiento es con base en antimicrobianos; así para los bovinos, se recomienda la aplicación de estreptomycin o dihidroestromycin en dosis de 25 mg/kg de peso (Naiman *et al.*, 2001). Además, se puede aplicar simultánea la vacuna que permite una buena protección inmunológica (Jost *et al.*, 1989). Desde hace muchos años se ha aplicado la vacuna para la prevención de la leptospirosis bovina, se han obteniendo logros importantes en la reducción de la enfermedad (Schoone *et al.*, 1989), pero es necesario insistir que una vacuna bien elaborada y que contenga la serovariedades que afectan al hato, confieren protección inmunológica satisfactoria (Schoone *et al.*, 1989). Antes se recomendaba la aplicación de la vacuna cada año, pero con base en experiencias de campo, tanto en Mexico como en otros países, se obtiene mejores resultados cuando se diseña un calendario que contemple la aplicación de una dosis cada seis meses (Moles *et al.*, 1997). En los hatos cuya tasa de infertilidad y abortos estén aumentados o que se haya diagnosticado un brote de leptospirosis, es conveniente aplicar la vacuna como parte del tratamiento y cerrar el calendario a cuatro meses hasta que se reduzcan los parametros a niveles aceptables para ese hato en particular (Moles *et al.*, 1997).

Es importante tener claro que una vez que se ha diagnosticado la leptospirosis y se ha diseñado un programa de prevención y control, es necesario continuarlo, ya que al suspender la vacunación después de varios años, se producen hatos muy susceptibles y que pueden representar más riesgo que antes de haber iniciado el programa (Moles *et al.*, 1997). Es recomendable que en los ranchos se realicen monitoreos serológicos constantes. Así si en un muestreo de los animales cada seis meses antes de aplicar la vacuna, permite tener una visión retrospectiva de la situación sanitaria de los bovinos (Naiman *et al.*, 2001). En el caso de esta enfermedad, al igual que en otras, los resultados serológicos deben interpretarse en función del hato y no en forma individual, por lo que una muestra relativamente pequeña, de preferencia de vacas que han presentado alteraciones en la conducta reproductiva reciente, permite

realizar una valoración de la salud de los animales en su conjunto (Naiman *et al.*, 2001).

4. JUSTIFICACIÓN

Debido a la falta de información sobre la leptospirosis que guardan las unidades de producción de los municipios de la zona sur del estado de Veracruz, fue necesario realizar un estudio de seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la presencia de la leptospirosis en unidades de producción de los municipios de Acayucan, Cosoleacaque, Sayula de Alemán y Las Choapas.

5. HIPÓTESIS

La leptospirosis bovina es una enfermedad que se encuentra distribuida en las unidades de producción bovina ubicadas en la sur del estado de Veracruz, sin importar su raza y función zootécnica, pero teniendo como antecedente un 10% de prevalencia en el estado de Veracruz.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en las unidades de producción y municipios de Acayucan, Cosoleacaque, Sayula de Alemán, Las Choapas ubicados en la zona sur del estado de Veracruz.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

6.2.1 Determinar la seroprevalencia de leptospirosis bovina en las unidades de producción bovina de los municipios de Acayucan, Cosoleacaque, Sayula de Alemán y Las Choapas.

6.2.2 Identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de leptospirosis bovina en las unidades de producción de Acayucan, Cosoleacaque, Sayula de Alemán y Las Choapas.

6.2.3 Identificar los factores de protección asociados a la presencia de leptospirosis bovina en las unidades de producción de Acayucan, Cosoleacaque, Sayula de Alemán y Las Choapas.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Diseño del Estudio Seroepidemiológico

Se realizó un estudio epidemiológico observacional de tipo transversal, estratificado. Las características de inclusión de las unidades de producción para el estudio fue en ganado productor de carne, leche y doble propósito, en edad de reproducción entre 18 y 84 meses de edad, sin importar el antecedente de abortos y seleccionados de forma aleatoria de los municipios ubicados en la zona sur del Estado.

7.2 Tamaño de muestra

El muestreo fue de tipo polietápico estratificado (Kelsey *et al.*, 1986; Silva, 1993), mediante el cual se seleccionaron por conveniencia 4 municipios de los 12 seleccionados de manera aleatoria en el proyecto 37066 Fomix-Conacyt de los 26 que conforman la zona sur del estado de Veracruz.

Se obtuvo el inventario ganadero de cada municipio, así como el padrón de cada Asociación Ganadera Local de los municipios seleccionados. Se utilizó el programa Win Episcopo ver. 2.0 para calcular el tamaño de muestra, para una prevalencia estimada en 10%, error de 5%, y con un nivel de confianza del 95%, así la "n" resultó de 318 bovinos al considerar los inventarios ganaderos de Acayucan (49,276), Cosoleacaque (14,540) Sayula de Alemán (54,395) y Las Choapas (257,256).

CUADRO 12. Distribución del tamaño de muestra de los bovinos en los municipios seleccionados en la sur centro del Estado de Veracruz.

MUNICIPIO	No DE MUESTRAS
Acayucan	37
Sayula de Alemán	42
Cosoleacaque	47

Las Choapas	191
Total	318

7.3 Sitio de estudio El estudio se realizó en 26 ranchos ganaderos de Acayucan, Cosoleacaque, Sayula de Alemán, Las Choapas, municipios ubicados en la zona sur del Estado de Veracruz.

CUADRO 13. Distribución del tamaño de muestra de unidades de producción bovina en los municipios seleccionados en la zona sur del Estado de Veracruz.

MUNICIPIO	No DE UP
Acayucan	3
Sayula de Alemán	3
Cosoleacaque	4
Las Choapas	16
Total	26

Acayucan

Se localiza en la zona sureste del Estado sobre las llanuras del Sotavento, en las coordenadas 17° 57' latitud norte y 94° 55' longitud oeste, a una altura de 100 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Hueyapan de Ocampo, al noreste con Soteapan, al este con Soconusco, al sudeste con Oluta, al sur con Sayula de Alemán y San Juan Evangelista y al oeste con Juan Rodríguez Clara. Su distancia aproximada por carretera a la capital del estado es de 355 kilómetros (INEGI, 2007).

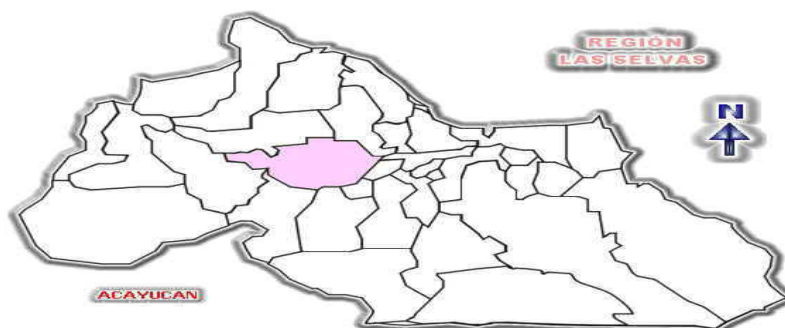


FIGURA 1. Mapa de Acayucan

(Fuente: www.e-local.gob.mx)

Tiene una superficie de 724.65 Km², cifra que representa el 1.00 % del total del Estado. El municipio se encuentra ubicado en la zona sur del Estado, sobre la región de las llanuras del Sotavento. Se encuentra regado por los arroyos San Juan, Michapan, Ixhuapan, Mocotilla y Mexcalapa, tributarios de los ríos Chacalapa y Lalana. Su clima es cálido-regular con una temperatura promedio de 26 °C, y precipitación pluvial media anual, es de un mil 107 mm. Los ecosistemas que coexisten en el municipio son el de selva alta perennefolia con especies de palmares, manglares y pastizales. La fauna esta compuesta por poblaciones de armadillos, ardillas, tejones y conejos. Su riqueza esta representada por minerales como el cuarzo, silice y arena sílica. Tiene aproximadamente 850 hectáreas de selvas dispersas en varias comunidades. Su suelo es regular y del tipo luvisol y vertisol, el primero se caracteriza por la acumulación de arcilla y el segundo es duro y presenta grietas. Se destina principalmente para la agricultura y la ganadería, uso del suelo para labor 20, 314 hectáreas; de agostadero 37,683 hectáreas; de selva o acahual 850 hectáreas y 606 de zona urbana (INEGI, 2007).

Cosoleacaque

Se localiza en las llanuras del Sotavento, zona sureste del Estado, en las coordenadas 18° 00' latitud norte y 94° 38' longitud oeste, a una altura de 50 metros sobre el nivel del mar. Su distancia aproximada por carretera a la capital del estado es de 300 Km (INEGI, 2007).

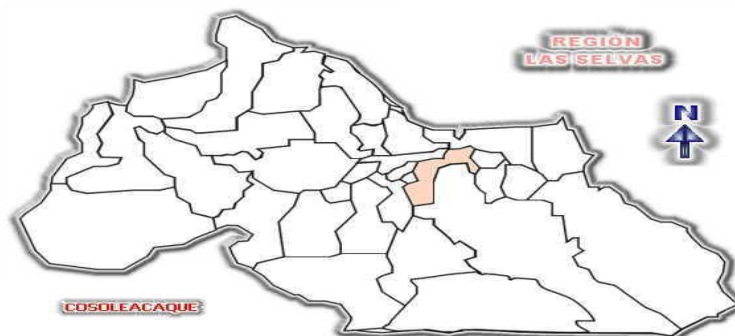


FIGURA 2. Mapa de Cosoleacaque

(Fuente: www.e-local.gob.mx)

Tiene una superficie de 234.42 Km², cifra que representa un 0.32% del total del Estado. El Municipio se encuentra ubicado en la zona sureste del Estado, dentro de la región de las Llanuras del Sotavento, por tanto esta conformado por grandes dimensiones de suelo plano. Se encuentra regado por los ríos Coatzacoalcos y Calzadas. Cuenta con algunos arroyos de caudal permanente como el Tecomate, Naranjo, Ocozoapan y Xasta, otros de caudal eventual como el Quemado, Buena Vista e Idaco. Su clima es cálido-regular con una temperatura promedio de 25 °C; su precipitación pluvial media anual es de 2 mil 900 mm. Los ecosistemas que coexisten en el municipio son el de selva perennifolia con especies como la palma real, cedro, sombrerete, caobilla, guachichile y cedrillo; donde se desarrolla una fauna compuesta por poblaciones de mamíferos silvestres como conejos, armadillos, mapaches, tejones, tepescuintles; aves como patos, grullas, gansos, gavilanes, pichos y zopilotes y, reptiles venenosos. Su riqueza está representada por minerales como el silicio. Su suelo constituye grandes planicies, es de tipo luvisol que presenta acumulación de arcilla en el subsuelo con alta susceptibilidad a la erosión. En una proporción media lo dedican a la agricultura y ganadería (INEGI, 2007).

Sayula de Alemán

Se encuentra ubicado en la zona sureste del Estado, en las Llanuras del Sotavento, en las coordenadas 17° 53" latitud norte y 94° 57" longitud oeste, a una altura de 80 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Acayucan; al este con Oluta y Texistepec; al sur con Jesús Carranza; al oeste con San Juan Evangelista. Su distancia aproximada al sureste de la capital del Estado es de 382 Km. por carretera (INEGI, 2007).



FIGURA 3. Mapa de Sayula de Aleman

(Fuente: www.e-local.gob.mx)

Tiene una superficie de 640.76 Km², cifra que representa 0.88% total del Estado. El municipio se encuentra ubicado en la zona central sureste del Estado; dentro de las llanuras del Sotavento. Se encuentra regado por ríos tributarios del San Juan, que es tributario del río Papaloapan y por otros afluentes del río Chiquito, brazo del Coatzacoalcos. Su clima es cálido-regular con una temperatura promedio de 27° C; su precipitación pluvial media anual es de 1,650 mm. Los ecosistemas que coexisten en el municipio son el de bosque alto tropical perennifolio con especies como la caoba, amate, huapaque, jiniquil, macayo, palo de agua, rosa morada, bari, zapote de agua y barboso, donde se desarrolla una fauna compuesta por poblaciones de armadillos, tlacuaches, ardillas, conejos y tuzas. Su riqueza está representada por minerales como el hierro, arena sílica y arcilla; entre su vegetación sobresalen las maderas preciosas. Su suelo es de tipo luvisol, se caracteriza porque tiene acumulación de arcilla en el subsuelo. En la agricultura y ganadería se utiliza más o menos en un porcentaje del 50% (INEGI, 2007).

Las Choapas

Se encuentra ubicado en la zona sureste del estado, en las coordenadas 17° 55´ de latitud norte y 94° 06´ de longitud oeste, a una altura de 10 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Coatzacoalcos; al noroeste con Moloacán; al oeste con Minatitlán; al sur con los estados de Oaxaca y Chiapas; al este con el estado de Tabasco. Su distancia aproximada por carretera a la capital del estado, es de 490 Km (INEGI, 2007).

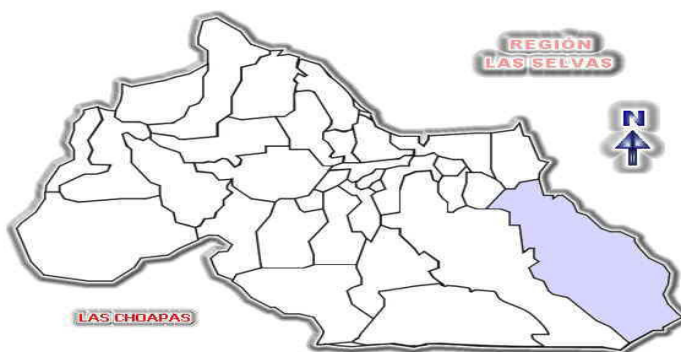


FIGURA 4. Mapa de Las Choapas

(Fuente: www.e-local.gob.mx)

Tiene una superficie de 2,851.20 Km², cifra que representa un 3.92% total del estado. El municipio se encuentra ubicado en la zona limítrofe del sureste del estado, recorrido en gran parte por la Sierra Madre Oriental, que procedentes de Chiapas y Oaxaca penetra a Veracruz precisamente por este municipio, lo que hace irregular su topografía en donde destacan los cerros Colorado, Brujo, Jimbal, Flores, Guao, Pelón, Mancuernillas y otros. Se encuentra regado por los ríos Pedregal, Tonalá; Nanchital; Tiene además, las lagunas de San Pedro y Tecuanapa y los arroyos el Remolino y el Control. Su clima es cálido-regular con una temperatura promedio de 27° C; su precipitación pluvial media anual es de 2,900 milímetros. Los ecosistemas que existen en el municipio son los de selva baja perennifolia y caducifolia. Está compuesta por poblaciones de conejos, armadillos, ratas, venados, aves canoras, de rapiña y reptiles. Su riqueza minera está representada por un banco de material y por otro de grava; la vegetación sobresale por maderas preciosas. Además, cuenta con yacimientos petroleros. Su suelo es de tipo gleysol, se caracteriza por ser pantanoso en época de lluvias y poco susceptible a la erosión. Casi una tercera parte se dedica a la agricultura (INEGI, 2007).

7.4 Aplicación de Encuesta

Como herramienta de investigación complementaria en cada una de las explotaciones se aplicó un cuestionario para identificar a los bovinos muestreados, en donde se incluyeron las siguientes variables: identificación del bovino, edad, raza, etapa reproductiva, función zootécnica, vacunación. Además se aplicó otro cuestionario para encuestar a las unidades de producción con las siguientes variables: identificación del rancho, Tipo de ganado, edad, etapa reproductiva, tipo de alimentación, procedencia del ganado (Anexo 1).

7.5 Toma de muestra sanguínea

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción en la vena coccígea o en la yugular, mediante el uso de tubos al vacío sin anticoagulante (tipo Vacutainer®), se colectó un volumen mínimo de 3 ml.

Las muestras se transportaron a -20 °C en una hielera al laboratorio de Parasitología en la Unidad de Diagnóstico de la Posta Zootécnica "Torreón del Molino" de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana y fueron centrifugadas a 1,000 X g durante 15 minutos para separar el suero.

El suero separado, se depositó en tubos cónicos para microcentrífuga de 1.5 ml y se les mantuvo a -20° C hasta su utilización para practicarles las pruebas serológicas de *Leptospira*.

7.5.1 Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de la leptospirosis se basa en la búsqueda de anticuerpos en animales infectados; el método reconocido a nivel mundial es la prueba de MAT (OMS, 2003), la cual es específica para determinar serovariedades que estuvieron en contacto con los animales.

La prueba diagnóstica se realizó por medio de diluciones dobles seriadas de sueros con soluciones fosfatadas (PBS), que inicia con diluciones de 1:25 y el título final se da en la dilución más alta en donde los anticuerpos son capaces de aglutinar, se tomaron como positivos los sueros que aglutinaron más del 50% de células libres en la dilución de 1:100 y quedaron como sospechosos los que tuvieron menos del 40% de aglutinación, estas diluciones se colocaron en placas y se les aplicó la misma cantidad de antígeno (leptospiras vivas) y en las placas existió un control con la misma cantidad que el que estuvo en los pozos de placa donde se realizó la prueba.

Este se observó al microscopio de campo oscuro a 10x. El control de cada serovar se calificó de acuerdo al grado de aglutinación para seguir así con las demás diluciones, el grado de aglutinación se tomó de acuerdo con la cantidad de células libres observadas en el control de cada serovar.

7.5.2 Diseño estadístico

Para el análisis estadístico de asociación (Thrusfield, 2005), se realizó a nivel descriptivo (prevalencias), con el software Win Episcope 2.0 (Thrusfield *et al.*, 2001) para estudio transversal estratificado en el que se determinó la Razón de Momios (RM) u Odds Ratio (OR).

7.5.3 Analisis de los datos

La seroprevalencia general se determinó para la población total estudiada con la siguiente fórmula:

No. bovinos seropositivos / Total de bovinos muestreados.

La seroprevalencia de hato se determinó al considerar un rancho positivo si al menos se encontró un animal seropositivo, con la formula siguiente:

No. ranchos seropositivos / No. ranchos muestreados.

Para determinar la seroprevalencia dentro de los hatos en estudio se empleó la siguiente fórmula:

No. bovinos seropositivos del rancho / No. de bovinos muestreados en el rancho.

Para determinar la seroprevalencia por edad se empleó la siguiente fórmula:

No. de bovinos positivos de un rango de edad / No. de bovinos muestreados del mismo rango de edad.

Los datos obtenidos se capturaron en una base de datos Excel y se analizaron a través de estadística descriptiva, se determinaron las diferencias entre diversos grupos mediante χ^2 con el programa Win Episcope Ver. 2.0. y se calcularon los intervalos de confianza con un 95% de confianza (Trusfield, 2005).

La Razón de Momios (RM) se calculó con la siguiente fórmula (Smith, 1995):

$$RM = (A/C) / (B/D)$$

Donde: A = No. de bovinos seropositivos con antecedentes de abortos.

C = No. de bovinos seronegativos con antecedentes de abortos.

B = No. de bovinos seropositivos sin antecedentes de abortos.

D = No de bovinos seronegativos sin antecedentes de abortos.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Seroprevalencias

El presente estudio permitió conocer la seroprevalencia de infección por *Leptospira* spp. en los diferentes municipios de estudio de la zona centro del estado de Veracruz. La prevalencia general fue de 42.13% (134/318) animales positivos (OR=0.994; IC_{95%}: 0.631-1.568), el rango de seroprevalencias en los municipios se encuentra entre el 20.94 (40/191) (OR=0.367; IC_{95%}: 0.197-0.685) y 100% (38/38). Se reporta la existencia de la distribución de la infección por *Leptospira* spp al encontrarse animales seropositivos en todas las unidades de producción de los municipios incluidos en el estudio. Los resultados para cada uno de los municipios mencionados se detalla en el cuadro 14.

CUADRO 14. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra *Leptospira* ssp en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	ANIMALES POSITIVOS	ANIMALES NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Cosoleacaque	18(38.29)	29(61.70)	47	0.846	0.480-1.491
Sayula	de 38(90.47)	4(9.52)	42	12.430	5.786-26.700

Aleman					
	38(100)	0	38	0	0
Acayucan					
Las Choapas	40(20.94)	51(79.05)	191	0.367	0.197-0.685
TOTAL	134(42.13)	184(57.86)	318	0.994	0.631-1.568

La prevalencia general es similar con respecto a la presentada en el 2000 en México por la Universidad Autónoma Metropolitana con un 39.8% de prevalencia de *Leptospira* en cerdos de granja, pero mayor a la presentada por Barragán en 1995 en Banderilla, Veracruz con una prevalencia de 2.9%. Mateu (1991) en Veracruz en bovinos de la Posta Zootécnica Torreón del Molino reportó una prevalencia de 75.6 %, Solana (1993) en la zona centro del estado de Veracruz reportó una prevalencia de 86.8% en bovinos y en el 2000 Lima reporta una prevalencia de 33.01% en perros de la zona conurbada de la ciudad de Veracruz. Como las prevalencias obtenidas en los cuatro municipios de este estudio variaron desde 20.94% (OR=0.367; IC_{95%}:0.197-0.685), la menor y 100%, la mayor; las diferencias se ven influenciadas al tipo de manejo de los animales, medidas zoonosanitarias y a la convivencia del individuo con otras especies domésticas y con fauna nociva.

La mayor seroprevalencia se encuentra en el municipio de Acayucan con 100%. En 1993, Fernández *et al* realizó en el valle de Atlixco, Pue., un estudio donde obtuvo una prevalencia de 84.48%, Solana (1993) una prevalencia de 86.8% que es mucho mayor la reportada en los estados de Tabasco 84.6% por Solís (1997) , 32.0% por Gil (1997), 76.1 por Baez (2003), en el estado de Campeche 75.3% por Cano (2003), 28.5% por Gil (1997), en el estado de Chiapas 29.7% por Gil (1997), 35% por Torres (2000). La menor seroprevalencia se encuentra en el municipio de Las Choapas 20.94% (40/191) (OR=0.367; IC_{95%}:0.197-0.685). Así en comparación con el estudio realizado por Varela (1961), en 19 estados de la República Mexicana, encontró que de la 41 localidades estudiadas, Villahermosa ocupaba el sexto lugar con una seroprevalencia general del 28.7% y la reportada por Gil de 28.5% (1997) seroprevalencias similares a la del municipio de Las Choapas.

Como se observa en el cuadro 15, se aprecia que la prevalencia de las UP ocho y nueve, pertenecientes al municipio de Acayucan, la cuatro 4 del municipio de Cosolecaque, la seis y siete del municipio de Sayula de Aleman, y la 13 y 25

pertenecientes al municipio de Las Choapas, son las UP con mayor prevalencia de todo el grupo muestral y conducen a una prevalencia mayor a la estimada en la hipótesis; así también, se observa que en el municipio de Acayucan se obtuvo la mayor prevalencia de animales positivos que en los otros y cabe mencionar, que de las UP con mayor seropositividad la número ocho perteneciente al municipio de Acayucan, la número seis perteneciente al municipio de Sayula de Alemán, y la número 25 del municipio de Las Choapas la prevalencia encontrada fue 100 %. En todas las UP evaluadas se presentó al menos un animal seropositivo.

CUADRO 15. Seroprevalencia (%) contra leptospirosis en las UP de la zona sur del estado de Veracruz.

UP	MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
1	Cosoleacaque	3(21.42)	11(78.57)	14	0.367	0.197-0.685
2	Cosoleacaque	10(71.42)	4(28.57)	14	3.381	1.880-6.079
3	Cosoleacaque	1(7.14)	13(92.85)	14	0.104	0.044-0.247
4	Cosoleacaque	13(92.85)	1(7.14)	14	18.350	7.727-43.540
5	Sayula de Aleman	11(78.57)	3(21.42)	14	5.195	2.784-9.695
6	Sayula de Aleman	14(100)	0	14	0	0
7	Sayula de Aleman	14(93.33)	1(6.66)	15	18.350	7.727-43.540
8	Acayucan	14(100)	0	14	0	0
9	Acayucan	13(92.85)	1(7.142)	14	18.350	7.727-43.560
10	Acayucan	8(80)	2(20)	10	5.524	2.940-10.380
11	Las Choapas	3(21.42)	11(78.57)	14	5.195	2.784-9.695
12	Las Choapas	1(12.5)	7 (87.5)	8	0.188	0.091-0.388
13	Las Choapas	13(92.85)	1(7.14)	14	18.350	7.727-43.560
14	Las Choapas	1(7.14)	13(92.85)	14	0.104	0.044-0.247
15	Las Choapas	0(0)	14(100)	14	0	0
16	Las Choapas	1(14.28)	6(85.71)	7	0.225	0.113-0.448
17	Las Choapas	3(50)	3(50)	6	1.381	0.790-2.413
18	Las Choapas	1(11.11)	8(88.88)	9	0.171	0.081-0.358
19	Las Choapas	7(58.33)	5(41.66)	12	1.907	1.088-3.344
20	Las Choapas	4(40)	6(60)	10	0.921	0.524-1.618
21	Las Choapas	2(14.28)	12(85.71)	14	0.225	0.113-0.448

22	Las Choapas	1(7.14)	13(92.85)	14	0.104	0.044-0.247
23	Las Choapas	2(14.28)	12(85.71)	14	0.225	0.113-0.448
24	Las Choapas	1(7.14)	13(92.85)	14	0.104	0.044-0.247
25	Las Choapas	15(100)	0	15	0	0
26	Las Choapas	1(7.14)	13(92.85)	14	0.104	0.044-0.247
TOTAL		134(42.13)	184(57.86)	318		

En el presente estudio se han encontrado 11 serovares diferentes los cuales son similares a los utilizados por Perret (2007) al realizar un trabajo para determinar la prevalencia de leptospirosis canina en 400 perros de la provincia de Valdivia en Chile, donde cada suero se enfrentó a ocho serovares de *leptospira*, de los cuales la mayoría reaccionaron a los serovares *L. carneola*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. ballum*. Moles, et al. (2002) realizó un estudio en varias regiones de México, donde se analizaron 4,043 sueros de bovinos donde las serovariedades más frecuentes de *Leptospira interrogans* fueron *L. hardjo*, *L. wolffi* y *L. tarassovi*. Asimismo, en el año 2003 se identificó que en todos los estudios analizados la serovariedad *L. hardjo*, *L. hardjo-89* y *L. wolffi*, son los que presentan mayores proporciones de positividad (Moles et al., 2002).

Fernández et al. (1993) realizó un estudio en el valle de Atlixco, Pue. en bovinos de hatos lecheros, en donde fueron muestreados 116 animales y donde la serovariedad con mayor número de reactores fue *L. icterohaemorrhagiae* con una frecuencia de 45.69%. Le siguen en orden decreciente *L. pyrogenes* con 21.55%, *L. pomona* con 13.8%, *L. canicola* y *L. celledoni* con 12.93% y el resto de las serovariedades reaccionaron en menor grado. De las 18 serovariedades que se emplearon para el diagnóstico de las muestras séricas, sólo *L. tarassovi* resultó negativa siempre. Solana (1993) también realizó pruebas para la determinación de anticuerpos contra leptospirosis bovina, se colectó 312 sueros de bovino que fueron sometidos a prueba de MAT. Las serovariedades identificadas fueron *L. icterohaemorrhagiae* 25%; *L. grippotiphosa* 8%; *L. wolffi* 5%; *L. ballum* 17%; *L. sejroie* 15%; *L. tarassovi* 69%; y *L. bataviae* 58%. Barragán (1994), realizó la identificación de serovares, control y tratamiento de leptospirosis bovina en el municipio de Banderilla, Ver. donde se procesaron los sueros de 58 bovinos mediante la técnica de MAT; en el primero, 5 (2.9%) resultaron positivos, 35 (20.3%) negativos y 18 (10.44%) sospechosos, a las serovariedades de *L. ballum*, *L. bataviae* y *L. canicola*.

En el cuadro 16 se observa que el serovar *L. tarassovi* se encuentra ampliamente distribuido en los municipios de Acayucan con 47.36% (OR=5.447; IC_{95%}: 2.738-10.840) y Sayula de Aleman 40.47% (OR=4.095; IC_{95%}: 2.050-8.183) de prevalencia, esta prevalencia es mayor a las presentadas por Solis 9% (1997), 18% por Baez (2003), 5.9% por Cano (2003), 0.02 y 4% por Gil (1997), 2.3 % por Torres (2000) y 7.1% presentado por al Universidad Autonoma Metropolitana (2000), pero menor al 53.3% en Yucatan por Sapúlveda (2000), Veracruz por Mateu 69.4% (1991), y los 214 casos presentados por Solana (1991). Por otro lado, el serovar *L. tarassovi* aparece como uno de los mas importantes al tener en cuenta que es un serovar ligado a fallas reproductivas y a leptospirosis porcina. Mateu (1991) mediante la prueba de MAT, con la utilización de 11 serovares de leptospiras y se observó que 119 (75.6%) animales resultaron positivos a uno o mas serovares, 20 (12.7%) sospechosos y 18 (11.5%) animales negativos. Así lo encontrado en el presente trabajo es menor, pero cabe mencionar que el municipio de Las Choapas tiene la prevalencia mas baja y puede considerarse como un factor de protección contra este serovar con una prevalencia de 2.094% (OR=0.190; IC_{95%}: 0.053-0.684).

CUADRO 16. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. tarassovi* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	18(47.36)	20(52.63)	38	5.447	2.738-10.840
Cosoleacaque	7(14.89)	40(85.10)	47	1.084	0.493-2.383
Sayula de Aleman	17(40.47)	25(59.52)	42	4.095	2.050-8.183
Las Choapas	4(2.094)	187(97.90)	191	0.190	0.053-0.684
TOTAL	46(14.16)	272(85.53)	318		

En el cuadro 17 se observa que las mayores prevalencias de *L. wolffy* se presentan en los municipios de Acayucan 50% (OR=8.091; IC_{95%}: 3.864-16.940) y Sayula de Alemán 38.09% (OR=4.959; IC_{95%}: 2.353-10.450), la prevalencia de Acayucan es muy similar a la prevalencia encontrada por Cano (1997) de 49.7% en Campeche, 45% presentada por Solis (1997) en Tabasco, menor al 54.2% reportado por Baez (2003), al 54.1% presentado por Mateu (1991) en Veracruz, en lo que respecta a la

prevalencia del municipio de Sayula de Aleman esta es mayor a la reportada por Gil 13.6 y 19% (2002), al 17% reportado en Chiapas por Gil y al 7.7 por Torres (2000) y menor al 49.7% por Cano (1997) en Campeche, 45% presentado por Solis (1997) en Tabasco, 13.6% por Gil (2002) en Tabasco, menor al 54.2% reportado por Baez (2003), al 54.1 presentado por Mateu (1991) en Veracruz, y se puede mencionar que el municipio de Cosoleacaque (47/47) y Las Choapas (191/191) tiene 0 animales positivos a este serovar y podria considerarse un factor de protección contra éste.

CUADRO 17. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra serovar el *L. wolffy* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	19(50)	19(50)	38	8.091	3.864-16.940
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Aleman	16(38.09)	26(61.90)	42	4.959	2.353-10.450
Las Choapas	0	191	191	0	0
TOTAL	35(11.00)	283(88.99)	318		

En lo que respecta al cuadro 18 se encontró que la seroprevalencia para de *L. hardjo* fue alta en los municipios de Acayucan 52.63% (OR=5.137; IC_{95%}: 2.698-9.780) y de Sayula de Alemán 54.76% (OR=5.568; IC_{95%}: 2.922-10.610), la cual son mayores a presentada en Chiapas 13.3%, Campeche 28.5% , Tabasco 49%, presentadas por Gil (1997), Torres (2000), Solis (1997), respectivamente, pero esta es menor a la presentada por Mateu (1991) en Veracruz para el serovar *L. hardjo* con 69.4% .

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	20(52.63)	18(47.36)	38	5.137	2.698-9.780
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Aleman	23(54.76)	19(45.23)	42	5.568	2.922-10.610
Las Choapas	15(7.85)	176(92.14)	191	0.396	0.164-0.959
TOTAL	58(18.23)	260(81.76)	318		

CUADRO 18. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. hardjo* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

En lo que respecta al cuadro 19 referente al serovar serovar *L. hardjo de aislamiento* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz hay existen reportes de Gil (1997), Solis (1997), Torres (2000), en los estados de Tabasco 64%, Chiapas 23.3%,Campeche 67.4%, En Hidalgo se llevó a cabo el aislamiento y tipificación de la bacteria a partir de un feto abortado, en la Universidad Autonoma Metropolitana. Además reportó prevalencias muy similares a las presentadas en este estudio 69.04% (OR=0.424; IC_{95%}: 0.214-0.839) para el municipio de Sayula de Alemán y 60.52% (OR= 0.298; IC_{95%}: 0.153-0.582) para el municipio de Acayucan, cabe mencionar que el municipio de Cosoleacaque y Las Choapas, no tuvieron animales positivos.

CUADRO 19. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. hardjo de aislamiento* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	23(60.52)	15(39.47)	38	0.298	0.153-0.582
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Aleman	29(69.04)	13(30.95)	42	0.424	0.214-0.839
Las Choapas	0	191	191	0	0
TOTAL	52(16.35)	266(83.64)	318		

En cuanto al cuadro 20 del serovar *palo alto icterohaemorrhagiae de aislamiento*, se tuvo una prevalencia alta en el municipio de Acayucan 78.94% (OR=15.050; IC_{95%}:7.572-29.900) y Sayula de Aleman 78.57% (OR=15.050; IC_{95%}:7.572-29.900) se tiene el reporte de la Universidad Autonoma Metropolitana con una prevalencia del 14.5% y se tienen aislamientos de la bacteria en fetos.

CUADRO 20. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. icterohaemorrhagiae* Palo Alto de aislamiento en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	30(78.94)	8(21.05)	38	15.050	7.572-29.900
Cosoleacaque	0	47	0	0	0
Sayula de Aleman	33(78.57)	9 (21.42)	42	15.050	7.572-29.900
Las Choapas	0	191	0	0	0
TOTAL	63(19.81)	255(80.18)	318		

Como se observa en el cuadro 21, las prevalencias de Cosoleacaque 23.40% (IC_{95%} 1.616-9.745=OR 3.980) y 5.23%(IC_{95%} 0.214-2.282=OR 0.699) de Las Choapas en este estudio tienen similitud al 21.55% reportado por Fernández *et al.* (1993) en el Valle de Atlixco, Pue, o a lo reportado por Luna *et al.* (1996) que obtuvieron una prevalencia para *L. pyrogenes* de 26%.

CUADRO 21. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. pyrogenes* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	0	0	0
Cosoleacaque	11(23.40)	36(76.59)	47	3.980	1.616-9.745
Sayula deAleman	0	42	0	0	0
Las Choapas	10(5.23)	181(94.76)	191	0.699	0.214-2.282
TOTAL	21(6.60)	297(93.39)	318		

En el cuadro 22 se observa la presencia del serovar *L. lai lai* en los municipios de Cosoleacaque y Sayula de Alemán, los estudios e información sobre este serovar son casi nulos ya que se considera un serovar exótico y sólo se ha citado y utilizado para trabajos experimentales realizados por Isogai *et al* (1990), en los cuales cobayos han sido inmunizados con fragmentos de proteínas que conforman la capa externa de la *Leptospira lai lai* obteniéndose así que semanas después, éstos obtuvieran una inmunidad de casi el 100% contra el serovar *L. lai lai*, así el municipio de

Cosoleacaque la mayor prevalencia con 6.38% (OR=2.064; IC_{95%}:0.502-8.493), se observa una baja presencia en el municipio de Las Choapas con 2.61% (OR=1.000; IC_{95%}:0.197-5.078).

CUADRO 22. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. lai lai* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	0	0	0
Cosoleacaque	3(6.38)	44(93.61)	47	2.064	0.502-8.493
Sayula de Alemán	0	42	0	0	0
Las Choapas	5(2.61)	186(97.38)	191	1.000	0.197-5.078
TOTAL	8(2.51)	310(97.48)	318		

En el cuadro 23 se puede observar la casi nula presencia del *L. canicola* en los municipios de estudio, siendo el municipio de Las choapas el único con una prevalencia muy baja de 5.75% (OR=2.064; IC_{95%}:0.502-8.493), Groves *et al.* (2000) y Cai *et al.* (2002), indican una tendencia cambiante en la epidemiología de la enfermedad, donde los serovares *L. grippityphosa* y *L. pomona* han reemplazado a *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola* como los serovares prevalentes responsables de leptospirosis canina y la leptospirosis bovina.

CUADRO 23. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. canicola* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	38	0	0
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Alemán	0	42	42	0	0
Las Choapas	11(5.75)	180(94.24)	191	2.064	0.502-8.493
TOTAL	11(3.45)	307(96.54)	318		

Recientemente González (2001) estudió la seroprevalencia de leptospirosis en Puebla, Chihuahua y Tabasco. Para la serovariedad *L. Pomona* encontró una seropositividad de 26% en Puebla, en Chihuahua 35%, en Tabasco 13.2%, que son

mayores a la prevalencia obtenida en los municipios de la zona sur donde su prevalencia es muy baja.

CUADRO 24. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. pomona* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	38	0	0
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Alemán	0	42	42	0	0
Las Choapas	9(4.71)	182(95.28)	191	1.702	0.396-7.321
TOTAL	9(2.83)	309(97.16)	318		

Sebek y Vlcek (1990), Gravekamp *et al.* (1991) Kahn *et al.* (1991), Kita y Anusz (1991), Kuiken *et al.* (1991), Zieris (1991), Modric y Huber (1993), Howeerth *et al.* (1994) citan que *L. bratislava* son serovares presentes en el cerdo, en este estudio tuvo casi nula presencia, pues estuvo presente en el municipio de las Choapas con 4.71%(OR=5.211; IC_{95%}:0.598-45.430).

CUADRO 25. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. bratislava* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	38	0	0
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Alemán	0	42	42	0	0
Las Choapas	4(4.71)	187(95.28)	191	5.211	0.598-45.430
TOTAL	4(1.25)	314(98.74)	318		

En el cuadro 26 se puede observar la baja presencia de *L. autatumnalis* en los municipios, solo habiendo presencia en Las Choapas con 4.71% (OR= 5.211; IC_{95%}: 0.598-45.430) existen reportes de prevalencias o aislamientos de este serovar en

bovinos en México, solo se han obtenido aislamiento en fauna silvestre en el Zoológico de la Ciudad de México con una prevalencia del 2% y títulos de 1:1,600 (Luna *et al.*, 1996).

CUADRO 26. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *autatumnalis* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	38	0	0
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Alemán	0	42	42	0	0
Las Choapas	5(2.61)	186(97.38)	191	1.515	0.248-9.270
TOTAL	5(1.57)	313(98.42)	318		

Para el año de 1993, también se realizaron pruebas para la determinación de anticuerpos contra leptospirosis bovina en la zona centro del estado de Veracruz (Solana, 1993). Se colectaron 312 sueros de bovino y que correspondieron al tamaño aproximado de la muestra requerida para estimar la prevalencia en una población de 2,000 bovinos. Los sueros fueron sometidos a prueba de MAT con antígenos de las 11 serovariedades. De este modo, 271 sueros titularon como positivos (86.8%), 25 resultaron sospechosos (8%) y 16 negativos (5%); sin embargo, se identificaron 15 casos(6%) del serovar *L. ballum* y en este trabajo se determinó una prevalencia de 3.66% (OR=2.042; IC_{95%}: 0.365-11.410).

CUADRO 27. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. ballum* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	38	0	0
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Alemán	0	42	42	0	0
Las Choapas	7(3.66)	184(96.33)	191	2.042	0.365-11.410
TOTAL	7(2.20)	311(97.79)	318		

Se identificaron del serovar *L. grippothyphosa* cuatro casos 2.20% de prevalencia general y el serovar *L. grippothyphosa* solo tuvo presencia en el municipio de Las

Choapas con cuatro casos 2.09% (OR= 2.042; IC_{95%}: 0.365-11.410), Fernández *et al.* (1993) realizó un estudio en el valle de Atlixco, Pue. en bovinos de hatos lecheros, en donde fueron muestreados 116 animales, pero la serovariedad con mayor número de reactores fue *L. grippothyphosa* con una frecuencia de 45.69%. También en el zoológico de la Ciudad de México se obtuvieron muestras que fueron analizadas y donde se aisló al serovar *L. grippothyphosa* con 12% de prevalencia y título de 1:1600.

CUADRO 28. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra el serovar *L. grippothyphosa* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	38	0	0
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Alemán	0	42	42	0	0
Las Choapas	4(2.09)	187(97.90)	191	1.000	0.138-7.242
TOTAL	4(2.20)	314(97.79)	318		

Se identificaron del serovar *L. muenchen* 2 casos positivos 1.04% (OR=1.000; IC_{95%}: 0.062-16.210), prevalencia más baja que la obtenida por Noriega (2009) que fue para los municipios de Papantla de 2.35%, Coyutla de 2.77% y Tecolutla de 2.04%; sin embargo, este serovar sólo tuvo presencia en el municipio de Las Choapas con 1.04% (OR=1.000; IC_{95%}: 0.062-16.210).

CUADRO 29. Seroprevalencia (%) de anticuerpos contra *Leptospira* serovar *L. muenchen* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz.

MUNICIPIO	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Acayucan	0	38	38	0	0
Cosoleacaque	0	47	47	0	0
Sayula de Alemán	0	42	42	0	0
Las Choapas	2(1.04)	189(98.95)	191	1.000	0.062-16.210
TOTAL	2(0.62)	316(99.37)	318		

8.2 Factores de riesgo

En el cuadro 30 se detalla que las prevalencias se encuentran entre 22.52% (OR= 0.412; IC_{95%}:0.224-0.761) y un 67.27% (OR=2.804; IC_{95%}:1.577-4.986) y como factor de protección, ser un animal de 49-60 meses de edad 22.52% (OR= 0.412; IC_{95%}: 0.224-0.761). Con respecto a las demás variables comparadas se observa que a mayor edad existe una mayor seroprevalencia (67.27%) y como factor de riesgo si se trata de un animal entre 73 y 84 meses de edad (OR= 2.804; IC_{95%}: 1.577-4.986); sin embargo Mateu (1991), cita que a mayor edad existe mayor posibilidad de contraer leptospirosis por existir una mayor exposición y coincide también con lo descrito por Guerreiro *et al.* (2002) en el sentido de que la edad es un factor predisponente para la adquisición de la leptospirosis.

CUADRO 30. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo a la edad en el ganado bovino en la zona sur del estado de Veracruz.

EDAD/MESES	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	IC 95%
18-24	14(51.85)	13(48.14)	27	1.496	0.856-2.614
25-36	26(50.98)	25(49.01)	51	1.437	0.823-2.511
37-48	19(45.23)	23(54.76)	42	1.130	0.646-1.977
49-60	25(22.52)	86(77.47)	111	0.412	0.224-0.761
61-72	17(51.51)	16(48.48)	33	1.496	0.856-2.614
73-84	37(67.27)	18(32.72)	55	2.804	1.577-4.986
TOTAL	134(42.13)	184(57.86)	318		

De acuerdo con la variable raza, se detalla en el cuadro 31 que las prevalencias se encuentran entre el 25.33% (OR=0.460; IC_{95%}: 0.252-0.841) y el 100%. Se compararon los grupos raciales entre si y se encontró que existe un factor protector para los animales criollos con una prevalencia de 25.33% (OR= 0.460; IC_{95%}: 0.252-0.841), y como factor de riesgo se encontró a las razas Simmental 89.47% (OR= 11.170; IC_{95%}: 5.322-23.460), Beefmaster 88.23% (OR=10.130; IC_{95%}: 4.919-20.850) y Simbrah 89.47% (OR= 10.130; IC_{95%}: 5.322-23-460).

En los resultados de este estudio en cuanto a raza, se observó la prevalencia más alta de 89.47% en animales de raza Simmental, y la prevalencia mas baja se encontró en animales criollos 25.33% estableciéndose así una similitud con lo reportado por

(Solana, 1993), donde se observó que los bovinos de razas provenientes de encastes *Bos taurus* eran mas susceptibles de contraer la enfermedad que los bovinos de razas provenientes de encastes *Bos Indicus*.

CUADRO 31. Factores de riesgo asociado a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo a la raza en el ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz.

RAZA	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Criollo	38(25.33)	112(74.66)	150	0.460	0.252-0.841
Cebu	21 (42.85)	28(57.14)	49	1.042	0.595-1.825
Suizo	19(48.71)	20(51.28)	39	1.327	0.759-2.318
Simbrah	15(88.23)	2(11.76)	17	10.130	4.919-20.850
Beefmaster	15(88.23)	2(11.76)	17	10.130	4.919-20.850
Sta Gertrudis	1(100)	0	1	0	0
Simmental	17(89.47)	2(10.52)	19	11.170	5.322-23.460
brangus	8(32)	17(68)	25	0.650	0.365-1.159
Jersey	0	1(100)	1	0	0
TOTAL	134(42.13)	184(57.86)	318		

Se tiene poca información sobre factores de riesgo asociados a la procedencia del ganado bovino, pero en lo que respecta a este trabajo, se obtuvo una prevalencia de la variante nacido en la unidad de producción de 50% (OR=1.308; IC_{95%}:0.790-2.413) pero cabe mencionar que la variante comprado puede considerarse como un factor de riesgo con una prevalencia de 31.34% (OR=3.074; IC_{95%}:1.720-5.494) como se aprecia en el cuadro 32.

CUADRO 32. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo a la procedencia en el ganado bovino de la zona sur del estado de Veracruz.

PROCEDENCIA	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
NACIDO EN UP	92(50)	92(50)	184	1.308	0.790-2.413
COMPRADO	42(31.34)	92(68.65)	134	3.074	1.720-5.494
TOTAL	134	184	318		

En cuanto al tipo de animal en estudio, se puede observar en el cuadro 33 que las vacas con más de cinco partos fueron las que mayor prevalencia presentaron 85.36% (OR=7.825; IC_{95%}:0.171-0.613), por lo que se considera como un factor de riesgo, pero ser una vaca de 3 a 5 partos 19.23% (OR= 0.324; IC_{95%}: 0.171-0.613) es un factor de protección.

CUADRO 33. Factores de riesgo asociado a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo a la etapa reproductiva en el ganado bovino en la zona sur del estado de Veracruz.

TIPO ANIMAL	DE	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Becerra		14 (66.66)	7 (33.33)	21	2.804	1.577-4.986
Vaquilla		20 (19.23)	84 (80.76)	104	0.324	0.502-1.553
Vaca de Primer Parto		17 (40.47)	25 (59.52)	42	0.921	0.524-1.618
Vaca de Segundo Parto		36 (80)	45 (54.87)	81	2.009	1.188-3.395
Vacas de 3 a 5 Partos		35 (19.23)	84 (80.76)	104	0.324	0.171-0.613
Vacas con mas de 5 Partos		11 (85.36)	6 (14.63)	41	7.825	3.974-15.410
TOTAL		134	184	318		

En cuanto al factor de riesgo asociado al tipo de alimentación, no se tienen antecedentes sobre trabajos similares, pero aquí se obtuvo una prevalencia de la variable monte y pastizales de 37.93% (OR=0.950; IC_{95%}: 0.542-1.695) y para la variable Monte, pastizales, concentrado 50% (OR=1.564; IC_{95%}: 0.892-2.742) que no tiene ninguna conclusión.

(%)

(%)

TIPO DE ALIMENTACION	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Monte y pastizales	110(37.93)	180(62.06)	290	0.959	0.542-1.695
Monte, pastizales, concentrado	14(50)	14(50)	28	1.564	0.892-2.742
TOTAL	124(38.99)	194(61.00)	318		

CUADRO 34. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo al tipo de alimentación en el ganado bovino en la zona sur del estado de Veracruz.

No se encuentran informes sobre la asociación que existe entre la presencia de leptospirosis y el tipo de ganadería en ganado bovino. Así en este estudio, se obtuvieron prevalencias en etapas productivas de los bovinos de lo que se puede concluir que el ser ganado lechero es un factor de riesgo con una prevalencia de 74.35% (OR= 3.930; IC_{95%}: 2.162-7.146) además la variable doble propósito puede considerarse como un factor de protección con una prevalencia de 27.38% (OR=0.511; IC_{95%}: 0.282-0.925) como se observa en el cuadro 35.

CUADRO 35. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo al tipo de ganadería en el ganado bovino en la zona sur del estado de Veracruz.

TIPO DE GANADERIA	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Pie de cría	50(50)	50(50)	100	1.381	0.790-2.413
Ganado lechero	29(74.35)	10(25.64)	39	3.930	2.162-7.146
Ganado de carne	12(54.54)	10(45.45)	22	1.688	0.965-2.953
Doble propósito	43(27.38)	114(72.61)	157	0.511	0.282-0.925
TOTAL	134(42.13)	184(57.86)	318		

No se tiene reporte sobre la asociación entre la presencia de leptospirosis y la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo al manejo de la placenta en ganado bovino, pero en este estudio se obtuvo que la variable enterrar la placenta es un factor de protección para una prevalencia de 21.42% (OR=0.367; IC_{95%}: 0.197-0.685) como se observa en el cuadro 36.

CUADRO 36. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo al manejo de la placenta en el ganado bovino en la zona sur del estado de Veracruz.

FACTOR DE RIESGO	DE	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
Entierra placenta	la	3(21.42)	11(78.57)	14	0.367	0.197-0.685
Deja tirada placenta	la	117(40.34)	173(59.65)	290	0.921	0.524-1.618
Come placenta perro	el	14(100)	0(0)	14	0	0
TOTAL		134(42.13)	184(57.86)	318		

En el cuadro 37 se puede observar que las variables sobre el manejo de los animales demostró no tener relación con la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* en los municipios de la zona sur del estado de Veracruz

CUADRO 37. Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp de acuerdo al manejo del ganado bovino en la zona sur del estado de Veracruz.

MANEJO DE LOS ANIMALES	(%) POSITIVOS	(%) NEGATIVOS	TOTAL	OR	I. C. 95%
No se junta con el ganado vecino	121(41.01)	174(58.98)	295	0.960	0.547-1.684
Si se junta con el ganado vecino	13(56.52)	10(43.47)	23	1.831	1.045-3.207
TOTAL	134(42.13)	184(57.86)	318		

9. CONCLUSIONES

9.1 La leptospirosis es una enfermedad presente en las UP de los municipios de la zona sur.

9.2 Todos los hatos evaluados presentaron al menos un animal seropositivo, lo cual indica que las UP muestreadas de la zona sur han sido expuestas a la leptospirosis.

9.3 Los serovares más frecuentes en los municipios de la zona sur son *L. icteorhaemorrhagiae de aislamiento*, *L. hardjo de aislamiento*, *L. tarassovi*, y *L. wolffy*.

9.4 Las vacas con más de 5 partos son un factor de riesgo para la leptospirosis.

9.5 Las razas europeas o de encaste europeo, son más susceptibles a poder contraer leptospirosis.

9.6 El ganado lechero es un factor de riesgo a la presencia de leptospirosis en los municipios de la zona sur del estado Veracruz.

9.7 Las vacas de 3 a 5 partos son un factor de protección.

9.8 Los bovinos criollos fueron un factor de protección.

9.9 Enterrar la placenta es un factor de protección.

10. RECOMENDACIONES

10.1 Identificar y realizar estudios serológicos de vacas que aborten.

10.2 Aislamiento de las vacas que aborten mientras tengan descargas uterinas.

10.3 La reposición de vientres debe realizarse con hembras no infectadas (propias o compradas), de preferencia hijas de vacas no rectoras.

10.4 No dejar las hijas de vacas seropositivas para reposición dado su alto riesgo de ser infectadas.

10.5 Evitar que las vacas beban agua en aguajes, arroyos o pastizales.

10.6 Realizar un calendario de vacunación que contenga la vacuna de *leptospira*, con los serovares *L. icterohaemorrhagiae* de aislamiento, *L. hardjo* de aislamiento, *L. tarassovi*, *L. wolffy* que son específicos de la zona o municipio y aplicarla cada 6 meses

10.7 Enterrar la placenta.

10.8 Evitar comprar vacas de más de 5 partos.

11. LITERATURA CONSULTADA

1. Acha P, Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes a los hombres y a los animales. Washington, D.C. Organización Panamericana de la Salud. Public. Científ. No.354 57-62.
2. Acha P, B Szyfres. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. O.P.S., Washington DC, EE.UU. Pp 175-185.
3. Adler B, Faine S. (1977). Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. *Infection and Immunity* 17, 67-72.
4. Adler B., Faine S., Muller H. K., Green. D.E. (1980) Maturation of humoral immune response determines the susceptibility of guinea-pigs to leptospirosis *pathology* 12 529-538.
5. Aidorevich-Soyano C, F García, L Ortega. 1990. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina (Revisión). *Invest Agr Prod Sanid Anim* 16, 205-225.
6. Anderson D.L., Johnson. R. C., (1968). Electron microscopy of immune disruption of leptospies: action of complement and lysosyme. *journal of bacteriology* 95, 2293-2309.
7. Babudieri B. 1958. Animal serovoirs of leptospirosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 70:393.
8. Babudieri B. 1961. Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Bull. WHO* 24:45-58.
9. Castelli A. 1959. Comunicacion personal.
10. Ballard S.A., Williams.M., Adler.B., Faine.S., (1986). Interaccions of virulent and avirulent leptospies with primary cultures of renal epithelial cells. *Journal of Medical Microbiology* 21. 59-67.
11. Barocchi M.A., Ko A.I., Reis M.G., Mc Donald K.L., Riley L.W. (2002). Rapid traslocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans* and invasive but nonintracellula pathogen. *Infection and Immunity* 70 6926-6932. 7.

12. Barragan H.A.T, 1995. 21PP. Identificación, tratamiento y control de leptospirosis bovina en el municipio de Banderilla, Ver. tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia Universidad Veracruzana.

13. Banda R., V.M 2006. Leptospirosis Bovina. Folleto Técnico No. 7. INIFAP. Centro Nacional de Investigaciones Disciplinaria en Microbiología Animal, 32 p.

14. Bolin C.A., Thiermann A.B., Handsaker A.L., Foley J.W., (1989) Effect of vaccination with a pentavalent leptospiral vaccine on *leptospira interrogans* serovar hardjo infection of pregnant cattle. *American Journal of Veterinary Research* 50 161-165

15. Bolin C.A., Zuerner R.L., Trueba G., (1989) Effect of vaccination with a pentavalent leptospiral vaccine containing *leptospira interrogans* serovar hardjo type hardjo-bovis on type hardjo-bovis infection of cattle. *American Journal of Veterinary Research* 50 2004-2008.

16. Branger C., Sonreir C., Chatreinet B., Klonjowski B., Ruvoen- Clouet N., Aubert A., Andre- Fotaine G., Elliot M., (2001). Identification of the hemolysis associated protein 1 as a cross-protective immunogen of *Leptospira interrogans* by adenovirus-mediated vaccination *Infect Immun* 69 6831-6838.

17. Brokie A., Faine S., Adler B., (1977) Adhesion of leptospires to mouse fibroblast (I929) and its enhancement by specific antibody. *Journal of medical Microbiology* 18 73-85.

18. Carroll A. G., Campbell R. S. F. (1987) Reproductive and leptospiral studies on beef cattle in central Queensland. *Australian Veterinary Journal* 64 1-5.

19. Carter y Wise, 1994. Bacterology and Micology, 6th edition, .

21. Cannon RM, Roe RT. 1982. Livestock Disease Surveys: A Field Manual For Veterinarians. Bureau of Animal Health. Camberra, Australia.

22.Cano MS., Córdova IA., Moles LP., Cisneros PMA., Pérez GJF., Diagnostico serológico de leptospirosis en ganado bovino productor de carne XVIII PANVET La Habana, Cuba, del 18 al 22 de noviembre del 2002.

23Cai B., Wyss R., Spitzer S., Jansen E. Sampling for health professionals lifetime learning publication, Belmont, California, USA p56.

24.Cinco M. Banfi H. (1983) Interactions between human polymorphonuclear leukocytes and one strain of pathogenic *leptospira* (*Leptospira interrogans sp.*) and one saprophytic *leptospira* (*L. biflexa sp.*). *FEMS Microbiology letters* 19 51-54.

25.Cisneros S.R., 1994 Leptospirosis. *J Am Vet Med Assoc.*205:1518-1523.

26.Collings S. B. (1987) Serological survey of leptospiral antibodies in cattle in Zimbabwe. *Tropical Animal Health & Production* 19, 209-14.

27.Cordeiro J., Faine S., Adler B., (1981) Adhesion of leptospire to mouse fibroblast (I929) and its enhancement by specific antibody. *Journal of medical Microbiology* 18 73-85.

28.Cullen A., Cordwell S.J., Bulach D.M., Haake D.A., Adler B. (2002) Global analysis of outer membrane proteins from leptospira interrogans serovar Lai *infection and immunity* 70 2331-2346.

29.De Brito T., Prado M. J., Negreiros V. A., Nicastrí A. L., Sakata E. E., Yasuda P.H., Santos R. T., Va A. (1992).Detection of leptospiral antigenic(*L. interrogans* serovar copenhageni serogroup icterohaemorrhagiae) by immunoelectron microscopy in the liver and kidney of experimentally infected guinea-pigs. *International Journal of Experimental Pathology* 73. 633-642.

30.Dedeck A., Vinh T., Faine S., Adler B., (1990). Characterization of an antigenic oligosaccharide from *Leptospira interrogans* serovar Pomona and its role in immunity. *Infection and immunity* 62, 5477-5482.

31. Dierauf L. A., Vandebroek D. J., Roletto J., Koski M., Amaya L., Gage L. J., (1985). An epizootic of leptospirosis in Californian sea lions (*zalophus californianus*) *Journal of the American Veterinary Medical Association* 187 1145-1148
32. Effter., O" Brien J.J., Neill S.D., Bryson D.G. (2002). Bovine leptospirosis: experimental serovar hardjo infection. *Veterinary Medical Association* 187 1145-1148.
33. Espi A. 2000 Aborto de etiología no virica. Colegio oficial de veterinarios de Burgos, pagina web [Sitio en internet] Disponible en <http://www.arraskis.es/cvb/aborto.htm>
34. Faine S., *Leptospira and leptospirosis*. 1993. CRC Press , Boca Ratón , Florida.
35. Faine S. 1987. Guide pour la lutte contre la leptospirose. Geneve: Organisation Mondiale de la Sante; .Publication Offset No.67.
36. Faine S., (1998) Leptospirosis. Chapter 20. *In Bacterial Infections of Humans Epidemiology Control*, pp 395-420. Edited by Evans A.S., Brachman P.S. New York: Plenum Medical.
37. Faine S., (1998) Leptospirosis. Chapter 42. In Topley and Wilson Microbiology and Microbial Infections, pp 849-869. Edited Hausler W. J., Sussman M. London, UK.
38. Faine S., Adler B., Bolin C., Perolat P., (1999). *Leptospira and Leptospirosis* 2nd edn. Melbourne, Australia: MediSci.
39. Farrelly H. E., Adler B., Faine S. (1987). Opsonic monoclonal antibodies against lipopolysaccharide antigens of *leptospira interrogans* serovar hardjo *Journal of medical microbiology*.
40. Fuensalida RW., Alvarez B., 1961. Leptospirosis. *Clin Infect Dis* ;21:1-6.
41. Fernandez J, Reyes V., De la Peña A., 1993. Detección de anticuerpos contra *Leptospira Interrogans* en bovinos de hatos lecheros en el valle de Atlixco , Puebla mediante pruebas de microaglutinación, *Revista veterinaria Mexico*.

42. Gavaldon J, Glass G, Flexner C, Mueller P, Kaslow DC. 1996. Sporadic urban leptospirosis. *Ann Intern Med* 1996; 125:794-798. And pulmonary hemorrhage. Nicaragua, 1997. The Epidemic Working Group at Ministry of Health in Nicaragua *Lancet* 1996
43. Garcia N. 1987. Comunicacion personal.
44. Gil A.L. Situacion de las enfermedades de notificación obligatoria, Antrax, Brucelosis, triquinosis, Leptospirosis, Hidatidosis y Enfermedad de chagas e-vigia. Boletin electrónico mensual de vigilancia epidemiológica. 1997; 24. <http://epi.minsal.cl/evigia/index.htm>
45. Godinez R.C., Zelaya de R. B. Auriolles G.D., Verdugo R.A., Rodriguez R. E. A., De la Peña Moctezuma A. (1999) Antibody against *Leptospira interrogans* in California sea lion pups from seven islands of the Gulf of California. *J. Wildlife Dis* 35 108-111.
46. Gonsales C, Casseb J, Monteiro F, Paula-Neto J, Fernandez R, Silva M, 2001 et al. Use of Doxycycline for leptospirosis after high-risk exposure in Sao Paulo, Brasil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* :40:59-61.
47. Grouer G., (1998) Leptospirosis. CIDA. La Habana, Cuba.
48. Guerreiro H., Croda J., Flannery B., Mazel M., Matsunaga J., Galvao Reis M., Levett P.N., Ko A.I., Haake D.A. (2001). Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. *Infection and Immunity* 69 4958-4968.
49. Guerrero R. 1997. El control de roedores. Una medida económicamente rentable. *Desarrollo Porcicola* .30-32.
50. Haake D. A. (2000) Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis *Microbiology* 146 1491-1504.
51. Haake D. A., Chao G., Zuerner R.L., Barnett J. K., Barnett D., Mazel M., Matsunaga J., Levett P.N., Bolin C.A. (2000). The leptospiral major outer membrane protein Lip L32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection *infection and immunity* 68 2276-2285.

52. Haake D. A., Mazel M. K., McCoy A.M., Milward., Chao G., Matsunaga J., Wagar E. A. (1999) Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and Lip L41 exhibit synergistic immunoprotection. *Infection and Immunity* 67 6572-6582.
53. Hil A.M., Wyeth A., Trees A., 1995: Evidence of post natal transmission of *leptospira* in Dutch dairy herds. *Int J. Microbiology*. 31: 209-215.
54. Hodgins AB, Terpstra W., 1984. Leptospirosis: current developments and trends. *J Am Vet Med Assoc* ;184:722-725
55. Howarth D.A., Adler B., L.E 1994. Bovine leptospirosis and infertility. The bovine proceeding 16:159-162.
56. Hurricane Mitch, 2000. update 8 [Site on internet]. Disponible en <http://www.who.int/emc/outbreak-news/n1998/dec/n02dec1998.html>.
57. Isogai E., Isogai H., Fujii N., Oguma K. (1990) Biological effects of leptospiral lipopolysaccharide on mouse B,T and NK cells. *Japanese Journal of Veterinary Science* 52 923-930.
58. Isogai E., Isogai H., Fujii N., Oguma K. (1990) Macrophage activation by leptospiral lipopolysaccharide. *Zentralblatt für Bakteriologie* 273 200-208.
58. Jessup D., Miller R., Bolin C., Kock M., Morkel P. (1992). Retrospective evaluation of leptospirosis in free-ranging and captive black rhinoceroses (*Diceros bicornis*) by microscopy agglutination titres and fluorescent antibody testing *journal of zoology and Wildlife Medicine* 401-408.
59. Jost B. H., Adler B., Faine S., (1989). Experimental immunisation of hamsters with lipopolisaccharide antigens of *Leptospira interrogans*. *Journal of Medical Microbiology* 29 115-120.

60. Jost B. H., Adler B., Vinh T., Faine S. (1986). A monoclonal antibody reacting with a determinant on leptospiral lipopolysaccharide protects guinea pigs against leptospirosis. *Journal of Medical Microbiology* 22 269-275.
61. J. Zamora, M.V; S. Reidemann, M.V., T.M. Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167, Valdivia, Chile.
62. Kita J.H., Anusz B., 1991 Comparison of histology with maternal and fetal serology for the diagnosis of abortion due to bovine leptospirosis. *Vet. Rec.* 141, 487-489.
63. Levitan D.H. 2001. Association Between exposure to *Leptospira* and milk production in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 219 (5): 632-635.
64. Lima P.R.G, 2000 Diagnostico serológico de *Leptospira interrogans* en canidos del area conurbada de la ciudad de Veracruz. tesis de licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. 21PP.
65. Lottersberger WJ, Adler B, Ananyina J, Androntaine G, Ansdell V, Ashford DA, et al. 2002. Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. Geneva: World Health Organization, International Leptospirosis Society;
66. Luna M., Moles L., Torres J., Gual Sill F., 1996. Investigación serológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de Mexico. *Revista veterinaria Mexico*.
67. Luna-Suarez M., Leal-Castellanos C, Gonzalez-Figueroa E, Fuentes-Allen JL, Escobedo-de la Penal J. 1994. Risk factors and the prevalence of leptospirosis infection in a rural community of Chiapas, Mexico. *Epidemiol Infect.* 131(3):1149-1156.
68. Mateu E. 1991. Detección de anticuerpos antileptospira en suero sanguíneo de bovinos de la posta zootécnica Torreón del Molino F.M.V.Z U.V.
69. Menges and Galton. 1961 *Am. Jour. Vet. Res.*, 22, 1085.

70. Merien F., Baranton G., Perolat P., (1997) Invasion of vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. *Infection and Immunity* 65, 729-738.
71. Merien F., Truccolo J., Baranton G., Perolat P., (2000) Identification of a 36-kDa fibronectin-binding protein expressed by a virulent variant of *leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. *FEMS Microbiology Letters* 185 17-22.
72. Mendoza G.H. y Benito ZUñiga A., Etiología del Aboroto bovino Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima- Perú.
73. Modric R, Huber P, Gravenkamp C, Terpstra WJ. 1993. Leptospirosis in travelers. *Clin Infect Dis* 19:132-134.
74. Moles LP, Cisneros M, Rosas D, Serrania N, Torres J. 2002 Serological study of bovine leptospirosis in Mexico *Rev Cubana Med Trop.* 54(1): 24-27.
77. Moles LP., Gavaldón RD. 1997. Diagnostico de leptospirosis en: *Diagnostico Veterinario*. Editor Valero E., Germán. 3ª. Edición, sociedad de patólogos Veterinarios, A.C, 132-136.
75. Moles LP, 1998 Leptospirosis bovina. *Acontecer Bovino*. Vol V, No 15, pp 17-21.
76. Moles LP, Pedroza R., Urritia V., Luna A., Torres BJ., 2000 Identificación serológica de anticuerpos contra *L. interrogans* en sementales bovinos de carne en el estado de Sonora , Mexico. XXIV Congreso Nacional de Buiatría, Guadalajara, Jalisco 15-17 de Junio de 2000, pp 125.
77. Montes DM., Noriega C., 2002. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis. Centro panamericano de ZOONOSIS, OPS, OMS. Nota técnica Numero 30.
78. Naiman B., Alt D., Bolin C., Zuerner R., Baldwin C., (2001). Protective killed *leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gamma delta T lymphocytes. *Infection and Immunity* 69 7550- 7558.
79. Navarrete G. 2002 Vigilancia de Leptospirosis. Departamento de Epidemiología. MINSAL. Circular N° 4f/03.

80. Negme C.A. Callin A., 1951 Am. Jour. Vet. Res., 22, 1085.
81. Noriega J. 2009. Seroprevalencia de Leptospirosis Bovina em três municípios de La zona norte del estado de Veracruz. F.C.B.A. UV.
82. Obregón J, Cisneros PM, Moles CPL, Gavaldon RD, Torres Bj. Situacion actual de la leptospirosis en America latina, Memorias de XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 2004; 9-15 de octubre; Acapulco, Guerrero. Mexico 1994:601-2.
83. Ochoa E; 2000. Epidemiologia de La leptospirosis en una zona andina de produccion pecuária; Revista Panamericana de La Salud Publica vol 7 numero 5 Washintong Mayo .
84. Odriozola E. 2001. Grupo de Sanidad Animal, Estacion Experimental Agropecuaria Balcarce .
85. OMS, Zoonotic, diseases. [Sitio en Internet]. Disponible en R F Silva, S Riedemann Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile. Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile. [tp://www.who.int/cds/vph/profile.html](http://www.who.int/cds/vph/profile.html) acceso en julio de 1998.
86. Perret A.L. Odriozola E., Zuerner R., Situacion de las enfermedades de notificación obligatoria, Antrax, Brucelosis, triquinosis, Leptospirosis, Hidatidosis y Enfermedad de chagas e-vigia. Boletin electrónico mensual de vigilancia epidemiológica. 1997; 24. <http://epi.minsal.cl/evigia/index.htm>
87. Picardeau M., Brenot A., Saint Girons I., (2001) First evidence for gene replacement in *Leptospira spp.* Inactivation of *Leptospira biflexa flab* results in non-motile mutans deficient in endoflagella. *Molecular Microbiology* 40. 189-199.
88. Prescott J., Miller R., Nicholson V., (1987) Isolation of *Leptospira hardjo* from kidneys of Ontario cattle at slaughter. *Canadian Journal of Veterinary Research* 51. 229-231.
89. Rentko I., Ross R., 1994: Archivo de evidencia serológica de *leptospira* en rebaños lecheros del continente Americano, Arch. Med. Vet. Vol 31:2.

- 90.Rojas J, Cisneros PM, Moles CPL, Gavaldon RD, Torres Bj. Situacion actual de la leptospirosis en Mexico, Memorias de XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994; 9-15 de octubre; Acapulco, Guerrero. Mexico 1994:531-2.
- 91.Sanchez L.M.C Determinacion de anticuerpos de Brucella y Leptospira en cerdos en una granja comercial con antecedentes de problemas reproductivos en el municipio de Cotaxtla ,Ver. Tesis de Licenciatura, Universidad Veracruzana.
- 92.Saengjaruk A. C., Cordwell S.J., Bulach D.M., Haake D.A., Adler B. (2002) Global analysis of outer membrane proteins from leptospira interrogans serovar Lai *infection and immunity* 70 2331-2346.
- 93.Sepúlveda A.,(2001) Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the Hebdomadis serogroup. *American Journal of Veterinary Research* 65, 650-686.
- 94.Segura-Correa R., Romero M., Martinez L., Memorias del simposium de leptospirosis, asociación mexicana de médicos veterinarios especialistas en bovinos, A.C, marzo, 2003,41 pag.
- 95.Smith J., Echaide I.E., Thur B., Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino FAV UNRC. 1999.Leptospirosis.
- 96.Solis LC., Vazquez GCO., Ávila FD., Moles LP., Luna AMA. Identificación de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en bovinos de carne en Tabasco, Mexico. 1997. XXXIII reunión Nacional de Investigación del 3-8 de Noviembre, Veracruz. Ver
- 97.Solana M.T.S.1993. Determinacion de anticuerpos contra leptospirosis bovina en la zona centro del estado de Veracruz. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia U.V.
- 98.Sotomayor V. 2002. ENO. Zoonosis y Chagas. El Vigía, Boletín de vigilancia en Salud Pública de Chile.17-28.
- 99.Songer II,Thompson WD, Evans A. Methods in observacional epidemiology New York. Oxford University Press. 1983.

100. Sothers D.J: 1997. Determination of the association between *leptospira* infection and reproductive performance in beef herd. JAVMA 213:685-690.
101. Schoone G., Everard C., Korver., Carrington D., Iniss V., Baulu J., Terpstra W., (1989) An immunoprotective monoclonal antibody directed against *Leptospiral interrogans* serovar copenhageni. *Journal of Genral Microbiology* 135 73-78.
102. Thierman., (1982) Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the Hebdomadis serogroup. *American Journal ot Veterinary Reseach* 43, 780-784.
103. Tilley A., J., Thur B., Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino FAV UNRC. 1999. Leptospirosis.
104. Torres BJ., Meléndez VP., Cisneros PMA., Gavaldón RD., Moles LP., 2000 Serovariedades de *leptospira interrogans* importantes en el municipio de Ocozocuatla, Chiapas. Mexico. XXIV Congreso Nacional de Buiatria del 15-17 de Junio, Guadalajara, Jalisco.
105. Trifunovic., Zieris C., Morrell E., Sernia C., Odeón A. C., Carrin D., Diagnostico de muerte fetal y perinatal en bovinos *Produccion Animal* 3-4.
106. Thrusfield M, Ortega C, de Blas I, Noordhuizen JP, Frankena k. (2001): Win Episcople 2.0: Improved epidemiological software for Veterinary Medicine. *Vet Rec* 148:567-572.
107. World Health Organization. Leptospirosis world wide, 1999. *wkly Epidemiol Rec.* 1999; 74:237-242.
108. WHO; International Leptospirosis Society. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, surveillance and control 2003. 114 paginas ISBN; 92 4154589 5
109. Varela R. 1961. Evaluacion de la efectividad de una nueva vacuna contra la leptospirosis humana en grupos en riesgo. *Revista Panamericana de Salud Publica.* 385-392.

110.Veracruz-Ilave Anuario Estadístico 2007 <http://www.inegi.gob.mx/est/contenido/español/sistemas/ae07/estatal/ver/index.htm>

111.Vinh T., Adler B., Faine S., (1982). The role of macrophages in the protection of mice against leptospirosis: In vitro and *in vivo* studies. *Pathology* 14, 463-468.

112.Vinh T., Adler B., Faine S., (1986) Ultrastructure and chemical composition of lipopolysaccharide extracted from *leptospira interrogans* serovar copenhageni *Journal of General Microbiology* 132, 103-109.

113.Vinh T., Faine S., Handley C., Adler B., (1994) Immunochemical studies of opsonic epitopes of the lipopolysaccharide of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 8, 99-107.

114.Vinh T., Shi M., Adler B., Faine S., (1989) Characterization and taxonomic significance of lipopolysaccharides of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* *Journal General Microbiology* 8, 99-107.

115.Waitkins S., (1986) Leptospirosis as an occupational disease. *British Journal of Industrial Medicine* 43. 721-725.

116.Wang B., Sullivan., Sullivan G., Mandell G., (1984) Interaction of leptospirs with human polymorphonuclear neutrophils.*Infection and immunity* 44, 459-464.

117.Yanagihara Y., Kamisango K.,Takeda K.,Mifuchi I., Azuma I.,(1983). Identification of 4-o metthylmannose in cell wall polysaccharide of *leptospira* *Microbiology and Inmunology* 27, 711-715.

118.Zamora J. Riedemann S.1990 Encuesta serologica de leptospirosis humana en ocupaciones de alto riesgo de chile. *Revista Medica Chile* 1990;118:247-52.

119.Zaki S, Shieh W. 1996. Leptospirosis associated with outbreak of acute febrile illness And pulmonary hemorrhage. Nicaragua, 1995. The Epidemic Working Group at Ministry of Health in Nicaragua *Lancet* 1996;347:535-536.

120.Zieris D. P., Venturini M.C., Leptospirosis Bovina:Conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación, 1991 Rev. Argent. Microbiol. Vol. 37:4

121.Zuerner R., Bolin C. 1997. Differentiation of *Leptospira interrogans* isolates by IS1500 hybridization and PCR assays. J Clin Microbiol 1997; 35:2612-2617.

122.Zuerner R., Knudtson W., Bolin C., Trueba G., (1991) Caracterizacion of outer membrane and secreted proteins of *leptospira interrogans* serovar *pomona* *Microbial pathogenesis* 10 311-322.

6.3 Lo revisa para ver si esta enfermo 1() Sí 2() No 3() A veces

6.4. Lo vacuna 1() Sí 2() No 3() A veces

6.5. Pide a un veterinario que lo revise 1() Sí 2() No 3() A veces

7.- ¿Al día de hoy, cuantas cabezas de ganado tiene en su rancho?

8.- ¿Tiene potreros para soltar a su ganado?
1() Si 2() No 3() Alquila

9.-¿Su ganado pastorea en terrenos inundables?
1() Si 2() No

10.-¿ Usted acostumbra juntar a todo su ganado en el corral?
1() Sí 2() No 3() A veces

11.-¿Cuantas cabezas acostumbra juntar en el corral?

12.-¿Cuanto mide su corral y/o el lugar donde acostumbra juntar todo su ganado?_____

13.-¿ Tiene corral de ordeña o un lugar especial para ordeñar?
1() Sí 2() No **Pase a la pregunta 14**

14.- ¿Cuanto mide su corral de ordeña?_____

15.- ¿Su ganado llega a juntarse o mezclarse junto con el ganado de otras personas en potreros comunales, en potreros ejidales, en aguajes, bebederos, o arroyos?
1() Si 2() No 3() A veces

16.- ¿Que manejo acostumbra darle a su ganado?

16.1 Lo baña 1() Sí 2() No 3() A veces

16.2 Lo desparasita 1() Sí 2() No 3() A veces

16.3 Lo revisa para ver si hay enfermos 1() Sí 2() No 3() A veces

16.4 Lo vacuna 1() Sí 2() No 3() A veces

16.5 Llama a un veterinario para que lo revise 1() Sí 2() No 3() A veces

17.- ¿De enero del 2006 a esta fecha tuvo problemas de enfermedades con su ganado?
1() Sí **2() No Pase a la pregunta 19** 3() No recuerda

18.-¿Con cuales animales tuvo problemas de enfermedades?
1() Con los nacidos en el rancho. 2() Con los comprados. 3() Igual con los nacidos en el rancho que con los comprados.

19.-¿De enero del 2008 a la fecha, con cuales animales tuvo problemas de enfermedades?
1() Becerros(as) de leche 2() Destetados 3() Becerronas 4() Torettes/Novillos
5()Vaquillas 6() Vacas 7() Sementales
8() Bueyes

20.- ¿De enero del 2008 a la fecha tuvo muertes con sus animales?
1() Sí **Cuantos?** _____ 2() No **Pase a la pregunta 22** 3()No recuerda

21.- ¿Con cuales animales tuvo mortalidad?
1() Con los nacidos en el rancho 2() Con los comprados 3() Igual con los nacidos en el rancho que con los comprados

22.- ¿De enero del 2008 a la fecha en que animales tuvo mortalidad?
1() Becerros(as) de leche 2() Destetados 3() Becerronas 4() Torettes/Novillos
5() Vaquillas 6() Vacas 7() Sementales 8() Bueyes

23¿De Enero del 2008 a la fecha tuvo problemas de mastitis con sus vacas?
1() Sí 2() No **Pase a la pregunta 24** 3() A veces

24.- ¿Alguna de estas vacas perdió un cuarto o se seco por la mastitis?
1() Sí 2() No 3() No recuerda

25.- ¿De Enero del 2008 a la fecha ha tenido vacas que aborten o tiren la cría?
1() Sí 2() No **Pase a la pregunta 29** 3() No recuerda

26.-¿Cuantas vaquillas o vacas le han abortado de Enero del 2008 a la fecha?_____

27.- ¿Cuales han abortado?
1() Las nacidas en el rancho 2() Las compradas 3() Cualquiera de las dos

28.- ¿De los animales que le han abortado como las puede clasificar?

Cantidad

1() Las vaquillas de 1er parto _____ 2() Las vacas de segundo parto _____
3() Las de tercer parto _____ 4() Las de cuarto parto _____
5() Las de más de cinco partos _____

39.-¿Estos bovinos con diarrea en que época del año los ha visto?

1() En las secas 2() En lluvias 3() En cualquier época del año

40.-¿En que tipo de bovino ha visto estas diarreas que no se quitan con ningún tratamiento?

1() Becerros(as) de leche 2() Destetados 3() Becerronas

4() Toretes/Novillos

5() Vaquillas

6() Vacas

7() Sementales

8() Bueyes

41.-¿Que hace usted con los animales a los que no se les quita la diarrea y se desmejoran poco a poco?

1() Los vende al carnicero o los manda a rastro 2() Los vende a un vecino o intermediario

3() Nada, si se mueren ahí los deja 4() Otro especifique _____

42.- ¿Acostumbra desparasitar a su ganado contra parásitos internos?

1() Si

2() No

3() A veces

43.-¿Que otros animales tiene junto con sus vacas o que se junten en el corral o campo?

1() Cabras.

2() Cerdos

3() Caballos y/o burros.

4() Borregos

5() Gallinas

6() Perros

7() Gatos

44.-¿Los perros y los gatos pueden entrar a los comederos o lugares donde tiene el alimento para las vacas?

1() Sí

2() No

3() No sabe

45.-¿Las perras o gatas han parido en el corral donde se encuentran las vacas, en comederos o lugares donde tiene el alimento?

1() Sí

2() No

3() No sabe

46.-¿Es común ver ratas o ratones en los comederos o donde se guarda el alimento?

1() Sí

2() No

3() No sabe

47.-Cuando algún bovino se le enferma, quién le da tratamiento?

1() Usted mismo, sus hijos

2() Un técnico

3() Un veterinario

48.-¿Que hacen cuando vacunan o desparasitan?

1() Usan una jeringa y aguja por cada animal. 2() Usan una aguja por cada animal.

3() Usan una aguja y una jeringa para todos los animales, sin cambiarla.

49.- ¿Antes de usar las agujas o las jeringas?.

1() Las hierven

2() Usa nuevas

3() Las lava

FOLIO INDIVIDUAL_____

Cédula individual por bovino

Fecha_____ Municipio_____

Rancho_____ Nombre o identificación del bovino

Raza _____ Peso Kgr. _____ Edad (meses)_____

Sexo 1() Macho 2() Hembra

Tipo de animal:

- | | |
|---|-------------------------------------|
| 1() Becerro destetado | 2() Torete |
| 3() Novillo | 4() Toro semental |
| 5() Buey | 6() Becerrona (sin estar gestante) |
| 7() Vaquilla (cargada para 1er. Parto) | 8() Vaca de 1er parto |
| 9() Vaca 2º parto | 10() Vaca 3 a 5 partos |
| 11() Vaca con más de 5 partos | |

Estado de carnes

1()Muy malo 2() Malo 3() Bueno 4() Gordo 5()Muy Gordo

Este animal es nacido en el rancho? 1() Sí 2() No 3() No sabe

Si fue comprado, en donde se compró?_____

Este animal se le ha aplicado alguna de las siguientes vacunas?

Brucelosis	1() Sí	2() No	3() No sabe
Diarrea Viral	1() Sí	2() No	3() No sabe
Rinotraqueítis	1() Sí	2() No	3() No sabe
Leptospirosis	1() Sí	2() No	3() No sabe
Neosporosis	1() Sí	2() No	3() No sabe

Este animal se ha desparasitado? 1() Sí 2() No 3() No sabe

Hace cuanto tiempo se desparasitó? 1() Menos de un mes

2() De 1 a 3 meses 3() De 3 a 6 meses 4() De 6m a 1 año 5() más del año
6() No sabe

De Enero del 2004 a la fecha, este animal ha presentado diarrea

1() Sí 2() No 3() No sabe

Si el animal muestreado es una vaca:

Cuanto es su producción máxima de litros de leche por día en el ordeño?
_____ Litros

Esta vaca ha tenido algún aborto? 1() Sí 2() No 3() No sabe

Cuando fue su último parto? _____

Cuando la cargo el toro o fue inseminada por última vez? _____

SR. GANADERO AGRADECEMOS SU COOPERACION.