



BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

TITULO DE LA TESIS

Respuesta inmunológica al uso de bacterinas de *Leptospira* y su correlación con serovariedades presentes en bovinos lecheros de FMVZ - BUAP.

Tesis para obtener el grado de:
LICENCIATURA EN MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Que presenta:

PMVZ. María Isabel Santiago Luna

DIRECTOR DE TESIS

MVZ.EPA.MEC. Gabriel Gerardo Aguirre Espíndola

ASESORES

DR. Julio Cesar Camacho Ronquillo

M.C Mari Carmen Larios García

Tecamachalco, Puebla, Mayo 2023.

AGRADECIMIENTOS

Es difícil aceptar lo que parecía lejano, con valor y fuerza de voluntad vemos el final de lo que apenas es un comienzo...

A Dios por dotarme de vida y salud, para poder llegar hasta este momento, por guiarme en el camino y permitirme ver llegar este día, gracias por toda tu bondad.

A mis padres por brindarme su apoyo incondicional y económico para poder culminar este proyecto. Por todas las noches de trabajo, por sus enseñanzas, comprensión y amor, sin ustedes no sería posible.

A mi grupo de autoayuda 4 y 5 paso de AA, por el acompañamiento y guía espiritual en este trayecto, y a todos los compañeros por sus enseñanzas.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en especial a la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Por ser parte del proceso, por las enseñanzas, a los docentes y el gran trabajo que realizan en la formación académica.

A mi director de tesis el MVZ. Gabriel Gerardo Aguirre Espíndola por el apoyo, dedicación y el conocimiento transmitido.

A mis asesores, el Dr. Julio Cesar Camacho Ronquillo y la M.C. Mari Carmen Larios García por el tiempo dedicado a mi proyecto de tesis, por su orientación y conocimiento.

Al módulo de bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP, docentes y compañeros que colaboraron para poder hacer posible este trabajo.

Al laboratorio TAQ y la QFB. Miriam Camacho por su orientación, comprensión y dedicación en el trabajo de laboratorio.

DEDICATORIA

En memoria de todos aquellos animales que vi morir siendo una niña y no pude ayudar, los cuales fueron y seguirán siendo mi inspiración.

A mis padres Vicente Gustavo Santiago Antonio y Efigenia Luna Jiménez por ser mis proveedores de vida, inculcarme la disciplina de estudiar, por siempre brindarme su apoyo incondicional, sus consejos, sus enseñanzas y motivación constante que fueron necesarias para poder culminar este proyecto, por tantas noches de desvelo y trabajo constante, este logro es de ustedes y para ustedes, gracias por todo el amor.

A mis hermanos, Erick Gustavo, Mirna Rubí y Adriana Narcedalia, por ser un ejemplo, por creer en mí, por brindarme su apoyo incondicional, sus consejos y su gran cariño.

A mi familiares cuñado(a) y a mis Sobrinos por el apoyo, por cada palabra de aliento y cada momento agradable.

A los amigos que forje en el trayecto de la universidad, por todas sus enseñanzas, experiencias compartidas, por el apoyo incondicional, por la confianza, y tantos momentos agradables.

Esta tesis va dedicada con todo el amor, hasta el cielo en memoria de mi abuela, Isabel Antonio, quién fue la mujer que estuvo para mí siempre, gracias por acompañarme en mi niñez, hoy te doy las gracias por confiar y creer en mí. Hasta siempre “mama cala”.

A la más horripilante, y latosa, por llegar a mi vida para hacerla más feliz, por enseñarme y dejarme aprender cada día de ella, con todo mi amor para kia.

María Isabel

INDICE GENERAL.

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA.....	iii
INDICE GENERAL.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVO GENERAL.....	3
2.1. Objetivos específicos	3
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
IV. HIPOTESIS	6
V. REVISION DE LITERATURA	7
5.1. Leptospirosis en el mundo.	9
5.2. Leptospirosis en México.....	10
5.3. Descripción de la bacteria.....	13
5.1. Agente etiológico	15
5.1. Taxonomía y Nomenclatura	15
5.2. Determinación de serovariedades	16
5.2.1. Cepa Icterohaemorrhagiae.....	19
5.2.2. Cepa Bratislava	19
5.2.3. Cepa Gryppothyposa.....	20
5.2.4. Cepa Canicola.....	20

5.2.5.	Cepa Pomona	21
5.2.6.	Cepa Hardjo	21
5.2.1.	Cepa H-89	22
5.2.2.	Cepa Tarassovi	22
5.2.3.	Cepa Palo Alto	23
5.2.4.	Cepa Portland Vere	24
5.3.	Patogenia.....	24
5.4.	Transmisión	25
5.5.	Diagnóstico	27
5.6.	Factores de riesgo	27
5.7.	Descripción de una bacterina.....	28
5.8.	Uso de bacterinas	29
5.9.	Bacterinas comerciales contra Leptospira de uso Veterinario disponibles en México.	29
5.9.1.	Bovigen lepto 8 – Laboratorios Virbac.....	29
5.9.2.	Bayovac lepto hb – Laboratorios Bayer.....	29
5.9.3.	Leptavoid-h – Laboratorios MSD.....	30
5.10.	Vacunas.....	30
5.11.	Vacunas comerciales disponibles en México.	31
5.11.1.	Bovimune master L5 – laboratorios Lapisa	31
5.11.2.	Cattle master gold fp 5 l5 – Laboratorios Zoetis	31
5.11.3.	Bovilis vista 5 L5 SQ – Laboratorio MSD.....	32
VI.	JUSTIFICACION	35
VII.	MATERIAL Y METODOS.....	36
5.1.	Área de estudio.....	36

5.2.	Determinación del tamaño de muestra	36
5.3.	Tipo de muestreo.	37
5.4.	Lugar y tiempo de muestreo:	37
5.5.	Población de estudio.....	37
5.6.	Metodología Diagnostica.....	40
5.7.	Prueba de Aglutinación Microscópica	41
5.8.	Aplicación de la técnica MAT	43
5.9.	Propuesta de protocolo de bioseguridad para el personal en las instalaciones del módulo lechero de FMVZ-BUAP	47
5.10.	Protocolo de bioseguridad de medicina preventiva para el módulo de bovinos de la posta zootécnica	48
VIII.	RESULTADOS	49
5.1.	Análisis Estadístico	54
5.2.	Prueba de Chi Cuadrada	54
IX.	DISCUSION	64
X.	CONCLUSIONES.....	66
XI.	LITERATURA CITADA.....	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Resumen de los principales serogrupos y serovares más representativos de la especie <i>L.interrogans</i>	18
Cuadro 2 Calendario de medicina preventiva del módulo aplicado a los bovinos de la posta de la FMVZ-BUAP 2022.	32
Cuadro 3 Registro de datos de población con antecedentes de vacunación muestreada.	38
cuadro 4 Registro de datos de población sin antecedentes de vacunación muestreada	38
Cuadro 5 Resultados de prueba MAT en vacas vacunadas, serovariedades Wolffi, Hardjo, Tarassovi, H-89.	49
Cuadro 6 Resultado de prueba MAT en vacas vacunadas, serovariedades Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Palo Alto, Portland Vere.	50
Cuadro 7 Resultados de prueba MAT en vacas vacunadas, serovariedades Pyogenes, Gryppotyphosa, Canicola, Pomona.	51
Cuadro 8 Resultados de prueba MAT en Becerras no vacunadas, serovariedades Wolffi, Hardjo, Tarassovi, H-89.....	52
Cuadro 9 Resultados de prueba MAT en becerras no vacunadas, serovariedades Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Palo Alto, Portland Vere.	53
Cuadro 10 Resultados de prueba MAT en Becerras no vacunadas, serovariedades Pyogenes, Gryppotyphosa, Canicola, Pomona.	53
Cuadro 11 Tabla de frecuencia de la serovariedad Bratislava en función al tipo de animal.....	55
Cuadro 12 Tabla de frecuencia de la serovariedad Portland Vere en función al tipo de animal.....	56
Cuadro 13 Tabla de frecuencia de la serovariedad Icterohaemorrhagiae en función al tipo de animal.	57
Cuadro 14 Tabla de frecuencia de la serovariedad Pyogenes en función al tipo de animal.....	58

Cuadro 15 Tabla de frecuencia de la serovariedad Gryppotyphosa en función al tipo de animal.....	59
Cuadro 16 Tabla de frecuencia de la serovariedad Canicola en función al tipo de animal.....	60
Cuadro 17 Tabla de frecuencia de la serovariedad Pomona en función al tipo de animal.....	60
Cuadro 18 Tabla de frecuencia de la serovariedad Palo Alto en función al tipo de animal.....	61
Cuadro 19 Tabla de frecuencia de la serovariedad Wolffi en función al tipo de animal.....	62
Cuadro 20 Tabla de frecuencia de la serovariedad Hardjo en función al tipo de animal.....	62
Cuadro 21 Tabla de frecuencia de la serovariedad Tarassovi en función al tipo de animal.....	63
Cuadro 22 Tabla de frecuencia de la serovariedad H-89 en función al tipo de animal.	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ultra estructura de leptospira patógena.....	14
Figura 2 Leptospira. Tomada de Leptospirosis-Epidemiología situación mundial, 2012.	15
Figura 3 Esquema del ciclo epidemiológico de leptospirosis. Tomado de (Grune, 2014)	26
figura 4 Foto de bacterina aplicada en los bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP.	33
figura 5 Descripción de cepas contenidas en la vacuna aplicada a los bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP	34
figura 6 Extracción de muestra de vena yugular para diagnostico.	39
figura 7 Extracción de muestra de vena coccígea para diagnostico.....	40
figura 8 Extracción de sueros en laboratorio TAQ.....	43

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica presente en la mayor parte del mundo, que afecta animales domésticos, salvajes y humanos; hoy en día se han empleado técnicas de vacunación para la prevención de la leptospirosis y de este modo evitar un problema mayor de salud pública.

En esta investigación se trabajó con bovinos lecheros de la posta zootécnica de la FMVZ-BUAP, ya que resulta ser una población vulnerable y de importancia económica; Se analizaron 20 sueros sanguíneos de bovinos lecheros, 12 fueron de vacas productoras con antecedentes de vacunación y 8 de becerras no vacunadas, mediante el método Micro Aglutinación en Placa (MAT); la cual nos permitió detectar anticuerpos contra 12 serovariedades de *leptospira*: *Icterohaemorrhagiae*, *Bratislava*, *Pyogenes*, *Grippotyphosa*, *Canicola*, *Pomona*, *Wolffi*, *Hardjo*, *Tarassovi*, de los cuales tres fueron aislamientos nacionales, H-89, Palo Alto, Portland Vere.

Mediante el análisis de dichas muestras se obtuvo información sobre el estatus, conocimiento e identificación de las serovariedades que se encuentran presentes en la posta, se encontró que la serovariedad *Bratislava* tiene mayor número de casos positivos en los animales no vacunados (87.5 %), la serovariedad *Portland vere* tuvo el 100 % de casos positivos en los animales vacunados y el 62.5 % en animales no vacunados, así mismo para el resto de las serovariedades. La prevalencia para las serovariedades *Icterohaemorrhagiae* y *Palo Alto* fue del 35 %, la de *Pyogenes* y *Canicola* fue del 15 %, la de *Grippotyphosa* y *Pomona* del 10 %. Mientras que para las serovariedades, *Wolffi*, *Hardjo*, *Tarassovi* y *H-89* en los dos grupos de animales se tuvieron el 100 % de casos negativos,

Se realizó un análisis comparativo entre serovariedades de animales vacunados respecto a los no vacunados con las vacunas aplicadas y su relación en cuanto a la protección inmunológica.

I. INTRODUCCION

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial que provoca una importante morbilidad y mortalidad en poblaciones humanas y animales. *Leptospira interrogans* es una de las principales causas de enfermedades animales. (Hamond *et al.*, 2022).

Es una enfermedad sistémica de humanos y animales domésticos, principalmente perros, bovinos y porcinos, caracterizada por fiebre, insuficiencia renal y hepática, manifestaciones pulmonares y fallo reproductivo. (Moral *et al.*, 2014)

La leptospirosis, conocida como síndrome de Weil, enfermedad de los porquerizos o fiebre de los cañaverales, es causada por una espiroqueta del género leptospira, (Norma oficial mexicana 2021). Esta enfermedad, fue descrita por primera vez en 1886 por A. Weil, se considera está presente en todo el mundo, pero es más común en zonas tropicales y subtropicales durante los meses de verano. (Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud 2015).

El análisis de los datos en la República Mexicana indica, por medio del canal endémico (nos permite ver una representación gráfica, de la incidencia actual de la enfermedad en territorio nacional); que la leptospirosis se presenta de forma regular durante todo el año. Sin embargo, de acuerdo con el índice endémico se presenta un aumento de los casos en los meses de agosto, septiembre y octubre. (Yescas *et al.*, 2022).

Después de la infección, las leptospira se encuentran en la sangre e invaden prácticamente todos los órganos y tejidos. La transmisión de leptospirosis puede ser mediante orina, semen, leche, membranas placentarias. Los bovinos infectados con leptospira constituyen un reservorio activo para la propagación de la enfermedad zoonótica, especialmente para los humanos que se encuentran en contacto directo con estos animales. (Zoetis, México 2023).

Al infectarse las hembras pueden presentar abortos, momificaciones, mortinatos, becerros nacidos débiles, mastitis y en ocasiones fallo reproductivo, teniendo como resultado pérdidas económicas sobre la producción, es por esta razón que el control de leptospirosis requiere atención especializada (Pettrakovsky *et al.*, 2014).

Cabe mencionar que leptospirosis al considerarse una enfermedad de salud pública, no se le da la importancia que realmente debería tener, datos del 2013 revelan reportes anuales de más de 500,000 casos severos y mortalidad superior a 10% en humanos; (Organización Panamericana de la Salud 2012).” En el estado de Puebla, tan sólo existe un estudio de prevalencia de serovariedades de leptospira que afectan a los bovinos, y de algunos otros estados de la república mexicana, como Veracruz y Tabasco”. (Rosete *et al.*, 2021)

Esta enfermedad se controla y previene a través de medidas complementarias, tratamiento con antibióticos, vacunación y profilaxis higiénico-sanitarias; con el fin de evitar pérdidas económicas en la producción. (García *et al.*, 2017)

Los métodos moleculares; pruebas inmunoquímicas (inmunofluorescencia e inmunohistoquímica, pruebas de PCR, Elisa; aparecen como las herramientas importantes para el diagnóstico de la leptospirosis subclínica crónica en animales domésticos. (Oie,2021)

El método serológico de referencia para la identificación de serovariedades presentes, es la Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT); que emplea antígenos vivos para diagnosticar la enfermedad tanto en individuos como en rebaños. (Oie, 2021). Dicha prueba se considera de referencia frente a todas las demás pruebas serológicas y se utiliza en las comprobaciones para la importación/exportación de animales. Para obtener una sensibilidad óptima deben emplearse antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos que existen en la región y, preferiblemente, cepas que representen a todos los serogrupos conocidos, reforzando su evidente impacto no solo en la reproducción animal sino también en el contexto de una Salud. (Azevedo y Lilenbaum, 2021).

II. OBJETIVO GENERAL

Analizar la respuesta inmunológica por Aglutinación Microscópica e interpretar las principales serovariedades de leptospira que causa enfermedad en los bovinos de la posta zotécnica de la FMVZ-BUAP.

2.1. Objetivos específicos

- Identificar por medio de la prueba de Aglutinación Microscópica anticuerpos contra Leptospira en suero sanguíneo de hembras bovinas.
- Identificación de serovariedades de Leptospira presente en los bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP mediante estudios serológicos.
- Determinar y analizar la efectividad con el uso de biológicos, (CattleMaster GOLD FP 5 L5) en la protección inmunológica empleadas en los bovinos.
- Emplear el uso de protocolos de bioseguridad dentro del personal que labora en las instalaciones para evitar una zoonosis.
- Diseño de un protocolo de medicina preventiva aplicado a los bovinos.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Mediante la realización de este trabajo, se buscó aportar datos sobre las serovariedades de leptospira presentes en los bovinos leche de la posta zootécnica de la FMVZ BUAP, mediante la respuesta inmunológica por Aglutinación Microscópica, sobre todo porque la información es muy escasa y particularmente en la región de Tecamachalco no hay datos que fundamenten, registros o estudios previos al aislamiento de la bacteria así como de sus serovariedades

La leptospirosis es un problema económico y de salud pública que se ha descuidado, por falta de bioseguridad y falta de control en los esquemas de vacunación, dada por la frecuencia de abortos y fallos reproductivos; Cabe mencionar que es un problema persistente que se ha venido presentando con mayor frecuencia en los meses cálidos de verano y otoño debido a las manifestaciones clínicas de la enfermedad, siendo cada vez más difícil realizar el diagnóstico clínico debido a sus presentaciones, aguda, subaguda y crónica. (Organización Panamericana de la Salud 2012).

La tasa de mortalidad es baja en bovinos (5%), la morbilidad suele ser elevada, pudiendo llegar al 100% de los animales expuestos. En los terneros la mortalidad es mayor que en los animales adultos. En las cifras de aborto, hasta un 30% de las vacas pueden llegar abortar, y la producción general de terneros puede disminuir hasta un 40%. (CFSPH 2005). “El descenso de producción de leche y la muerte de bovinos, elevan las pérdidas económicas”. (Follmer, 2019)

Por esta razón es de suma importancia realizar la confirmación por un laboratorio para determinar el alcance del problema y optar por medias de control y prevención. Dado que la producción láctea es una fuente de ingreso para el sostenimiento de la posta, de esta manera se genera un daño al sector económico, y sobre todo repercute de manera directa a la salud y bienestar de los animales. Así como de las personas que mantiene contacto directo con estos animales, mencionamos trabajadores, administrativos, docentes y comunidad estudiantil. Es por esta razón que se planteó realizar un estudio serológico para poder identificar

las serovariedades de leptospira que afectan a los bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP.

La prueba de referencia técnica, Prueba de Aglutinación Microscópica, (MAT por su sigla en inglés) se considera por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como la regla de oro, debido a su alta especificidad y a la información que brinda en cuanto a serogrupos y serovares. La identificación y el aislamiento de cepas de *Leptospira*, es esencial en los estudios epidemiológicos para determinar la presencia de leptospirosis en la naturaleza. (Rodríguez *et al.*, 2002). Sirve también como reservorios de cepas que puedan infectar al hombre y a los animales, así como para el conocimiento de los serogrupos y serovares, que circulan, con mayor frecuencia, en nuestro medio. (Gómez *et al.*, 2018). La importancia en la elaboración de un protocolo para el personal que labora en las instalaciones, sobre el correcto uso de los equipos de seguridad y la correcta disposición de restos animales o cadáveres, así como medicina preventiva, son cruciales para salvaguardar las áreas zootécnicas en beneficio de la salud de animales, personal y estudiantes.

IV. HIPOTESIS

La leptospirosis en los bovinos lecheros de la posta de la FMVZ-BUAP, está condicionada por la presencia de serovariedades específicas; que mediante el estudio inmunológico de Aglutinación Microscópica se han lograron identificar.

La prevalencia de leptospirosis es mayor en animales no vacunados respecto a los vacunados.

V. REVISION DE LITERATURA

Las espiroquetas fueron descritas por Leeuwenhoek entre los años 1675 y 1685. Erhenberg les asignó el nombre en 1833. En el 1886 el alemán Weil describió por primera vez la leptospirosis (ictérica hemorrágica) en la especie humana. Posteriormente en el año 1915 un grupo de japoneses, aislaron e identificaron el agente causal al que denominaron spirochaeta, a partir del hígado de un cobayo inoculado con la sangre de un hombre enfermo. Para el año 1917 se adoptó el nombre de *Leptospira* para denominar estos microorganismos, aislándose en los años posteriores nuevas cepas con diferentes denominaciones. (Vadillo *et al.*, 2001).

En 1919 en Mérida se describió el primer caso de leptospirosis en México, en 1958 se presentó el primer brote de leptospirosis en Kinchil y Tetiz en Yucatán. En esta misma región en el año de 1984 Jorge Zavala y colaboradores encontraron seropositividad humana en un 14.1%; porcina en 23.3% y bovina 11.3% para leptospira. (Sistema nacional de vigilancia Epidemiología, 2006).

La primera descripción en animales se remonta al año 1933 en el que Klarenbeek y Schuffner demostraron que la enfermedad de Stuttgart en los perros era producida por una leptospira canicola. (Vadillo *et al.*, 2001).

Los primeros estudios de esta enfermedad en bovinos fueron realizados por Mikhin y Azinov en Rusia en 1935; la describieron como Hemoglobina infecciosa aguda. En Australia, en 1943 por Johnson, y en Estados Unidos, en 1944 por Jungherr; En 1960 el serovar hardjo fue aislado por primera vez en bovinos de los EE.UU. por Roth y Galton posteriormente se fueron identificando casos en prácticamente todo el mundo. (Monroy *et al.*, 2021).

El agente etiológico de la enfermedad es *leptospira spp*, una espiroqueta Gram negativa de la cual se han reportado por lo menos 22 especies y más de 300 serovariedades. De las 22 especies solo el 45% (10 de 22) son patógenas para

humanos y animales Se ha estimado que anualmente se presentan 103 millones de casos de leptospirosis y 58,900 muertes asociadas a esta enfermedad en el mundo. (Costa *et al.*, 2015).

Es importante mencionar el problema que representa la leptospirosis y no solo como un problema de salud animal si no también de salud pública, un tema del que se desconoce, En el estado de Puebla es poca la información a la que se tiene acceso, un estudio para detección de anticuerpos contra leptospira interrogans que se realizó en el valle de Atlixco en animales no vacunados de los 116 sueros probados, 98 (84.48%) resultaron positivos y 18 negativos (15.52%) en la prueba de Aglutinación Microscópica. (Fernández *et al.*, 1993).

En el año 2008 en el Congreso Nacional de Buiatría, llevado a cabo en Boca del Rio Veracruz, se presentaron estudios relacionados a leptospira en bovinos en sus diferentes etapas reproductivas, se determinó la presencia de anticuerpos antileptospira en tres diferentes etapas reproductivas, procedentes de un área endémica de leptospirosis bovina en México. (Méndez *et al.*, 2008).

Se obtuvieron un total de 220 muestras de sangre de bovinos dividiéndolas en gestantes 70, no gestantes 83 y vaquillas 69, para determinar la presencia de anticuerpos se utilizó la prueba MAT con 12 serovariedades, los resultados fueron 55.71% positivos para una o más serovariedades en bovinos gestantes. Las más frecuentes Hardjo-Prajitno *H-89* 51.42%, Wolffi 38.57%, Hardjo Prajitno 34.28% y Tarassovi con el 17.14%. Los bovinos no gestantes presentaron el 40.74% Hardjo Prajitno *H-89* 30.86%, Wolffi 14.81%, Hardjo Prajitno 11.11% y Tarassovi 9.87%. Las vaquillas presentaron un 67.76% de seropositividad, Hardjo Prajitno 57.97%, Hardjo Prajitno *H-89* 56.52% y Wolffi 34.78%, se concluyó que las tres etapas reproductivas comparten tres serovariedades del serogrupo Serjõe. (Méndez *et al.*, 2008).

Para el año 2021 se realizó un estudio con el objetivo de comparar las prevalencias de diversos serovares de *Leptospira interrogans* entre los estados de Puebla, Tabasco y Veracruz. La prevalencia del serovar Hardjo en los estados de Tabasco y Veracruz fue mayor ($P<0.05$) que en el estado de Puebla (64.1 y 71.3 % vs 39.8 %). La prevalencia del serovar INIFAP fue mayor ($P<0.05$) en el estado de Veracruz que en los estados de Puebla y Tabasco, con valores de 91.8, 63.8 y 78.8 %, respectivamente. (Fernández *et al.*, 2021).

No hay información que fundamente la existencia, particularmente en el municipio de Tecamachalco Puebla, en las instalaciones de la posta zootécnica “El Salado”, no existen registros de investigaciones previas relacionadas al aislamiento de la bacteria. Debido a la incidencia de abortos y el aumento en los casos de mastitis dentro de las hembras bovinas se ha tomado la iniciativa de realizar pruebas diagnósticas serológicas para conocer el estatus en cuanto a leptospirosis en los bovinos.

La exposición a *Leptospira* en una granja de producción lechera es un factor de riesgo para los humanos. Nuestros hallazgos pueden contribuir a fortalecer la intervención del Sistema Público de Salud para prevenir esta zoonosis que prevalece en los ambientes de las granjas lecheras. (Galarde *et al.*, 2021).

5.1. Leptospirosis en el mundo.

La leptospirosis en animales es omnipresente. Se ha encontrado en casi todas las regiones, con la excepción de las regiones polares, y en prácticamente todas las especies animales (Adler, 2015).

Es la zoonosis más extensa del mundo y se presenta en países desarrollados y en desarrollo, tanto en zonas rurales como urbanas, aunque está más extendida en países de clima tropical, debido a la mayor supervivencia del microorganismo en

ambientes cálidos y húmedos. Así mismo, la enfermedad presenta una cierta estacionalidad, presentándose más casos en verano y otoño en los países templados y durante las épocas de lluvia en países cálidos. (AMSE, 2012)

En todo el mundo se han documentado más de 500.000 casos de leptospirosis graves por año, con una presentación de la enfermedad de 0,1 a 1 caso por cada 100.000 personas en climas templados y de 10 a 100 casos por cada 100.000 habitantes en climas tropicales. (Bautista et al., 2019).

La leptospirosis es una enfermedad reemergente en el mundo con altas prevalencias en diferentes especies y con alto riesgo de infección, por tal razón clasifica entre las 35 primeras causas de muertes a nivel mundial, resaltando su especial cuidado en el ámbito de salud pública, ya que si este problema no se controla puede llegar a generar un incremento en las mortalidades humanas y animales, junto con cuantiosas pérdidas económicas. (Bautista et al., 2014).

5.2. Leptospirosis en México

En México la leptospirosis se cataloga como un problema de salud pública y veterinaria, reportándose distintas tasas de incidencia y prevalencia en todo el territorio nacional. La leptospirosis humana se ha reportado en 27 de los 32 estados que conforman el país, en los cuales los brotes se presentan de manera ocasional. (Sánchez *et al.*, 2015).

En el estudio la seroprevalencia de anticuerpos anti-leptospira spp. En estudiantes de medicina veterinaria y zootecnia de la costa grande de Guerrero fue de 12,1 % (8/66). Se detectaron anticuerpos a 8 serovariedades de leptospira spp.

El 62,5 % (5/8) de los sueros presentó más de una serovariedad. (Pineda *et al.*, 2020)

En México la presencia de leptospirosis en perros se conoce desde la primera mitad del siglo XX y desde entonces los estudios serológicos muestran enormes variaciones en cuanto al porcentaje de animales reactivos, estas fluctúan entre el 11 y el 70% según datos del 2010 (Flores, 2010).

La leptospirosis humana fue mencionada por primera vez en la ciudad de Mérida, Yucatán en 1920 durante una epidemia de fiebre amarilla. Según estudios, los estados con mayor número de casos positivos en ganado fueron Campeche, Yucatán, Sonora, Oaxaca, Hidalgo, Sinaloa, Tabasco y Veracruz. Los serovares más aislados en el país fueron *L. bratislava*, *L. autumnalis*, *L. canicola*, *L. ballum*, *L. hardjo* y *L. pomona*; dentro de los serovares predominantes se mencionan *L. bratislava*, *L. autumnalis* y *L. canicola*, el 49,86% de las muestras fueron positivas para más de un serovar, la enfermedad a menudo se presentó en la temporada de otoño (yescas *et al.*, 2020).

En un estudio de detección de serovares de leptospira en bovinos de carne en el municipio de Campeche México; se analizaron 203 muestras, con una tasa de seropositividad del 75.5% de uno o más serotipos. Los porcentajes más altos de seroreacción fueron cepa H-89 (UAM-Xochimilco), los serovares wolffi (66%) y hardjo (58%). (Córdova, *et al.*, 2005). En la práctica, los sueros fueron positivos para 12 de los 13 serovares analizados, los títulos variaron de 1:100 (21.3 %) a 1:6400 (0.73 %), la mayoría de las muestras reaccionaron con títulos de 1:200, la seropositividad fue muy alta en comparación con otros estudios. (Córdova, *et al.*, 2005).

En un estudio por parte del INIFAP, se revelan datos que se han encontrado bovinos con anticuerpos antileptospira en 24 estados de la República Mexicana. Se conocen más de 200 serovariedades (antes serotipos) que se encuentran agrupadas en por lo menos 20 serogrupos. Las serovariedades que se han diagnosticado en bovinos con mayor frecuencia en México, según datos recientes son: Hardjo, Wolffi, Tarassovi, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae, Pomona UAM (cepa aislada en México), es importante mencionar que, las serovariedades pueden variar de una región a otra. (INIFAP, 2022).

El análisis indicó 31,1 % de seroprevalencia y las serovariedades más frecuentes fueron Hardjo (cepa H 89 aislada en México), Wolffi y Tarassovi. Existe semejanza con datos previos de México sobre una prevalencia de 34 % encontrada en un estudio similar de 1994 y comparándola con la literatura científica de otros países, existe coincidencia. (Moles *et al.*, 2002). En diferentes estudios se ha demostrado que los serovares Hardjo, Wolffi y Tarassovi son los más frecuentes en México.

En diversos estudios serológicos en bovinos se han encontrado anticuerpos principalmente contra la serovariedad Hardjo, seguida de otras serovariedades, como Grippotyphosa, Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Bratislava. (Carmona *et al.*, 2011).

Existe un vacío de información sobre las serovariedades de leptospira que son endémicas y que verdaderamente infectan a los bovinos en México, resulta difícil conocer o acceder a información acerca de la incidencia de la enfermedad a nivel mundial, tanto en humanos como en animales, debido a que muchos países no cuentan con sistemas de vigilancia y estadísticas establecidas sobre el tema, mediante el aislamiento y caracterización, se presume que otras especies y serovariedades de leptospira pudieran estar causando enfermedad en los bovinos, pero que a la fecha no han sido identificadas y pudieran llegar a ser un problema

económico en las unidades de producción, así como para la salud pública. (Carmona *et al.*, 2011).

5.3. Descripción de la bacteria

El género leptospira, del griego *leptos* (delgado) y del latín *spira* (espiral), comprende bacterias móviles parecidas a sacacorchos y con forma de interrogación. (Romero y Falconar, 2016).

La leptospira pertenece a las espiroquetas aeróbicas más pequeñas tienen un grosor de 0.1-0.25 μm y una longitud de 4-8 μm . Entre las patógenas se encuentran *L. Icterohaemorrhagiae*, causante de la enfermedad de Weil. *L. Pomona* causante de la enfermedad de los porquerizos. *L. Canicola* causante de la ictericia infecciosa, Se ingieren en el agua y los alimentos, posteriormente llegan a la sangre, los riñones o el hígado y causan disfunciones en órganos que tienen como consecuencia hemorragia e ictericia. (Schlegel y Zaborosch.1997).

La familia *leptospiraceae* pertenece al orden *spirochaetales* y las especies se agrupan en dos géneros: leptonema y leptospira. El género leptonema posee una especie *L. illini* que fue aislada en 1965 a partir de la orina de un toro en Illinois (USA). Este microorganismo agrupa especies intermedias a diferencia del género leptospira que agrupa especies patógenas para el hombre, animales domésticos y silvestres; que terminan originando enfermedades de carácter zoonótico. (Vadillo *et al.*, 2002).

Las leptospira son bacterias helicoidales móviles (0,1 x 6 a 12 μm .) con extremo en forma de gancho; tienen dos cromosomas circulares, los cuales contienen genes especiales para la supervivencia, se debe mencionar que, aunque son Gram-Negativos citoquímicamente no se tiñen bien con colorantes bacteriológicos convencionales y se visualizan mediante microscopia de campo oscuro. (Quinn *et al.*, 2011).

La estructura básica de las leptospiras está formada por 3 capas: una envoltura externa, una capa de peptidoglicano que le confiere rigidez y una membrana que envuelve el citoplasma celular. Las leptospiras poseen un par de flagelos que atraviesan el espacio peri plasmático por debajo de la membrana externa y se extienden desde su inserción en los extremos de forma de gancho hasta la zona media de la célula. (Alvares *et al.*, 2002). Como se muestra en la **Figura 1**

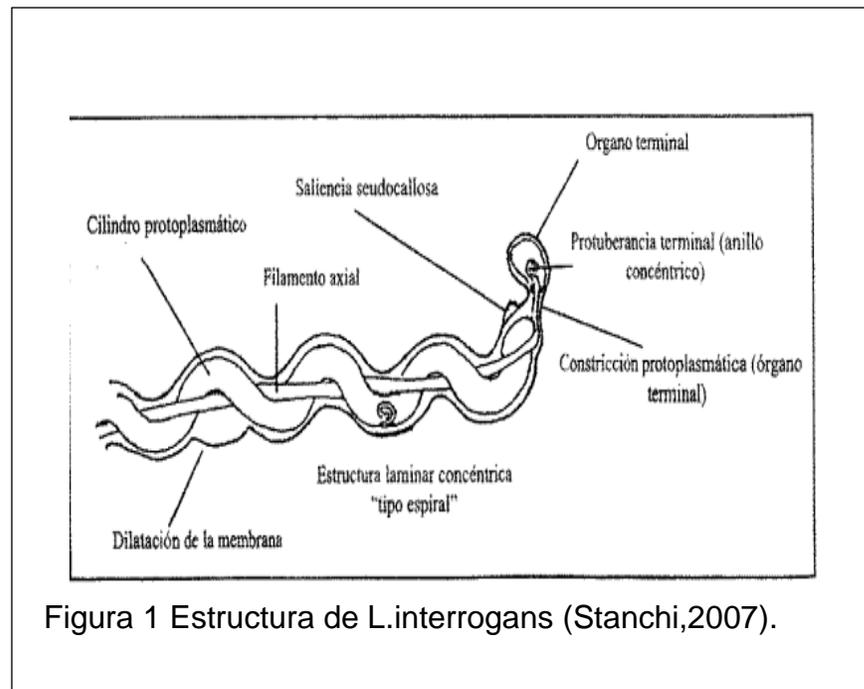


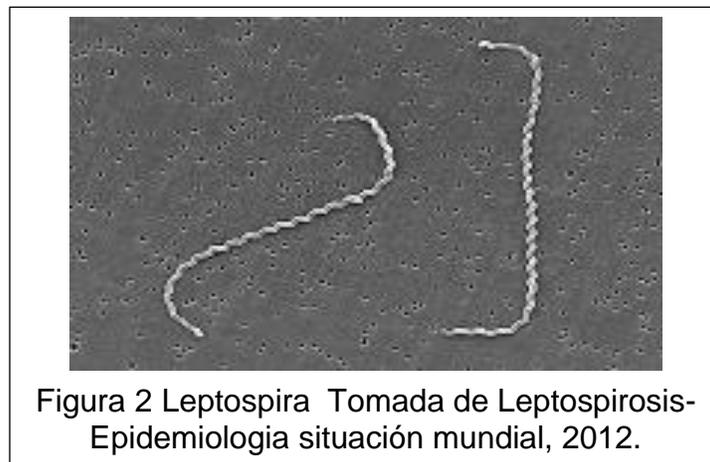
Figura 1 Estructura de *L.interrogans* (Stanchi,2007).

Estas espiroquetas que pueden ser saprofitos de vida libre que se encuentran en agua dulce o salada, algunas viven en asociación a su huésped ya sea animal o humano. (Zuerner, 2010). Leptospira requiere de un ambiente acuoso para sobrevivir, requiere de zonas húmedas o templadas para poder llevar a cabo su multiplicación. Puede causar infecciones agudas o crónicas en animales. Son bacterias muy invasivas debido a su movimiento activo, pueden penetrar la piel a través de heridas, mucosas incluida la conjuntival y se difunden rápidamente mediante vía sanguínea. (Adler *et al.*, 2010).

Las espiroquetas patógenas son difíciles de cultivar, algunos requieren métodos especializados y medios líquidos. Los medios serológicos se utilizan para investigaciones epidemiológicas y de diagnóstico clínico.

5.1. Agente etiológico

Los agentes causantes de leptospirosis pertenecen al género *Leptospira*, de la familia *Treponemataceae*, orden de los *spirochaetiales*. El género cuenta con dos especies: una patógena *Leptospira L. interrogans* y otra a patógena *L. Biflexa*. Las *Leptospira* tienen el cuerpo finamente encorvado. Construido por un protoplasma espiroideo enrollado a un filamento axial en unas 20 denominadas espiras primarias. Su tamaño es de 3-30 x 0.60 µm. (Adler *et al.*, 2010). **Figura 2**



5.1. Taxonomía y Nomenclatura

El género *leptospira* (Gr. *Lepto* = fino y *espira* = espiral) pertenece a la familia *Leptospiraceae* y al orden *Spirochaetales*, las cuales se diversificaron tempranamente en la evolución de las bacterias.

Género: *Leptonemay Turneriella*, Orden: *Leptospirales* y Clase: *Spirochaetia*, *Phylum: Spirochaetes* (Céspedes, 2005).

Tradicionalmente este género ha sido clasificado genotípicamente y fenotípicamente según sus determinantes antigénicos en dos especies: leptospira interrogans, (L.interrogans) que incluye a todas las cepas patógenas y leptospira biflexa, que comprende a las cepas saprófitas de vida libre. Las especies L. interrogans y L. biflexa han sido divididas en numerosos serovares, a partir de pruebas de aglutinación cruzada (CAAT) con antígenos homólogos. (Soncini et al. 2021). La clasificación genotípica existen tres subgrupos de leptospira: “patógenas”, “saprófitas” e “intermedias”. Son aerobias obligadas que crecen de manera óptima entre 29°C y 30°C.

5.2. Determinación de serovariedades

Las serovariedades más frecuentes que afectan al ganado bovino son: Pomona, Grippothyphosa, Hardjo, se dice que es una enfermedad estacional ya que suele tener mayor incidencia en los meses de verano y otoño en climas templados y en climas calurosos la presentación es en los meses lluviosos, favoreciendo a la multiplicación de la bacteria. (Centro de seguridad alimentaria y salud pública, 2005).

La infección en animales adultos es inaparente, todo lo contrario en animales jóvenes donde se tiene presentaciones clínicas; fiebre, ictericia, anemia, descenso en la producción láctea, abortos, momificaciones, esterilidad y hemoglobinuria. (Vadillo *et al.*, 2002).

Las especies de leptospira se clasifican por homología de ADN y dentro de cada especie y se reconocen varios serovares sobre la base de las reacciones serológicas. (Adler, 2015).

La identificación de las cepas de leptospira es un tanto complejo y solo se pueden llevar a cabo en laboratorios de referencia especializados; Para realizar una identificación completa, debe utilizarse una combinación de procedimientos que determinen: 1) si la cepa es un patógeno o un saprofito; 2) la especie de leptospira a la que pertenece la cepa y 3) el serogrupo y el serotipo de la cepa. (Manual terrestre de la OIE 2021).

Se mencionan aislamientos nacionales, en este caso se pueden describir 3 de los cuales se han realizado en México, la cepa H 89 (serovariedad hardjo) aislada en el riñón de un feto bovino recién abortado, procedente de una cuenca lechera del valle de México que tenía antecedentes serológicos de leptospirosis; la cepa Palo Alto (serovariedad icterohaemorrhagiae) que fue obtenida de un canideo de 3 meses de edad, que presentó un cuadro clínico de leptospirosis aguda; y la cepa Sinaloa ACR (serovariedad portland vere); que se recuperó de un riñón de un cerdo abortado, durante un brote de leptospirosis porcina. (Sánchez *et al.*, 2011).

Se pensaba que podrían presentarse la inmunidad cruzada de serogrupos de leptospira a esto se dice que solo el parecido estructural entre serovares de un mismo serogrupo admite cierta reacción antígeno-anticuerpo con la producción de cierto grado de inmunidad, ha quedado demostrada la imposibilidad de la existencia de inmunidad cruzada entre serogrupos diferentes tanto en animales como en humanos. (Cabezas *et al.*, 2005).

Cuadro 1 Resumen de los principales serogrupos y serovares más representativos de la especie *L.interrogans*

CLASIFICACION SEROGRUPO-SEROVARIEDAD <i>L.INTERROGANS</i>	
Serogrupo	Serovariedades Principales
<i>Australis</i>	<i>Australis, Bratislava</i>
<i>Autumnalis</i>	<i>Autumnalis</i>
<i>Ballum</i>	<i>Ballum, cetellonis</i>
<i>Bataviae</i>	<i>Bataviae</i>
<i>Canicola</i>	<i>Canicola</i>
<i>Cynopteri</i>	<i>Cynopteri</i>
<i>Gryppotyphosa</i>	<i>Gryppotyphosa</i>
<i>Hebdomadis</i>	<i>Hendomadis</i>
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Copenhagheni, icterohaemorrhagiae</i>
<i>Javanica</i>	<i>Javanica, poi</i>
<i>Louisiana</i>	<i>Louisiana</i>
<i>Mini</i>	<i>Swajizaka</i>
<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>
<i>Pyogenes</i>	<i>Pyogenes</i>
<i>Sarmin</i>	<i>Sarmin</i>
<i>Sejroe</i>	<i>Hardjo, saxkoebing, sejroe, wolffi</i>
<i>Shermani</i>	<i>Shermani</i>
<i>Tarassovi</i>	<i>Tarassovi</i>

(Gontafalla. 2015, Bautista *et.al.*, 2019,).

5.2.1. Cepa Icterohaemorrhagiae

En 1914, los japoneses Inada e Ido, encontraron una espiroqueta en el hígado de cobayos infectados experimentalmente con sangre de mineros que presentaban fiebre severa, con eventos hemorrágicos, por lo que la denominaron *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*. (Farrar, 1995).

La serovariedad *Icterohaemorrhagiae* produce lesiones en el hígado, originando un trastorno agudo caracterizado por la acumulación de pigmentos biliares en los canalículos y ductos hepáticos debido a la oclusión de estos por restos celulares. (Luna *et al.*, 2008).

Se han obtenido mayores prevalencias en el serovar *Icterohaemorrhagiae*, que tiene a los roedores como hospederos definitivos. Las prevalencias encontradas en las diferentes poblaciones estudiadas son muy variables, en el hombre van del 6% al 47%, en perros del 12% al 41%, en roedores del 12.5 % al 82%, en bovinos del 41 al 60 %, en cerdos del 10.3% al 25.7% y en animales silvestres como los primates no humanos se encontró una prevalencia del 23%. (Alarcón *et al.*, 2014)

5.2.2. Cepa Bratislava

En una muestra representativa de 21 artículos, en donde se detectó alguna serovariedad de leptospira en 7218 caballos .En estos se encontraron 40 serovariedades siendo la leptospira Bratislava la que se reporta con mayor frecuencia con 11.43%. Se sugiere que esta serovariedad es la que más se ha reportado en equinos. *Leptospira Bratislava* está adaptada a los equinos, ya que esta se ha asociado con problemas reproductivos en yeguas. (Toriz *et al.*, 2021)

Describe a los cerdos como huésped natural de leptospira interrogans serovar Bratislava junto al serovar Pomona. Serovar Bratislava tiene una distribución global, pero sigue siendo poco conocido debido a dificultades en el cultivo de estas cepas. Se describe desde 1975 en Estados Unidos por estar estrechamente relacionados con cerdos. (Hartman *et al.*, 1975).

Leptospira Bratislava está adaptada a los equinos, ya que se ha asociado con problemas reproductivos, Sin embargo, leptospira Bratislava y leptospira Muenchen, se han asociado con casos de infecciones en cerdos, caballos, bovinos y perros, y logrado identificar cepas similares en animales silvestres. (Arent *et al.*, 2016).

5.2.3. Cepa Gryppothyposa

La serovariedad Grippytyphosa tiende a causar disfunción renal aguda y/o hepatitis activa crónica en perros. Los hospedadores de mantenimiento son a menudo especies de vida silvestre y, a veces, animales domésticos y ganado. (CFSPH, 2005).

5.2.4. Cepa Canicola

Holandeses reportaron el aislamiento de una cepa canina, Hond Utrecht IV (Klarenbeek y Schuffner 1933), “que sigue siendo la cepa tipo para el serovar Canicola. La enfermedad en el ganado se informó por primera vez en Rusia en 1940 luego se lo denominó amarillo infeccioso. Fiebre del ganado”. (Adler 2015).

La serovariedad Canícola es reconocida como causante de daño renal, al provocar lesiones como nefritis, nefrosis o esclerosis renal destruyendo nefronas, ocasionando que muchos de los productos de desecho del metabolismo, como la urea y la creatinina se acumulen en proporción casi directa al número de nefronas destruidas, con una consecuente azotemia y uremia fina.(Castro *et al.*, 2001).

Es mantenido por perros en todo el mundo y no tiene otro conocido huésped de mantenimiento, pero la seroprevalencia ha ido cayendo en muchos países (Ellis 2010). Conocida también como enfermedad de Stuttgart en el perro, se relaciona con un proceso urémico por falla renal, se presenta en perros de 3-8 años, aunque

se han encontrado en animales jóvenes de 8 meses y en adultos hasta de 14 años. La serovariedad canicola por lo general causa nefritis intersticial crónica, e icterica, se considera la más común siendo la transmisión a través de orina de los perros infectados. (Luna *et al.*, 2010).

5.2.5. Cepa Pomona

Para el año 1936 Claryton y col. Aislaron una nueva variedad a partir de personas afectadas por una afección benigna, no icterica que hizo aparición entre los empleados de una explotación de bovinos y porcinos situada en la localidad de Pomona Australia (Adler, 2015).

Puede causar una enfermedad febril aguda en cerdos jóvenes, caracterizado por hemorragia, hematuria, ictericia, signos de insuficiencia renal; por lo que la infección puede ser fatal. Los animales adultos no gestantes suelen ser portadores asintomáticos, cerdos infectados eliminando enormes cantidades de *Leptospira* en su orina hasta un año después de iniciada la infección. El aborto, la muerte fetal o el nacimiento de lechones débiles o enfermos son a menudo las únicas manifestaciones de infección por Pomona. (Adler, 2015).

5.2.6. Cepa Hardjo

El ganado mantiene el serovar Hardjo, que tiene una distribución casi global, aunque hay algunas zonas de cría de ganado donde está ausente, se describe Hardjo bovis y Hardjo Prajitno: Ambas cepas tienen la capacidad de colonizar y persistir en el tracto genital de vacas y toros infectados, lo que sugiere que la

propagación venérea puede ser un factor en la transmisión. En 1960 el serovar Hardjo fue aislado por primera vez en bovinos de los EE.UU. por Roth y Galton; posteriormente se fueron identificando casos en prácticamente todo el mundo. (Monroy *et al.*, 2021).

Hardjo bovis fue aislado por primera vez en el ganado en Escocia (Michna y Campbell 1969) y posteriormente en Irlanda del Norte, donde era común en la década de 1970 y principios de la de 1980 a menudo en infección mixta. (Ellis *et al.*, 1988).

La enfermedad clínica en el serovar Hardjo (ambos subtipos); la infección suele ser subclínica, con la excepción de las vacas lactantes, donde puede ocurrir agalactia. Aunque pueden presentarse manifestaciones agudas como lo es una caída repentina en la producción de leche; con los cuatro cuartos afectados; la pirexia puede o no ser presente; la leche tiene una apariencia amarilla parecida al calostro, contiene coágulos, tiene un alto recuento de células somáticas y parece libre de organismos comunes que causan mastitis. (Adler, 2015).

5.2.1. Cepa H-89

La cepa H-89 (serovariedad Hardjo); aislada de riñón de feto bovino recién abortado, procedente de una cuenca lechera del valle de México que tenía antecedentes serológicos de leptospirosis. (Moles *et al.*, 2002).

5.2.2. Cepa Tarassovi

El serovar Tarassovi se encuentra diseminado en todo el mundo y se ha descrito entre los más frecuentes en el cerdo asociado a grandes afectaciones tales como abortos, mortinatos, etc. (Levett, 2001).

5.2.3. Cepa Palo Alto

De 1991 a 1993 en el departamento de leptospirosis bovina del CENID-Microbiología, se implementaron técnicas de aislamiento de *L. interrogans* recomendadas por la OPS, reportándose los primeros logros en 1992 al obtener el aislamiento de una cepa icterogénica a partir de un perro que correspondió a *L. interrogans*, serogrupo *L. Icterohaemorrhagiae*, serovariedad *L. Icterohaemorrhagiae*, a la cual se le designó como cepa Palo Alto. (Luna et al., 2012), la cepa Palo Alto (serovariedad *Icterohaemorrhagiae*) que fue obtenida de un canideo de 3 meses de edad, que presentó un cuadro clínico de leptospirosis aguda. (Moles *et al.*, 2002); misma que fue clasificada por el Servicio de Agricultura de Ames, Iowa Estados Unidos, utilizando la técnica de restricción de endonucleasas del ADN.

“Hasta el momento se ha logrado el aislamiento de este serogrupo en un total de 2 veces de diferentes individuos, una a partir de orina y otra de riñón”. (Luna *et al.*, 2012).

5.2.4. Cepa Portland Vere

La cepa Sinaloa ACR (serovariedad Portland Vere) que se recuperó de un riñón de un cerdo abortado, durante un brote de leptospirosis porcina (Moles *et al.*, 2002).

El serogrupo leptospira canicola ha sido aislado 9 veces en diferentes canidos con signología clínica de leptospirosis, en orina, riñón y sangre. Los aislamientos fueron clasificados como serovariedad L. Portland Vere; en todos los casos la epizootiología de la leptospirosis es compleja y la especie canina ha sido considerada como reservorio de 2 importantes serogrupos en todo el mundo. (Moles *et al.*, 2002).

5.3. Patogenia

La Patogenicidad de leptospira se relaciona con la virulencia del serovar infectante y la susceptibilidad de la especie al huésped. Aunque la enfermedad puede ser grave en huéspedes de inmaduros, la enfermedad grave ocurre con mayor frecuencia con huéspedes incidentales. (Kasper y Fauci, 2017).

La infección ocurre con mayor frecuencia a través de las membranas mucosas de los ojos, la boca, nariz o tracto genital. Un período de bacteriemia, que puede durar una semana, comienza 1 o 2 días después de la infección. Durante este período, las Leptospiras pueden aislarse de la sangre y la mayoría de los órganos del cuerpo y también del líquido cefalorraquídeo. (Kasper y Fauci, 2017).

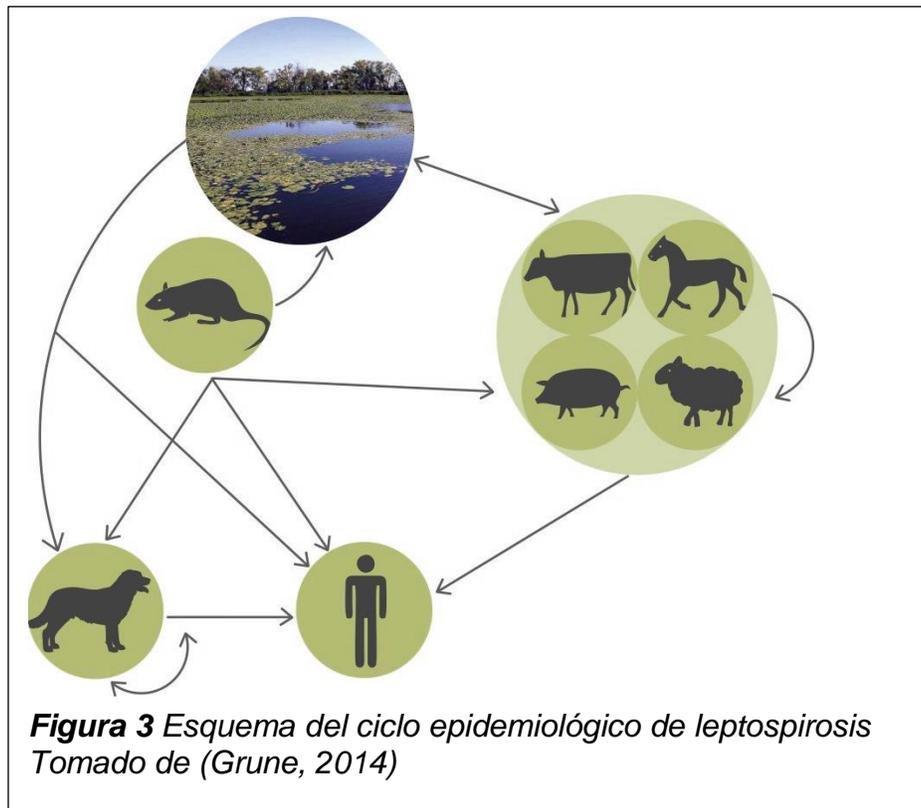
Las bacterias pueden contaminar heridas con líquidos contaminados como la orina de animales enfermos, al llegar a sangre se manifiesta la primera fase denominada leptospiremia, siendo febril y con sepsis; después de 7-10 días pasa a los riñones originando una nefritis crónica y se elimina por la orina siendo esta fase denominada leptospiruria. (Forbes *et al.*, 2009).

La fase bacteriémica primaria termina con la aparición de anticuerpos circulantes, que son detectables generalmente después de 10 a 14 días. Un período bacteriémico secundario (después de 15–26 días); donde las aglutininas antileptospirales aparecen en niveles detectables en la sangre aproximadamente 10 a 14 días después de la infección y alcanza niveles máximos alrededor de 3 a 6 semanas. (Forbes *et al.*, 2009).

Algunos organismos pueden evadir la respuesta inmunitaria y persistir en el organismo, principalmente en los túbulos renales, en el útero, los ojos y también las meninges. Los títulos máximos varían considerablemente (1,000 a 100,000 en el MAT) y pueden ser, mantenido por hasta 6 semanas, dependiendo de la especie, después de lo cual se produce un declive paulatino. Los títulos bajos pueden ser detectables durante varios años en muchos animales leptospirosos (Adler, 2015).

5.4. Transmisión

El ciclo epidemiológico de esta zoonosis es complejo debido a que participan varias especies, principalmente roedores que actúan como hospederos de mantenimiento (reservorios) de muchas serovariedades en todo el mundo, sin embargo, el hombre y los animales de producción son hospederos accidentales (Grune,2022). **Figura 3**



La transmisión de la enfermedad puede ser de forma directa, a través de un contacto con orina infectada, descargas uterinas, restos de placenta (luego del aborto), en forma venérea o por vía transplacentaria (infecciones congénitas). (Nally *et al.*, 2018). La forma indirecta de contraer la enfermedad es por la contaminación de los pastos, agua de bebida y alimentos. Aunque la tasa de mortalidad es baja en bovinos (5%), la morbilidad suele ser elevada, pudiendo llegar al 100% de los animales expuestos. (Foller, 2019).

Después de la primera semana de leptospiremia, las leptospiras se eliminan del organismo animal por vía urinaria, y contaminan el medio ambiente. Los reservorios más perfectos de la infección son aquellos animales que tienen una leptospiruria prolongada y generalmente no sufren ellos mismos la enfermedad. (Acha y Szyfres, 2001).

5.5. Diagnóstico

Es importante poder diferenciar la leptospirosis de otras enfermedades con signología parecida, como lo es, la caída en la producción de leche, infecciones virales agudas, enfermedades con insuficiencia hepática y renal y enfermedades caracterizadas por aborto, muerte fetal, nacimiento de descendencia débil o infertilidad, como Brucelosis, infección por Neospora, fiebre Q e infección por el virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB), clamidiosis. (Oie, 2021). Debemos mencionar la respuesta inmunosupresora del virus, y en este caso, la proliferación de la bacteria dentro del organismo. (Tizard, 2009).

5.6. Factores de riesgo

Es un número cada vez mayor la gama de especies de roedores, y la importancia de los animales domésticos como fuente de infección humana; las ratas como portadoras de leptospira. Como reservorio se menciona, la rata parda (*Rattus norvegicus*) es la fuente más importante de infecciones. Individuos que viven en ambientes urbanos caracterizados por inadecuado saneamiento y las viviendas deficientes tienen un alto riesgo de exposición a ratas y leptospirosis; y tres factores primordiales que juegan un papel importante en la transmisión y desarrollo de esta zoonosis 1.- condiciones epidemiológicas, 2.- susceptibilidad del huésped y 3.- virulencia del patógeno. (Adler, 2015).

Los factores de riesgo incluyen el contacto directo o indirecto con animales, incluida la exposición al agua y suelos con orina de animales contaminados, una descripción muy amplia sería el caso de los caninos, que deambulan por las calles, hembras y cachorros, por lo que tienen más contacto con otros animales. Además los perros presentan el comportamiento de marcar territorio, lo que ocasiona que libere y esparza la bacteria, lo que contribuye al ciclo de transmisión. (Flores, 2010).

Si una población mantiene una infección, puede también depender de la densidad de población y de las condiciones ambientales. Cabe mencionar que algunos serovares se asocian particularmente a un animal, pero también se pueden dar los huéspedes accidentales. (Raghavana *et al.*, 2012).

5.7. Descripción de una bacterina

Según la norma oficial mexicana, NOM-038-ZOO-1995. Requisitos mínimos para las bacterinas empleadas en la prevención y Control de Leptospirosis Bovina. Menciona que las bacterinas, que se utilicen para la prevención de la leptospirosis bovina, deben ser suspensiones de una o más serovariedades de leptospira interrogans, cuya presencia se ha demostrado en México por métodos serológicos y/o aislamiento e identificación inactivadas de forma tal, que conserven sus características inmunogénicas. Y dichos productos pueden contener algún conservador. (Norma oficial mexicana, art. 4.1 1995).

Una vacuna/ bacterina debe formularse para su uso en una especie concreta de animal de una región geográfica específica. Solo debe contener aquellos serotipos y preferentemente aquellos genotipos que causen problemas en la especie animal, o que se transmitan de una especie animal a otra en la región. Las cepas seleccionadas para utilizarlas de cultivo de inóculo original deben clonarse en un medio sólido para asegurar la ausencia de contaminantes saprofitos de leptospira y la uniformidad del cultivo. (Oie, 2021).

Biológicos Anti-leptospirosis, permitirían con cepas reconocidas nacionalmente, controlar el problema y poder suministrar un producto para controlar uno de los problemas más importantes que afecta el sistema reproductivo de la ganadería nacional. (Sánchez *et al.*, 2007).

La vacunación tiene que ser considera la principal, herramienta para evitar la trasmisión de leptospirosis entre los animales. Se deben implementar programas

para el control que consideran monitoreos serológicos, con la finalidad de identificar las serovariedades presentes en la zona, así como estrictos calendarios de vacunación y revacunación tanto para becerros como vacas en producción. (Herrera *et al.*, 2008).

5.8. Uso de bacterinas

Bacterina

Producto biológico elaborado a partir de bacterias muertas, inactivadas por medios químicos, adsorbidas en un adyuvante que se utiliza para provocar respuesta inmune protectora. (Diario oficial de la federación).

5.9. Bacterinas comerciales contra *Leptospira* de uso Veterinario disponibles en México.

5.9.1. Bovigen leptó 8 – Laboratorios Virbac

Suspensión inactivada de *Leptospira interrogans* serovariedad Canícola, serovariedad Grippotyphosa, serovariedad Hardjo tipo Hardjo-Prajitno, *Leptospira Borgpetersenii* serovariedad Hardjo tipo Hardjo-Bovis, serovariedad *Icterohaemorrhagiae*, serovariedad Pomona, serovariedad Tarassovi, serovariedad Wolffii. (Virbac, México 2023).

5.9.2. Bayovac leptó hb – Laboratorios Bayer

Bacterina Inactivada contra *Leptospira Borgpetersenii* serovariedad L. Hardjo, tipo Bovis adsorbida en adyuvante Spolin. (Bayer, México 2023).

5.9.3. Leptavoid-h – Laboratorios MSD

Contiene cultivos inactivados de leptospira interrogans serovariedad Hardjo (Hardjo Prajitno) y L. Borgpetersenii serovariedad Hardjo (Hardjo Bovis, como adyuvante sal de aluminio insoluble y timerosal como conservador. (MSD Salud animal.intervet México 2023).

5.10. Vacunas

Se define como sustancia compuesta por una suspensión de microorganismos, atenuados o inactivados que se introducen en el organismo para generar anticuerpos contra alguna enfermedad ya sea por bacteria o virus.

Las vacunas son una forma ingeniosa e inocua de inducir una respuesta inmunitaria sin causar enfermedades; Estas ponen en marcha las defensas naturales del organismo y, de ese modo, reducen el riesgo de contraer enfermedades. Actúan desencadenando una respuesta del sistema inmunitario. La inmunidad inducida por vacunas es por inmunidad adquirida, puede ser activa ante la presencia de un agente infeccioso y/o pasiva que se adquiere a través del calostro adquiere. (Tizard, 2009).

Las vacunas para uso veterinario son suspensiones de uno o más serotipos de Leptospira sp. Inactivadas de tal forma que la actividad inmunógena se conserva. Aunque se ha probado una gama de vacunas experimentales basadas en extractos celulares, las vacunas comerciales son productos con células completas. (Oie, 2021).

Los programas de vacunación deben adaptarse a cada población en cuestión y a la eficacia del producto que se utilizará. Lo ideal es vacunar al ganado vacuno antes de la posible exposición, y a partir de ese momento con una frecuencia anual,

programando la vacunación de tal modo que preceda a los periodos de mayor riesgo. Para que un programa de vacunación funcione, es necesario llevar a cabo estudios epidemiológicos en los que se evalúe la incidencia de los distintos serotipos de *Leptospira* en la población (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010).

Vacunas Inactivadas

Las vacunas muertas o inactivadas están formadas por microorganismos completos pero inactivados por algún método físico o químico. Estas vacunas, presentan como ventajas su estabilidad y seguridad, así como su conservación. Sin embargo, suelen inducir una respuesta inmunitaria menor que las vacunas atenuadas. (Sánchez, 2010).

5.11. Vacunas comerciales disponibles en México.

5.11.1. Bovimune master L5 – laboratorios Lapisa

Protección contra infecciones causadas por los virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina tipos I y II, Parainfluenza 3 y Respiratorio Sincitial Bovino y contiene bacterias inactivadas de *Leptospira* para las serovariedades Canicola, L. Grippotyphosa, L. Hardjo, L. Icterohaemorrhagiae y L. Pomona. (Lapisa. Salud animal México 2023).

5.11.2. Cattle master gold fp 5 I5 – Laboratorios Zoetis

Inmunización activa, contra el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), virus Parainfluenza 3 (PI3), virus de la Diarrea Viral Bovina (BVD) tipos 1 y 2 y virus Sincicial Respiratorio Bovino (BRSV); en la prevención de Leptospirosis

causada por *Leptospira Canícola*, *Grippytyphosa*, *Hardjo*, *Icterohaemorrhagiae* y *Pomona*; en la prevención de abortos causado por el virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) y de la infección persistente en terneros causada por el virus de la Diarrea Viral Bovina tipos 1 y 2 (BVD). (Zoetis, México 2023).

5.11.3. Bovilis vista 5 L5 SQ – Laboratorio MSD

Es una vacuna-bacterina, una vez reconstituida contiene cultivos vivos modificados del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), virus de la Diarrea Viral Bovina (BVD) (Tipos 1 y 2), virus de Parainfluenza 3 (PI3), Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV) y cultivos de *L. Canicola*, *L. Gryppytyphosa*, *L. Hardjo*, *L. Icterohaemorrhagiae* y *L. Pomona* con *un* adyuvante patentado. (MSD salud animal.intervet México 2023).

Cuadro 2 Calendario de medicina preventiva del módulo aplicado a los bovinos de la posta de la FMVZ-BUAP 2022.

Aplicación	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Bacterinización, Pasteurella, Clostridium, Mannheimia			X							X		
Vacunación IBR, DVB 1y2, PI 3, BRSV + Lepto					X						X	
Desparasitación				X						X		
Vitamina ADE Y Se	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Prueba de Brucella										X		

La vacunación que se maneja en el módulo de bovinos, se proporciona en becerras a partir de los 6 meses de edad, con un refuerzo anual de la vacuna Cattle master GOLD 5 L5 de laboratorios zoetis. Como se muestra en **figura 4**

Formula

Componente Liofilizado: Virus Rinotraqueítis Bovina, Cepa RBL 106 ts, Virus Para influenza Bovina Cepa RBL 103 ts, Virus Respiratorio Sincitial Bovino, Cepa BRSV/375.

Componente Liquido: Virus de Diarrea Viral Bovina tipo 1 cepa 5960, Virus de Diarrea Viral Bovina tipo 2, cepa 53637, Leptospira Canicola, Cepa C-51, L. Grippytyposa, Cepa MAL 1540, L.Icterohaemorrhagiae Cepa NADL (11403), L. Pomona, Cepa T262, L.Hardjo Cepa WHO.



figura 4 Foto de bacterina aplicada en los bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP

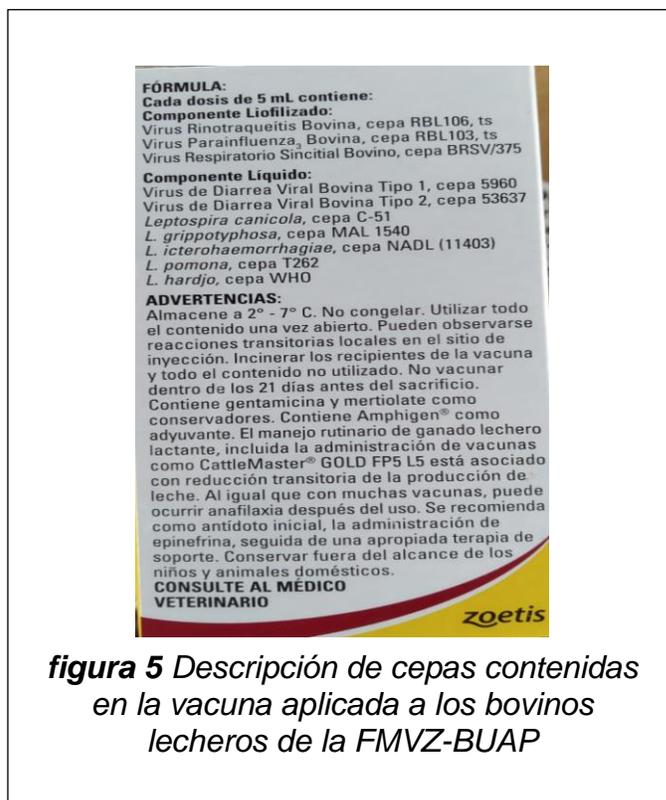


figura 5 Descripción de cepas contenidas en la vacuna aplicada a los bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP

Debido al tipo de placenta que presentan los rumiantes (Sindesmocorial) es decir, el epitelio coriónico está en contacto directo con los tejidos uterinos, en los animales con este tipo de placenta, no hay paso transplacentario de moléculas de inmunoglobulinas, y los recién nacidos dependen totalmente de los anticuerpos recibidos a través del calostro. (Tizard, 2009).

La efectividad de la vacuna aumenta efectivamente tras los 6 meses de edad, un manejo adecuado consiste en vacunar después del 3 o 4 mes de edad, seguido por dos revacunaciones en intervalos de cuatro semanas y deberán recibir un refuerzo a los 6 meses de edad para garantizar su protección. (Tizard, 2009).

VI. JUSTIFICACION

Este estudio es de suma relevancia ya que no se tienen registros previos relacionados a la bacteria (*Leptospira interrogans*) en la región de Tecamachalco, específicamente en las instalaciones de la FMVZ-BUAP, al realizar este estudio, se identificaron las serovariedades de *Leptospira*, que están afectando a los bovinos lecheros, aunque no se mencione en éste trabajo los porcentajes de morbilidad y mortalidad, se tiene que considerar que aunque la mortalidad es baja (5%), la morbilidad suele ser elevada, pudiendo llegar al 100% de los animales expuestos, en los terneros la mortalidad es mayor que en los adultos. (Follmer, 2019). Su importancia radica que al considerar a los bovinos como un ingreso económico para la posta y tener una morbilidad elevada, resulta ser un tema de interés, un problema de salud pública al ser una enfermedad de carácter zoonótico, por su fácil transmisión, debe considerarse de cuidado para la comunidad estudiantil y trabajadores que laboran dentro de las instalaciones. La exposición a *Leptospira* en una granja de producción lechera es un factor de riesgo para los humanos.

Se realizó un estudio transversal en 374 muestras de suero obtenidas de trabajadores y residentes de vaquerías en la Cuenca de Tizayuca, Hidalgo, México, para determinar la prevalencia de anticuerpos anti-*Leptospira* y los factores de riesgo asociados a este tipo de ambiente la seropositividad se definió a partir de títulos > 1:100. La seropositividad de anticuerpos anti-*Leptospira* entre la población fue del 46,8% (176/374). (Galarde *et al.*, 2021).

Por otra parte debemos mencionar que al realizar esta investigación, tendremos un panorama más amplio acerca de las serovariedades de *Leptospira* y de este modo probar el funcionamiento en el uso de bacterinas aplicadas a los bovinos de la posta zootécnica. Se intenta dar respuesta a los factores que condicionan la presencia de la enfermedad dentro de las instalaciones.

Los criterios de interpretación de la prueba indican que títulos de 1:50 son sospechosos y de 1:100 ó mayores, son positivos. Títulos de 1:100 a 1:200 son de importancia principalmente en animales no vacunados, títulos mayores con una sola muestra (=1:800) son usualmente indicativos de infección (Luna *et al.*, 2008).

VII. MATERIAL Y METODOS

5.1. Área de estudio

El área de estudio fue el módulo de bovinos lecheros de la Posta Zootécnica “El Salado”, perteneciente a la FMVZ-BUAP; está situada en la población del Salado que pertenece al municipio de Tecamachalco de Guerrero, Puebla, Sus coordenadas 18.8957418092, -97.6836947016, se describe como clima cálido-templado.

5.2. Determinación del tamaño de muestra

Se contempló una población total de 100 cabezas de bovinos en producción de la posta zootécnica, exclusivamente de las vacas lecheras, para lo cual se aplicó la fórmula de estimación de proporciones para determinar el tamaño de muestra necesario para calcular el porcentaje de la población que pudiera tener o no la variable de interés mediante la siguiente ecuación.

$$n = z^2 pq / d^2$$

Donde

n= tamaño de la muestra

Z= nivel de confianza = 1.96 al 95%

P= Probabilidad de que ocurra el evento (Prevalencia estimada) 14%

Q= 1-p, probabilidad de que no ocurra el evento

D= error estimado (20%)

Sustitución

$$n = (1.96)^2 (14) (100-14) / 20^2$$

$$n = (3.84) (14) (86) / 400$$

n= 11.55

n=**12 vacas**

5.3. Tipo de muestreo.

Se trabajó con 12 muestras de vacas lecheras con antecedentes de vacunación, las cuales se eligieron por medio de un muestreo no probabilístico en el cual se realizó una selección no aleatoria de los elementos y la probabilidad de ser seleccionado fue desconocida. Su importancia radica ante condiciones específicas en busca de características especiales, que hacen poco práctica la aleatoriedad, como lo es el caso de animales enfermos para casos y controles. (Arango *et al.*, 2010). Por medio del muestreo de juicio y criterio se extrajeron muestras de vacas con probabilidad de encontrar la variable de interés, que en este caso fueron muestras de vacas con antecedentes reproductivos, registros de abortos, momificaciones, y mastitis recurrentes mediante la prueba MAT.

Para complementar el trabajo de investigación se tomó en cuenta realizar un muestreo aleatorio a una población expuesta que resulta vulnerable, las becerras, del área de recría, sin antecedentes de vacunación, previamente destetadas en un rango de 4 a 6 meses de edad, de las cuales se obtuvieron 8 muestras.

5.4. Lugar y tiempo de muestreo:

Las muestras se realizaron en el mes de agosto, que engloba estaciones de verano, Leptospirosis presenta una frecuencia estacional, incrementándose con el aumento de lluvias y con ocurrencias de epidemias asociadas con cambios en el comportamiento humano, contaminación del agua con animales o aguas residuales (Secretaría de salud 2012).

5.5. Población de estudio

Se tomaron 12 muestras sanguíneas de vena coccígea de las vacas en producción de diferentes edades, en un rango de 1 a 6 años de edad; como se presenta en el **Cuadro 3** la Selección de la población de estudio se realizó en base a su historial clínico, registro de antecedentes reproductivos, abortos, becerros nacidos débiles o momificaciones.

Las siguientes fueron 8 muestras sanguíneas de la vena yugular de las becerras del área de recría destetada, y sin registro de vacunación en un rango de 4 a 6 meses de edad como se muestra en el **cuadro 4**.

Cuadro 3 Registro de datos de población con antecedentes de vacunación muestreada.

VACAS VACUNADAS	
Numero de Arete	Edad
0.32	1 año -10 meses
42	1 año -7 meses
113	6 años -7 meses
116	6 años -6 meses
131	5 años -11 meses
142	5 años -7 meses
163	5 años -7 meses
164	4 años -10 meses
179	4 años -2 meses
180	4 años -2 meses
186	3 años -7 meses
189	3 años -7 meses

cuadro 4 Registro de datos de población sin antecedentes de vacunación muestreada

BECERRAS NO VACUNADAS	
Numero de Arete	Edad
0.93	6 meses
0.94	6 meses
0.95	6 meses
0.96	5 meses
0.97	5 meses
0.98	5 meses
0.99	4 meses
100	4 meses



figura 6 Extracción de muestra de vena yugular para diagnóstico.



figura 7 Extracción de muestra de vena coccígea para diagnóstico

5.6. Metodología Diagnóstica

Las muestras fueron analizadas en un laboratorio privado, TAQ. Análisis Clínicos Veterinarios dedicados a Rumiantes. Se analizaron por la técnica de Aglutinación Microscópica (MAT); considerada la técnica estándar para el diagnóstico de esta enfermedad.

Las muestras se analizaron por medio de la técnica MAT, ya que es considerada la prueba de referencia para el diagnóstico serológico de leptospirosis, se considera una prueba estándar; se utiliza principalmente para diagnosticar la enfermedad en rebaños e individuos, es muy útil para diagnosticar una infección aguda. En esta prueba se utilizan antígenos vivos, considerando una muestra positiva cuando los títulos son $\geq 1:100$, los anticuerpos se producen a los pocos días después de la infección y pueden durar semanas, meses e incluso años (OIE 2021).

El código terrestre de la OIE menciona que se considera como positivo un título 1:100 pero en animales vacunados estaremos considerando como positivos títulos 1:400 como infección latente y títulos 1:100 consideramos positivos en animales no vacunados.

Los criterios de interpretación de la prueba indican que títulos de 1:50 son sospechosos y de 1:100 ó mayores, son positivos. Títulos de 1:100 a 1:200 son de importancia principalmente en animales no vacunados, títulos mayores con una sola muestra (=1:800) son usualmente indicativos de infección. (Luna *et al.*, 2008). Para este estudio consideramos como títulos positivos 1:100 para animales no vacunados, el 1:400 para vacunados.

5.7. Prueba de Aglutinación Microscópica

Definición

La MAT es una prueba que determina los anticuerpos aglutinantes en el suero de un paciente mediante la mezcla de varias diluciones de éste con leptospiras vivas o muertas (formolizadas). Los anticuerpos antileptospiras presentes en el suero hacen que las leptospiras se peguen unas a otras formando grumos. Este proceso de agrupamiento es llamado aglutinación y es observado usando microscopía de campo oscuro. (Guía para el diagnóstico, vigilancia y control-Leptospirosis humana 2008.)

Para efectuar un buen diagnóstico, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) recomienda como prueba de oro la Aglutinación Microscópica o Micro aglutinación como una prueba de referencia cuantitativa internacional específica para detección de anticuerpos contra serovares de *Leptospira*, se le conoce como prueba de oro para determinar el serogrupo y las serovariedades. Se deben

examinar al menos diez animales o el 10% del rebaño, el que mayor sea, y documentar el historial de vacunación de los animales. (Oie ,2021).

Es una prueba de anticuerpos aglutinantes de *Leptospira*; las espiroquetas cultivadas se exponen a diluciones seriadas del suero del paciente y se informa una dilución más alta que cause aglutinación del 50 % de los organismos. (Vaden *et al.*, 2011).

Constituye la prueba de referencia frente a la que se evalúan todas las otras pruebas serológicas. Mide la seroconversión o el aumento de los títulos de anticuerpos a *Leptospira*, por lo que es necesario testear muestras sospechosas tanto en fase aguda, como convaleciente (muestras seriadas).

Se puede mejorar la sensibilidad de la prueba utilizando aislamientos locales en vez de cepas de referencia, pero las cepas de referencia ayudan en la interpretación de los resultados entre los laboratorios. Un título de 1/100 se considera positivo, pero dada la alta especificidad de la MAT, pueden tomarse títulos menores como indicio de exposición previa a *Leptospira*.

Después de la incubación, el suero/antígeno las mezclas se examinan microscópicamente en busca de aglutinación y se determinan los títulos. 1:100,1:200,1:300,1:400 se consideran títulos vacúnales normales.

Utiliza una bacteria de cepas leptovirales vivas, se utiliza para determinar el título de anticuerpos y para la identificación tentativa del serogrupo *Leptospira* involucrado, cuando se dispone de información de antecedentes epidemiológicos. La identificación definitiva del serovar o serogrupo infectante no es posible sin el aislamiento del organismo causal. (Hartskeerl 2017).

Con la microscopia de campo oscuro, la dispersión de la luz por microorganismos muy delgados, como es el caso de las espiroquetas, suspendidas en líquido permite observarlas en un fondo oscuro.

5.8. Aplicación de la técnica MAT

Se recibe una muestra de suero en el tubo de ensayo y se procede a la separación del coagulo, decantar el suero en tubos serológicos con su tapa y se centrifuga a 1,500 rpm durante 10 minutos.

- Con pipeta de 1ml depositar en dos tubos serológicos 0.4 y 0.9 ml de SSR.

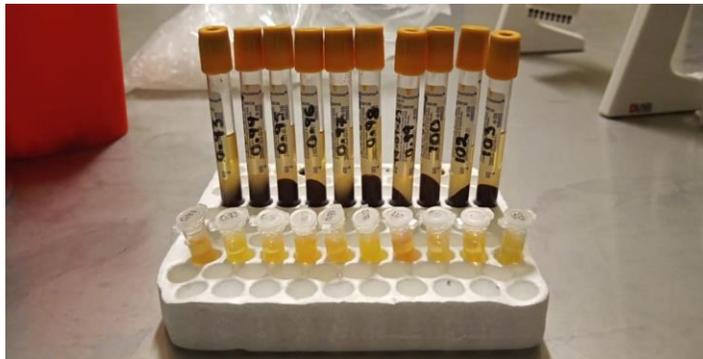


figura 8 Extracción de sueros en laboratorio TAQ

- A primer tubo se le añade 0.1 ml de la muestra de suero, distribuyendo 0.05 ml en cada una de las excavaciones de la Placa de Plexi (cada muestra ocupa los pozuelos de una fila).

- Con pipeta de 1ml añadir 0.05 ml de cada una de las cepas (antígenos) en cada una de las columnas verticales.
- Como control de cada antígeno, en la primera fila con una pipeta de 1ml se añade 0.05 ml de S:S.R. y además al añadir cada antígeno por columna vertical se inicia por el pozuelo de la primera fila, donde no se ha añadido ningún suero y por tanto no debe presentarse aglutinación, (control).
- Mover la Placa de Plexi con cuidado en el plano y en rotación e incubar a 30 grados durante una hora.
- De cada excavación tomar una gota de la mezcla y situar en el portaobjeto para sus observaciones en el microscopio de campo oscuro.
- Como resultado será positivo si se observa micro aglutinación en más del 25% del campo óptico como promedio de 10 lecturas.
- Con la reacción de micro aglutinación en los pocitos quedan identificados los serogrupos de Leptospira presentes en el suero.

Prueba Cuantitativa

Determina el título de anticuerpo de los sueros que son positivos.

De los sueros positivos, empleando una pipeta de 1ml, se diluyen cada uno partiendo del 2do tubo, el cual tiene el suero diluido a 1/50.

- Se toma 0.2 ml y se deposita en tubo serológico, al cual se le añade 0.2 ml de S.S.R obteniendo así una dilución de 1/100.

- A partir de esta dilución se procede igual al paso anterior de forma sucesiva en tubos serológicos para obtener diluciones de 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 y 1/3200.

- Se añade en cada excavación de la columna vertical 0.05 ml de cada dilución.

Se utilizará tantas columnas verticales de la Placa de Plexi como sueros positivos hay.

- Añadir a la columna vertical el correspondiente antígeno reaccionante en cantidad de 0.05 ml.

- Mover la placa, incubar 1 hora a 37 grados y preparar una lámina de portaobjeto de cada dilución.

- Resultados: Donde se observa en campo oscuro más del 50% de microaglutinación (+ +) se considera positivo, delimitando el título en la última dilución donde se observa el 50% de microaglutinación.

- Se consideran positivo por especies a partir de título de 1/100, Excepto el bovino con el serogrupo hebdomalis que es a 1/400.

Los serogrupos (antígenos) escogidos dependen de la prevalencia y frecuencia en la región y en el país, realizándose modificaciones al panel de antígenos para el serogrupo cada año y para el serovar cada 4 años. (Radames & Garcia.2013).

La mayoría de los títulos por vacunación contra *L. Hardjo* disminuyen a < 1:100 a los dos meses posteriores a la vacunación en vacunos no infectados. Por

lo contrarios, del 40 al 70 % de los vacunos con infecciones naturales de *L. Hardjo* serán seropositivos en cualquier momento con títulos > 1:100 independientemente de su estado de vacunación. (Lopes A. A., 2001).

Variables analizadas

Son variables cualitativas, dos variables categóricas nominales: tipo de animal (vacunado y no vacunado) y presencia de serovariedades de leptospira (negativo y positivo)

Se analizó la prevalencia de diferentes serovariedades de *Leptospira* en dos grupos de ganado vacuno: Animales vacunados y no vacunados.

Se utilizará para prueba de hipótesis la Chi Cuadrada para medir la asociación de las 2 variables, para poder determinar la prevalencia de serovariedades, en la cual se aceptará o no estas hipótesis.

5.9. Propuesta de protocolo de bioseguridad para el personal en las instalaciones del módulo lechero de FMVZ-BUAP

- Buen manejo del uso de equipos de protección, exclusivamente dentro de las instalaciones y manejo de buena higiene.
- Uso de equipo de protección, overol botas, guantes, lentes de protección, mascarilla.
- En caso de extraer muestras sanguíneas o hacer algún manejo con los animales utilizar el equipo de protección adecuado.
- El monitoreo de animales es de carácter obligatorio, los programas de prevención de enfermedades, diagnóstico y tratamiento oportuno contribuirán al mantenimiento de un hato sano.
- Es importante verificar que el material para la aplicación de productos inyectables sea nuevo y estéril, entre cada uno de los animales.
- Manejo adecuado de medicamentos y material punzocortante así como la manera de desecharlo junto con el material infeccioso de forma segura; enseñar y capacitar a los trabajadores del área.
- Correcta disposición de residuos peligrosos con material punzante y cortante como agujas, bisturís, y otro instrumental sanitario.
- Correcta disposición de residuos especiales biológicos, o residuos con contaminación química. Restos animales con entidad, como abortos, cadáveres, miembros y órganos.
- Evitar en lo posible el ingreso de animales domésticos dentro de los comederos y bebederos.
- En los programas de higiene y desinfección se debe considerar la limpieza del tanque de depósito para mantener el suministro de agua limpia.

5.10. Protocolo de bioseguridad de medicina preventiva para el módulo de bovinos de la posta zootécnica

- Desparasitación interna cada 3 meses. Posterior al destete (Previamente realizado un coproparasitoscopico, una muestra que se considere representativa para el hato).
- Desparasitación externa a todo el hato en los meses cálidos Mayo-Junio
- Vacunación contra IBR, DVB, PI3, y VSRB- Leptospirosis a partir del mes 3 aplicando una primera dosis posteriormente una segunda dosis a las 2 semanas, posteriormente a los 3 meses y seguida a los 6 meses, y 12 meses. Se recomienda vacunación cada 6 meses.
- Bacterinización – Pasteurella, Clostridium, Mannheimia se deben realizar en intervalos de 6 meses.
- Aplicación de Vitamina ADE + Selenio
- Realizar pruebas de seguimiento de mastitis a las vacas en producción.
- Pruebas de seguimiento para el control de Brucella y Tuberculosis
- Pruebas de Seguimiento para Enfermedades de tipo reproductivas.

VIII. RESULTADOS

Mediante el análisis de las muestras por medio de la prueba MAT se obtuvieron resultados positivos para leptospira y se pudo realizar la identificación de los serovares que están condicionando a la presentación de la enfermedad dentro de las instalaciones de la posta zootécnica, así mismo se analizó el uso de biológicos (Cattle Maste GOLF FP 5 L5) y su participación en la protección que emplean en los bovinos y dar respuesta a la gran problemática que afecta a nuestros animales. Los resultados de dichas pruebas se presentan a continuación **Cuadro 5, Cuadro 6, Cuadro 7**

Cuadro 5 Resultados de prueba MAT en vacas vacunadas, serovariedades Wolffi, Hardjo, Tarassovi, H-89.

Serovariedades L. Interrogans- Vacas Vacunadas				
ID	Wolffi	Hardjo	Tarassovi	H-89
0.32	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
42	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
113	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
116	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
131	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
142	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
163	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
164	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
179	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
180	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
186	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
189	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Cuadro 6 Resultado de prueba MAT en vacas vacunadas, serovariedades *Icterohaemorrhagiae*, Bratislava, Palo Alto, Portland Vere.

Serovariedades <i>L. Interrogans</i>- Vacas Vacunadas				
ID	Icterohaemorrhagiae	Bratislava	Palo Alto	Portland Vere
0.32	1:50	1:100	1:100	1:1600
42	1:200	1:200	1:100	1:400
113	1:400	1:800	1:800	1:1600
116	1:50	1:200	1:100	1:800
131	1:200	1:100	1:50	1:800
142	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
163	1:200	1:200	1:50	1:400
164	1:200	1:50	Negativo	1:400
179	1:400	1:400	1:800	1:1600
180	1:1600	1:400	1:1600	1:400
186	1:800	1:400	1:1600	1:800
189	1:200	1:200	1:600	1:800

Cuadro 7 Resultados de prueba MAT en vacas vacunadas, serovariedades Pyogenes, Gryppotyphosa, Canicola, Pomona.

Serovariedades L. Interrogans -Vacas Vacunadas				
ID	Pyogenes	Gryppotyphosa	Canicola	Pomona
0.32	1:100	1:200	1:200	1:200
42	1:100	1:100	1:200	1:200
113	1:100	1:200	1:200	1:200
116	1:400	1:200	1:400	1:200
131	1:50	1:100	1:200	1:100
142	1:800	1:400	1:1600	1:1600
163	1:100	1:50	1:100	1:50
164	1:100	Negativo	1:100	1:50
179	1:200	1:200	1:200	1:200
180	1:50	1:50	1:50	1:200
186	1:200	1:100	1:400	1:100
189	1:400	1:400	1:200	1:100

Se presentan los resultados de laboratorio de las prueba MAT en becerras no vacunadas. Cuadro 8, Cuadro 9, Cuadro 10

Cuadro 8 Resultados de prueba MAT en Becerras no vacunadas, serovariedades Wolffi, Hardjo, Tarassovi, H-89

Serovariedades L. Interrogans Becerras no vacunadas				
ID	Wolffi	Hardjo	Tarassovi	H-89
0.93	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.94	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.95	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.96	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.97	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.98	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.99	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
100	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Cuadro 9 Resultados de prueba MAT en becerras no vacunadas, serovariedades *Icterohaemorrhagiae*, *Bratislava*, *Palo Alto*, *Portland Vere*.

Serovariedades L. Interrogans- Becerras no vacunadas				
ID	Icterohaemorrhagiae	Bratislava	Palo Alto	Portland Vere
0.93	Negativo	1:50	Negativo	1:100
0.94	Negativo	1:100	Negativo	Negativo
0.95	Negativo	1:100	1:50	1:100
0.96	Negativo	1:100	Negativo	Negativo
0.97	1:50	1:400	1:50	1:100
0.98	1:100	1:100	1:100	1:200
0.99	Negativo	1:100	Negativo	1:50
100	1:100	1:200	1:50	1:100

Cuadro 10 Resultados de prueba MAT en Becerras no vacunadas, serovariedades *Pyogenes*, *Gryppotyphosa*, *Canicola*, *Pomona*.

Serovariedades L. Interrogans - Becerras no vacunadas				
ID	Pyogenes	Gryppotyphosa	Canicola	Pomona
0.93	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.94	1:50	Negativo	Negativo	Negativo
0.95	Negativo	Negativo	1:50	Negativo
0.96	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.97	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0.98	Negativo	Negativo	1:50	Negativo
0.99	Negativo	Negativo	Negativo	1:50
100	Negativo	Negativo	Negativo	1:100

5.1. Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software SPSS, versión 22.

Se utilizó para prueba de hipótesis la Chi Cuadrada para medir la asociación de las 2 variables, en la cual se aceptará o no las siguientes hipótesis:

H_0 : La presencia de la serovariedad de leptospira es independiente del tipo de animal (animal vacunado no vacunado)

H_A : La presencia de la serovariedad de leptospira depende del tipo de animal (si es animal fue vacunado o no fue vacunado).

5.2. Prueba de Chi Cuadrada

Como el valor de p es menor a 0.05, se acepta la H_A , es decir, la presencia de casos positivos depende de la condición del animal: si el animal está o no vacunado.

- Para la serovariedad *Bratislava* se tiene mayor número de casos positivos en los animales no vacunados (87.5 %) que en los animales vacunados (41.7 %), aunque a pesar de que se vacunó se tiene presencia de casos positivos, por lo que la bacterina no protege al 100%, aunque considerando la información técnica con esta vacuna no se tiene protección contra esta serovariedad.
- Para la serovariedad *Portland vere* se tuvieron el 100 % de casos positivos en los animales vacunados y el 62.5 % en animales no vacunados, en este caso con la bacterina aplicada pareciera que favoreció la presencia de esta serovariedad.
- En resumen, con la aplicación de la bacterina se está protegiendo a los animales para la serovariedad de *Bratislava*, sin embargo, la protección no es al 100 % pues se tienen casos positivos (41.87 %) a pesar

de que se vacunó al animal, aunque el porcentaje es menor con respecto a los animales que no se vacunaron, mientras que para la serovariedad de *Portland vere* el vacunar favoreció que el 100 % de los animales fueran casos positivos.

Cuadro 11 Tabla de frecuencia de la serovariedad Bratislava en función al tipo de animal.

		Tipo de animal		Total	
		No vacunado	Vacunado		
<i>Bratislava</i>	Negativo	Recuento	1	7	8
		% dentro de Tipo de animal	12.5%	58.3%	40.0%
	Positivo	Recuento	7	5	12
		% dentro de Tipo de animal	87.5%	41.7%	60.0%
Total		Recuento	8	12	20
		% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.040

Cuadro 12 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Portland Vere* en función al tipo de animal.

			Tipo de animal		Total
			No vacunado	Vacunado	
<i>Portland vere</i>	Negativo	Recuento	3	0	3
		% dentro de Tipo de animal	37.5%	0.0%	15.0%
	Positivo	Recuento	5	12	17
		% dentro de Tipo de animal	62.5%	100.0%	85.0%
Total		Recuento	8	12	20
		% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.021

Para la serovariedad de *Icterohaemorrhagiae*, *Pyogenes*, *Grippotyphosa*, *Canicola*, *Pomona* y *Palo Alto* se acepta la H_0 , es decir, la presencia de casos positivos de estas serovariedades de leptospira no depende del tipo de animal. Por lo que en esta unidad de producción se tienen las serovariedades antes mencionadas a pesar de que la bacterina aplicada protege contra: *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa*, *canicola* y *Pomona*. La prevalencia para las serovariedades *Icterohaemorrhagiae* y *Palo Alto* fue del 35 %, la de *Pyogenes* y *Canicola* fue del 15 %, la de *Grippotyphosa* y *Pomona* del 10 %.

Cuadro 13 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* en función al tipo de animal.

			Tipo de animal		Total
			No vacunado	Vacunado	
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Negativo	Recuento	6	7	13
		% dentro de Tipo de animal	75.0%	58.3%	65.0%
	Positivo	Recuento	2	5	7
		% dentro de Tipo de animal	25.0%	41.7%	35.0%
Total		Recuento	8	12	20
		% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.444

Cuadro 14 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Pyogenes* en función al tipo de animal.

		Tipo de animal		Total
		No vacunado	Vacunado	
<i>Pyogenes</i> Negativo	Recuento	8	9	17
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	75.0%	85.0%
Positivo	Recuento	0	3	3
	% dentro de Tipo de animal	0.0%	25.0%	15.0%
Total	Recuento	8	12	20
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.125

Cuadro 15 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Gryppotyphosa* en función al tipo de animal.

	Tipo de animal		Total	
	No vacunado	Vacunado		
<i>Gryppotyphosa</i> Negativo	Recuento	8	10	18
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	83.3%	90.0%
Positivo	Recuento	0	2	2
	% dentro de Tipo de animal	0.0%	16.7%	10.0%
Total	Recuento	8	12	20
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.224

Cuadro 16 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Canicola* en función al tipo de animal

			Tipo de animal		Total
			No vacunado	Vacunado	
<i>Canicola</i>	Negativo	Recuento	8	9	17
		% dentro de Tipo de animal	100.0%	75.0%	85.0%
	Positivo	Recuento	0	3	3
		% dentro de Tipo de animal	0.0%	25.0%	15.0%
Total		Recuento	8	12	20
		% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.125

Cuadro 17 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Pomona* en función al tipo de animal.

			Tipo de animal		Total
			No vacunado	Vacunado	
<i>Pomona</i>	Negativo	Recuento	7	11	18
		% dentro de Tipo de animal	87.5%	91.7%	90.0%
	Positivo	Recuento	1	1	2
		% dentro de Tipo de animal	12.5%	8.3%	10.0%
Total		Recuento	8	12	20

% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%
----------------------------	--------	--------	--------

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.761

Cuadro 18 Tabla de frecuencia de la serovariedad Palo Alto en función al tipo de animal.

			Tipo de animal		Total
			No vacunado	Vacunado	
<i>Palo Alto</i>	Negativo	Recuento	7	6	13
		% dentro de Tipo de animal	87.5%	50.0%	65.0%
	Positivo	Recuento	1	6	7
		% dentro de Tipo de animal	12.5%	50.0%	35.0%
Total		Recuento	8	12	20
		% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Valor de p para Chi cuadrado de Pearson = 0.085

Para las serovariedades *Wolffi*, *Hardjo*, *Tarassovi* y *H-89* en los dos grupos de animales se tuvieron el 100 % de casos negativos, por lo que no se pudo calcular el valor de p para la prueba de Chi Cuadrada. Con respecto a estas serovariedades se puede deducir que no se encuentran presentes en la unidad de producción.

Cuadro 19 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Wolffi* en función al tipo de animal.

			Tipo de animal		Total
			No vacunado	Vacunado	
<i>Wolffi</i> Negativo	Recuento		8	12	20
	% dentro de Tipo de animal		100.0%	100.0%	100.0%
Total	Recuento		8	12	20
	% dentro de Tipo de animal		100.0%	100.0%	100.0%

Cuadro 20 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Hardjo* en función al tipo de animal.

			Tipo de animal		Total
			No vacunado	Vacunado	
<i>Hardjo</i> Negativo	Recuento		8	12	20
	% dentro de Tipo de animal		100.0%	100.0%	100.0%
Total	Recuento		8	12	20
	% dentro de Tipo de animal		100.0%	100.0%	100.0%

Cuadro 21 Tabla de frecuencia de la serovariedad *Tarassovi* en función al tipo de animal.

		Tipo de animal		Total
		No vacunado	Vacunado	
<i>Tarassovi</i> Negativo	Recuento	8	12	20
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%
Total	Recuento	8	12	20
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

Cuadro 22 Tabla de frecuencia de la serovariedad *H-89* en función al tipo de animal.

		Tipo de animal		Total
		No vacunado	Vacunado	
<i>H-89</i> Negativo	Recuento	8	12	20
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%
Total	Recuento	8	12	20
	% dentro de Tipo de animal	100.0%	100.0%	100.0%

IX. DISCUSION

Se demostró que la presencia de diversas serovariedades de *Leptospira* presentes en la posta, incluso, algunas no adaptadas al bovino, lo cual no coincide con diferentes estudios serológicos que mencionan a la serovariedad *Hardjo*, reconocida como de distribución mundial y la más importante en el ganado bovino y en otros rumiantes; en los bovinos se han encontrado anticuerpos principalmente contra la serovariedad *Hardjo*, seguida de otras serovariedades, como *Gryppytyphosa*, *Pomona*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae* y *Bratislava* (Carmona *et al.*, 2011); la diferencia radica que en los bovinos lecheros de la posta zootécnica, no se encontró titulación contra serovariedad *Hardjo*, es decir en la región de Tecamachalco no hay indicios de *L. Hardjo* en los bovinos, pero si para el resto de serovariedades antes mencionadas.

Por ello la particularidad y la importancia en la identificación de estas serovariedades y ver el comportamiento con cepas nacionales que no están protegiendo con el uso de biológicos comerciales.

Las serovariedades con mayor prevalencia en los bovinos lecheros de la posta zootécnica FMVZ-BUAP fueron cepa *Portland vere*, *Bratislava*, seguida por *Icterohaemorrhagiae* y la cepa Palo Alto (*Icterohaemorrhagiae*), hay cierta similitud con lo que se menciona en un estudio, en donde se consideran las de mayor relevancia en una región templada cepa Palo Alto (*Icterohaemorrhagiae*), cepa Sinaloa ACR (*Portland vere*) y *Bratislava* (Luna *et al.*, 2005). Para la serovariedad *Portland vere* se tuvieron el 100 % de casos positivos en los animales vacunados y el 62.5 % en animales no vacunados, en este caso con la bacterina aplicada pareciera que favoreció la presencia de esta serovariedad, debemos de considerar los factores que condicionan a la presencia de una serovariedad o serovariedades específicas como es el caso del ambiente, huésped, factores climáticos.

La prevalencia para las serovariedades *Icterohaemorrhagiae* y Palo Alto fue del 35 %, la de *Pyogenes* y *Canicola* fue del 15 %, la de *Gryppytyphosa* y *Pomona* del 10 %. Es de relevancia considerando a estas serovariedades patógenas, se menciona *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Pomona*, *Gryppytyphosa* y *Australis* como

parte de las más patógenas. (Torres y Castro, 2016); considerando que la bacterina comercial protege contra cinco serovariedades, dentro de las que se encuentran *Icterohaemorrhagiae*, *Gryppotyphosa*, *Canicola* y *Pomona*, y al encontrarse títulos positivos contra estas serovariedades, se deduce realmente que la bacterina no está siendo eficaz y por lo tanto no está brindando protección a los bovinos lecheros. A esto debemos mencionar que se aislaron diversos serovares no específicos de los bovinos, Los serovares *Grippothyposa* e *Icterohaemorrhagiae* tienen como reservorios principales los roedores y animales silvestres. La serovariedad *Pomona* frecuentemente se encuentra en porcinos (Betancur *et al.*, 2013).

La prevalencia de uno u otro serovar puede variar de acuerdo con la zona geográfica y la especie de animal infectado. En los bovinos los serovares Hardjo, Wolffi y Tarassovi son los más frecuentes en México (Méndez *et al.*, 2013). Sin embargo, diferimos ya que en los bovinos lecheros de la posta zootécnica no se encontraron títulos contra estas cepas *Wolffi*, *Hardjo*, *Hardjo (Prajitno)* cepa H-89, por lo cual no existe similitud, con lo que relata el autor, no hubo aglutinación para estos serovares. Se considera que los serovares *Hardjo*, *Icterohaemorrhagie*, *Pomona* y *Canicola* se mantienen en los bovinos, roedores, porcinos y caninos, respectivamente. Sin embargo, pueden tener huéspedes incidentales y, de esta forma, las *Leptospiras* que pertenecen a un serovar en particular no son, por tanto, específicas de un hospedador. (Hernández y Gómez, 2011).

Los resultados entre animales vacunados contra los no vacunados, para la serovariedad *Bratislava* se tiene mayor número de casos positivos en los animales no vacunados (87.5 %) que en los animales vacunados (41.7 %), pero en ambos casos el resultado es positivo.

X. CONCLUSIONES

Se confirmó que los bovinos lecheros de la FMVZ-BUAP poseen anticuerpos contra leptospira.

Las vacas de la posta zootécnica realmente poseen anticuerpos contra más de una serovariedad de leptospira.

Se encontraron anticuerpos contra dos cepas nacionales, Palo alto, Portland vere, siendo la segunda, la de mayor relevancia.

Se encontraron altos porcentajes de seropositivos para las serovariedades Bratislava, Portland vere, seguida por Icterohaemorrhagiae cepa (Palo alto).

Se encontraron resultados negativos contra las serovariedades que normalmente afectan a la especie bovina, Wolffii, Hardjo, Tarassovi. Hardjo Prajitno cepa H-89.

Las vacunas elaboradas en otros países no cubren con la protección adecuada, y con esto se deduce que no tienen efecto vacunarlas con cepas que no están presentes.

Se debe implementar el uso de un protocolo de medicina preventiva en los bovinos lecheros de la posta de la FMVZ-BUAP.

Se debe implementar el uso de protocolos de bioseguridad para el personal que labora en las instalaciones.

XI. LITERATURA CITADA

1. Acha, R.N.; y B Szyfres . 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. *Organización Panamericana de la salud*.Vol.1. 580. 175-185.
2. Adler B. 2015. *Leptospira and Leptospirosis. Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer. 293p. Vol.387.
3. Adler, B.; De la Peña-Moctezuma. A. 2010. *Leptospira and leptospirosis. Veterinary Microbiology*. 140:287-296.
4. Alarcón, V.J.O.; Romani, R. F.; Tejada, R.A.; Wong, C. P, y Z.M Céspedes. 2014. *Leptospirosis seroprevalence and associated features in rice farmers of tropical region of Peru. Revista Peruana Medicina Experimental y Salud Pública*; 31(2):195-203.
5. Anomino. 2012. *Asociacion de médicos veterinarios de sanidad animal. Leptospirosis epidemiologia y situación mundial*. Disponible en <https://www.amse.es/informacion-epidemiologica/167-leptospirosis-epidemiologia-y-situacion-mundial> (consultado el 20 de enero de 2023).
6. Anónimo. 2005. *The Center for food security & public health .College of Veterinary Medicine,Iowa State University*.Disponible en

<https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/leptospirosis-es.pdf>(consultado el 10 de enero de 2023)

7. Arent, Z.; Frizzell C.; Gilmore, C.; Allen, A.; y W.A Ellis. 2016. *Leptospira interrogans* serovars Bratislava and Muenchen animal infections: Implications for epidemiology and control. *Veterinary Microbiology*. 190: 19-26.
8. Bautista, L.; Suárez, F.; y W. Huanca .2014. Seroprevalencia de leptospirosis en ovinos de dos ganaderías de Puno, Perú. *Revista Inv. Veterinaria Perú* 25(2):324-8.
9. Bautista, T.B.R; Bulla, C.D.M; López, B.H.A; Díaz, A.A.M, y M.O Pulido. 2019. Leptospirosis: enfermedad de importancia en salud pública. *Revista colombiana de ciencia animal recia*, 11 (2), 108-118.
10. Betancur, H.C.; Orrego, U.A.; y T.M Gonzales. 2013. Seroepidemiología de la leptospirosis en bovinos con trastornos reproductivos en el municipio de Montería, Colombia. *Revista médico veterinario*.No.26.
11. Burgos, M.D.I.; Pérez, R.C.A.; Bulnes, G.M.D.; Zambrano, A.H.P.; Sandoval V, M.A.; Falconí, F.L.; Vera, L.A.P.; Revelo, R. y R.O Fonseca. 2019. Determinación de la seroprevalencia de *Leptospira* spp. y los principales serovares circulantes en el ganado bovino en la provincia de Manabí, Ecuador. *Revista científica técnica. Oficina Internacional. Epizooties.*, 38 (3), 787-794.

12. Carmona, G.C.A.; León, L.L.; Castillo, S. L.O.; Ramírez, O.J.M.; Ko, A.; Luna, P.C, y A. De la peña-Moctezuma. 2011. Detección de *Leptospira santarosai* y *L. kirschneri* en bovinos: nuevos aislados con potencial impacto en producción bovina y salud pública. *Revista Veterinaria México*. Vol.42. No.4.
13. Casanovas, M.A.; Hamond, C.; Santos, L.A., DE Oliveira, D.; Hacker, K.P.; Balassiano, I.; Costa, F.; Medeiros, M.A.; Reis, M.G.; Ko A.I. y E.A Wunder. 2020. *Leptospira Yasudae* sp. and *Leptospira Stimsonii* sp. Nov., Two new species of the pathogenic group isolated from environmental sources. *Revista internacional de microbiología sistemática y evolutiva*. 70, 1450–1456.
14. Castro, M.J.; Zamora, E.L.; y B.C Valladares. 2001. Discusión de un caso diagnóstico. Nueva Época, Boletín Informativo de la Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México. *Revista de salud animal*. Vol.3.
15. Céspedes, M. 2005. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente. *Revista Perú Medica Experta Salud Pública*. 22:290-307.
16. Córdova, I. A.; Cano, M.S.; Moles, C. L.P.; Cisneros, P. M .A.; Rodríguez, A.G.: Ávila, G.J., y J.F Pérez G. (2005). Diagnóstico de leptospirosis en ganado

- bovino productor de carne. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, VI (7), 1-5.
17. Costa, F.; Hagan, J.E.; Calcagno, J.; Kane, M.; Torgerson, P.; y M.S Martínez-Silveira. 2015. Global Morbidity and Mortality of leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis*. 9(9):1-16.
18. Di Azevedo, M.I.N y W. Lilenbaum. 2020. An overview on the molecular diagnosis of animal leptospirosis. *Letters in Applied Microbiology* 72, 496-508.
19. Di Azevedo, M. y W Lilenbaum. 2021. An overview on the molecular diagnosis of animal leptospirosis. *Letters in applied microbiology*, 72(5), 496–508.
20. Erregger, E.; Stevenson, M. A.; Beggs, D.; Oswin, S.; Jagoe, S. P.; Mansell, P. D.; y M.F Pyman. 2020. A cross-sectional pilot study to estimate the prevalence of and risk factors for leptospirosis in South-Western Victorian dairy herds, 2017. *Australian veterinary journal*, 98(9), 417–423.
21. Farrar Edmund W. 1995. Especies de leptospira (leptospirosis) IN: enfermedades infecciosas principios y practicas mandell, G. gordon r. Bennett j. cuarta edición pág. 2396-2400.

22. Fernández, L.J.J.; Reyes, V.V.A. y A. De la Peña-Moctezuma.1993. Serological survey of *Leptospira interrogans* in dairy herds in Atlixco Puebla, using the microscopic agglutination test. *Revista veterinaria México*. 24(1):47-49.
23. Flores C.R .2010. La leptospirosis en perros y su impacto en la salud pública. CENID. Microbiología animal. INIFAP.1-77
24. Follmer, A.V. 2019. Estudio retrospectivo de leptospirosis de Fetos de Bovinos en la provincia de Pampa. Tesis de Especialización en diagnóstico de laboratorio veterinario. Facultad de ciencias veterinarias especialización en diagnóstico de laboratorio veterinario. Universidad Nacional de la Plata. Argentina. 36p.
25. Forbes, B.; Bailey, Scott.; Sham, F.D.; y S.A Weissfeld. 2009. Diagnostico microbiológico.12ª *Revista Buenos aires. Médica Panamericana*.1160 p
26. Galarde, L. M.; Bobadilla-del Valle, M.; L.M Sánchez Z. 2021. Alta exposición a leptospiras patógenas por parte de la población residente en vaquerías en Hidalgo, México. *Revista de Microbiología* **52**, 1013–1019.
27. Gómez, L.B.; Saltarén, C.A.; Díaz, A.M.T.; Robalino, V. M P, y P.S.A Lucero.2018. Cepario autóctono de leptospiras en la prueba de micro - aglutinación. *Correo Científico Médico*, 22(1), 50-6.

28. Gontafalla, G.; y R. Pirela. 2015. Characterization of bovine leptospirosis in Venezuela, Brief review of the disease. *Revista electrónica Veterinaria* 16(2):1-22.
29. Grune Löffler S. 2022. Manual sobre diagnóstico molecular de leptospirosis. Ediciones INTA, Instituto de Patobiología - IPVETCICVyA, 53. 101p
30. Hamond, C; LeCount, K; Putz, E.J.; Bayles, D.O.; Camp, P.; Goris, M.G.A, vander.; Linden, H.; Stone, N.E.; Schlater, L.K.; Sahl, J.W, Wagner, D.M y J.E Nally. 2022. Bovine Leptospirosis Due to Persistent Renal Carriage of *Leptospira borgpetersenii* Serovar Tarassovi. *Fronteras en la ciencia veterinaria*, 9.
31. Hathaway, S. C.; Little, T. W.; y D.G Pritchard. 1986. Problems associated with the serological diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in bovine populations. *Veterinary Record*, 107, 307-310.
32. Hernández, P.; y A.P Gómez. 2011. Leptospirosis: una zoonosis que afecta a la salud pública y la producción pecuaria. *Revista Ciencia Animal* (4):15-23.
33. Jaramillo, A.C.J.; y M.J.J Martínez. 2010. Epidemiología Veterinaria. XVI. Editorial El Manual Moderno 2010. 199 p 978-607.

34. Kasper, L.D y S.A Fauci. 2017. Harrison's Infectious Diseases. third edition. New York: McGraw-Hill Education Medical.
35. Klarenbeek, A.; y W. Schuffner. 1933. Het voorkomen van een afwijkend *Leptospira*-ras in Nederland. *Ned Tijdschr Geneeskd* 77:4271–4276.
36. Luna, A.M.A.; Moles, C.L.P.; Gavaldón, R.D.; Nava V.C y G.F Salazar. 2008. La leptospirosis canina y su problemática en México. *Revista Salud Animal*. Vol. 30. 1-11.
37. Luna, A.M.A.; Moles, C.P.L.; Gavaldon, R.D.; Nava, V.C.; y G.F Salazar .2005. Estudio retrospectivo de la seroprevalencia de leptospirosis bovina en México considerando las regiones ecológicas. *Revista cubana de medicina tropical*. Vol.57.1.
38. Luna, A.M.A.; Moles, C.L.P.; Banda, R.V.M y B.J Torres. 2012. Primer reporte del aislamiento de *L. interrogans* serovariedad *L. Portland-Vere* en México. Journal Article. Disponible en <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=MX19960045542> consultado 5 de diciembre de 2022.
39. Méndez, C.; Benavides, L.; Esquivel, A.; Aldama, A.; Torres, J.; Gavaldón, D.; Meléndez, P.; y L. Moles. 2013. Pesquisa serológica de *Leptospira* en roedores silvestres, bovinos, equinos y caninos en el noreste de México. *Revista salud animal*. 35(1):25-32.

40. Moles, C.LP.; Cisneros, P.M.A.; Gavaldón, R.D.; Rojas, S.N, y J.I Torres B. 2002. Estudio serológico de leptospirosis bovina en México. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(1), 24-27.
41. Monroy, D.Á.L.; Vargas, A.J.A.; Filippo, I.G. D, y J.J Quimbaya-R. 2020. Leptospirosis en reservorios animales. *Revista Lasallista de Investigación*. 17 (2), 266-279.
42. Moral, M.; Laplume, H.; Sardi, F.; Samartino, L.; Cudos, C.; Venasco, V.; Seijo, A.; San Juan, J.; Farace, M.I.; Giovachini, C.; Antman, J.; Geffner, L.; y N Casas .2014. Enfermedades infecciosas| leptospirosis, guía para el equipo de salud. No 9. República de Argentina. 1-50 p.
43. Nabity, S. A.; Araújo, G. C.; Hagan, J. E.; Damião, A. O.; Reis, M. G.; Ko, A. I. y G.S Ribeiro.2020. Anicteric Leptospirosis-Associated Meningitis in a Tropical Urban Environment, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 26(9), 2190-2192.
44. Nally, J.E.; Hornsby, R.L.; Alt, D.P.; Bayles, D.; Wilson-Welder, J.H.; Palmquist, D.E y N.E Bauer. 2018. Aislamiento y caracterización de leptospiras patógenas asociadas al ganado bovino. *Revista de Microbiología Veterinaria*, 218, 25-30.
45. Organización Mundial de la Salud; traducción del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control. (2008) - Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa – VP/OPS/OMS.

46. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).2021. Leptospirosis. En Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres, Capítulo 3.1.12. OIE, París, Francia.
47. Petrakovsky, J.; Bianchi, A.; Fisun, H.; Nájera, A.P.; y M.M Pereira. 2014. Animal Leptospirosis in Latin América and the Caribbean Countries: Reported Outbreaks and Literature Review (2002–2014). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 10770-10789.
48. Pineda, B.B.; Romero, R.P.; García, G.E.; Flores, L.E.; Hernández, R.P.; Olivar, V.G.; Fitz, S.E.; y J.L Ponce .2020. Seroprevalencia de anticuerpos anti-Leptospira spp. en estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Costa Grande de Guerrero, México. *Revista cubana*.
49. Quinn, B.K.; Markey, F.C.; Leonard, E.S.; Fitzpatrick, S.; Fanning y P.J. Hartigan. 2011. *veterinary Microbiology and Microbial Disease*. second edition. WILEY-BLACKWELL.
50. Radames, L. y García, A. 2014. Manual de teoría: Microbiología Veterinaria II.1ª ed. Managua: UNA p.143.
51. Raghavana, R.K.; Brennerb, K.M.; Higginsc, J.J.; Shawn, H. J.M.; y Harkinb K.R. 2012. Neighborhood-level socioeconomic and urban land use risk factors of

canine leptospirosis: 94 cases (2002-2009). *Preventive Veterinary Medicine*. 106(3-4):324-331.

52. Rodríguez, G.I.; Obregón, A.M.; Rodríguez, J.E.; Fernández, C.; Arzola, A y B. Victoria. 2002. Caracterización serológica de cepas aisladas de pacientes con leptospirosis humana en Cuba. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 40 (1), 11-15.
53. Romero, V.CM.; y A.K. Falconar. 2016. *Leptospira* spp. y leptospirosis humana. *Revista Salud Uninorte*.32 (1), 123-143.
54. Rosete, F.J.V.; Ríos, U.A.; Zárate, M.J.P.; Socci, E.G.A.; Fragoso, I.A.; Barradas, P.F.T.; Olazarán, J.S.; y Z.L. Granados .2021. Prevalencia de diversos serovares de *Leptospira interrogans* en vacas no vacunadas en los estados de Puebla, Tabasco y Veracruz, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 12(4), 1305-1316.
55. Sánchez, M.S.; Espinosa, M.DV.; Ríos, M.C.A, Berzunza, C. M.; y Becker. 2015. Leptospirosis in México: Epidemiology and potential distribution of human cases.

56. Sánchez, C.E.; Gutiérrez, B.; Fernández, C.; y P.J Arias. 2007. Producción y Evaluación Serológica de una Bacterina contra la *Leptospira* Bovina. Córdoba, vol.12. 967-977.
57. Sánchez, V.J.M. 2010. Curso de introducción a la Inmunología Porcina. Sanidad animal.3ra edición.
58. Schlegel, G.H y Zaborosch.C .1997.Microbiología General. Editorial Omega.
59. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud Dirección General de Epidemiología ISBN. 2012. Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la leptospirosis.
60. Smith, C.R.; Ketterer, P.J.; Mc Gowan, M.R.; Corney, B.G. 1994. A review of laboratory techniques and their use in the diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in cattle. *Australian Veterinary Journal* 98(9): 417-423
61. Tizard R.I .2009.Introducción a la Inmunología Veterinaria. Octava edición. El Servier España S.L.

62. Toriz, S.O.; Pérez R.J.; Herrera, B.A.; Torres, B.J.; y G.G Lombardero .2021. Frecuencia de leptospirosis en equinos: revisión de literatura. *Abanico veterinario*, 11, e202.
63. Torres, C. M.; Hernández, B.S.; Agudelo, F.P.; Arroyave, S.E.; Zavala, C.J.; y F.I Puerto .2016. Artículos de revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. *Revista Médica del Instituto Mexicano Seguro Social* (Vol. 54).
64. Vaden, S.L.; Knoll, J.S.; Smith, F.W.K.; y L.P Tilley. 2011. BLACKWELL'S LA CONSULTA VETERINARIA EN 5 MINUTOS CANINA Y FELINA: PRUEBA DE LABORATORIO Y PROCEDIMIENTOS DE DIAGNOSTICO.1ª ed. Editorial inter-medica.
65. Vadillo, S.; Piriz, S.; y E. Mateos .2002. Espiroquetas, por Latre Ma. Victoria. Vela Ana Manual de Microbiología Veterinaria.-1ª ed.cap-16 pag-235-252 .McGraw-Hill/INTERAMERICANA
66. Yescas, J.E; Rivero, P.N.; Montiel, H.E.; Valladares, B. Peláez, A. Morales, U.L.; y A Zaragoza. 2020. Comportamiento epidemiológico de la leptospirosis en México durante el periodo 2013-2019. *Revista de Salud Pública*, 22 (4), e202.
67. Zuerner, R.L. 2010. Family IV. Leptospiraceae Hovind-Hougen 1979.

