

30  
24



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"CUAUTITLAN"

**ANALISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR PRUEBA DE AGLUTINACION MICROSCOPICA CON DIFERENTES SEROVARIEDADES DE Leptospira, EN SUEROS DE BOVINOS CEBU; EN EL ESTADO DE CHIAPAS**

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A

GONZALEZ OSNAYA FEDERICO

Director de Tesis: G.F.I. Andrea A. Becerril Osnaya

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México 1990

**TESIS CON  
VALIA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

-	RESUMEN.....	1
I.-	INTRODUCCION.....	2
1.-	Antecedentes de la enfermedad.....	2
2.-	Aspectos económicos y de salud pública de la leptospirosis.....	5
3.-	Leptospirosis.....	6
3.1.-	Distribución geográfica.....	6
3.2.-	Etiología.....	6
3.3.-	Epizootiología.....	8
3.4.-	Patogenia.....	11
3.5.-	Signos clínicos.....	12
3.6.-	Lesiones macroscópicas.....	15
3.7.-	Lesiones microscópicas.....	16
3.8.-	Diagnóstico.....	17
3.9.-	Tratamiento.....	24
3.10.-	Prevención y control.....	25
II.-	OBJETIVOS.....	30
III.-	MATERIAL Y METODO.....	31
IV.-	RESULTADOS.....	37
V.-	DISCUSION.....	48
VI.-	CONCLUSIONES.....	53
VII.-	BIBLIOGRAFIA.....	55

## RESUMEN

Sobre un total de 99 sueros examinados de bovinos Cebú en dos regiones del Estado de Chiapas, se estudió la prevalencia de diferentes serovariedades de leptospiras.

Las muestras fueron obtenidas de animales no vacunados contra leptospirosis.

Los resultados se obtuvieron por la prueba de aglutinación microscópica con antígeno vivo.

De 30 sueros analizados procedentes del rancho de San Isidro la Gringa Mpio. de Cintalapa, Chis. (Región A), 14 resultaron positivos a diferentes serovariedades representando un 46.67%, encontrándose más frecuentemente a L. wolffi y L. hardjo, seguidos en orden de importancia por L. pyrogenes, L. australis, L. hebdomadis y L. pomona.

En el Mpio. de Pichicalco, Chis. (Región B), se analizaron 69 sueros de los cuales 31 reaccionaron positivos a las diferentes serovariedades de Leptospira representando el 44.93% y encontrándose más frecuentemente a L. hardjo y L. wolffi, continuando en orden de importancia L. worsfoldi, L. ballum, L. pomona, L. szuajizak y L. bataviae.

En ambas regiones las serovariedades prevalentes fueron L. hardjo y L. wolffi.

## I.- INTRODUCCION .

## 1.- Antecedentes de la enfermedad.

Es muy probable que la enfermedad de leptospirosis haya existido desde los tiempos más remotos pero en realidad nada puede asegurar este hecho. La enfermedad fué --- diagnosticada en el hombre varios años antes de que se supiera existía en el ganado. La similitud de los signos -- clínicos en el hombre con los de la fiebre amarilla y algunas de las características peculiares del microorganismo posiblemente retardaron el reconocimiento de la infección (19,38).

En 1800, Larrey observó una enfermedad en el hombre caracterizada por fiebre, ictericia y hemorragias petequiales. Hofer en 1850 describió una enfermedad canina similar a la infección humana. En 1883, Laundouzi reconoció un padecimiento febril al que llamó fiebre hepática el cual se presentó en cuatro trabajadores de alcantarillas; pero no fué sino tres años más tarde, en 1886, que Weil describe los síntomas de la enfermedad al observar a varios pacientes con fiebre, ictericia y con problemas hepáticos y renales.

Stimson, en 1907, diferenció esta enfermedad de --- otras de manifestaciones similares en los cortes de riñón de un paciente que se creyó había muerto de fiebre amarilla, en Norteamérica. Stimson creyó haber descubierto el agente de la enfermedad y lo denominó Spirochaeta interrogans. Inada y col. determinaron en 1916 la causa de la enfermedad de Weil, un germen que demoninaron Spirochaeta icterohaemorrhagiae. Esta enfermedad se confundió con la fiebre amarilla hasta que Noguchi, en el año de 1917, observando la morfología de este microorganismo y las lesiones.

nes que causaba en ratas silvestres, le dió el nombre de Leptospira del orden espiroquetales (22,26,27).

En la republica Mexicana la presencia de leptospirosis fué demostrada en los trabajos realizados por Noguchi en 1920 en el estado de Yucatán (47). Castañeda (41) - en 1928 aisló leptospiiras a partir de ratas del puerto de Veracruz. En 1963, Gastelum (18) menciona los primeros --- casos de leptospirosis en Mazatlán, Sñd. Más tarde en ---- 1937, Bustamante (41,42) diagnostica tres casos de leptospirosis, en uno de ellos apoyándose con pruebas serológicas; posteriormente Varela y col. en 1954 (41) trabajan - sobre el papel que pueden desempeñar ciertos artrópodos -- en la epidemiología de la enfermedad.

En 1962, Sais, Z., hizo estudios serológicos en bovinos utilizando las técnicas de aglutinación microscópica y macroscópica encontrando 17% de animales reactivos a Leptospira pomona (32).

Fernandez, S., en 1963, demostró la presencia de -- Leptospira pomona en riñón de ganado bovino, en un rastro del Distrito Federal (17). En 1968, Gutiérrez, F. LA., determinó la presencia de leptospirosis bovina en la excuena lechera del Distrito Federal (20). Rodríguez, G.H. ---- (1969), demostró la presencia de Leptospira en bovinos -- con historia clínica de aborto (30). López, G.H.M. (1972), encontró leptospirosis bovina en el rastro municipal de -- Cd. Victoria Tamaulipas (25). Reyes, L.E. (1981), realizó un estudio sobre leptospirosis en bovinos, ovinos y roedores, en el ex-vaso de Texcoco, los resultados fueron negativos a la prueba de diagnóstico (28). Alejo, C.R. (1982)

llevo a cabo un muestreo serológico de leptospiras en ----  
 bovinos lecheros de la Facultad de Estudios Superiores --  
 Cuautitlán, reportando un 28.88% de reactores positivos a  
 diferentes serotipos de Leptospira en un primer lote de -  
 45 bovinos de la FES-C y un 42.25% de reactores positivos  
 a diferentes serotipos en un lote de 35 bovinos traídos --  
 de E.U. para reemplazo. Los serotipos que se determinaron  
 en este trabajo fueron: L. icterohaemorrhagiae, L. pyroge-  
nes, L. hardjo, L. hebdomadis, L. pomona, L. gryppotipho--  
sa, L. ballum, L. canicola y L. wolffi (2).

Zavala, V.J., y col. (1984), en el estado de Yuca--  
 tán estudiaron 705 sueros humanos obtenidos tanto en Mérida  
 como en las zonas rurales, encontrando una reactividad  
 general de 14.1% con mayor predominio en el área rural --  
 que en el área urbana. También se estudiaron 1123 sueros -  
 de bovinos y 334 de porcinos. Aquí se encontró una reactividad  
 general de 8.8% en bovinos y 6.4% en cerdos. Los --  
 sueros humanos y de animales reaccionaron contra los sero-  
 tipos de: L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola -  
 y L. gryppotiphosa. Se determinó que tanto los sueros de -  
 animales como de humanos reaccionaron con mayor frecuen--  
 cia contra el serotipo de L. pomona (47).

2.- Aspectos económicos y de salud pública de la leptospirosis.

Desde el punto de vista económico, su importancia radica en que la ganadería mundial y nacional se ve afectada seriamente por este padecimiento, pues causa entre el ganado abortos, reducción en el aumento de peso en el ganado de engorda, baja en la producción láctea y muertes -- en becerros, principalmente. Su importancia se comprenderá mejor si se toma en cuenta que la enfermedad debe considerarse siempre como un problema de hato o de regiones, más que de individuos (4,19,33).

En cuanto al problema de salud pública, se ha observado que la leptospirosis es más frecuente en aquellas personas que por sus actividades que desempeñan o profesión, están más en contacto con las posibles fuentes de -- infección como los médicos veterinarios, técnicos de laboratorio que trabajan con cultivos vivos de Leptospira, empleados de rastros y granjas, trabajadores de alcantarillados, etc.

Existen muchos animales silvestres considerados como reservorios de la enfermedad, tales como zorrillos, tejones, ardillas, conejos, etc., sin embargo, es la rata -- de campo, quizá la que reviste mayor interés en Medicina Veterinaria y Salud Pública por su característica depredadora y transmisora de la enfermedad. También se ha comprobado que estos roedores eliminan leptospiras por orina durante toda su vida y no manifiestan síntomas o lesiones -- (1,33,44,47).



### 3.- LEPTOSPIROSIS

La leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa que afecta a casi todas las especies animales tanto domésticas como silvestres y también al hombre; siendo una zoonosis importante. La enfermedad en los bovinos presenta diversas manifestaciones clínicas, que comprenden fiebre, ictericia, hemoglobinuria y aborto (4,33,38).

#### 3.1.- Distribución geográfica.

Mundial. Cada región se caracteriza por los serotipos que contiene, determinados por su ecología. Las regiones tropicales son generalmente áreas endémicas de leptospirosis. Los niveles elevados de humedad y temperatura, la presencia de lagunas y ríos de caudal lento, épocas del año de intensas lluvias así como un pH del suelo neutro o ligeramente alcalino son algunas de las condiciones ecológicas favorables para la supervivencia de las leptopiras (1,12,31).

#### 3.2.- Etiología.

El agente causal de la enfermedad es un microorganismo perteneciente al orden de las Espiroquetales, familia Treponemataceae, género Leptospira (del griego leptos, delgado). Se reconocen dos especies: Leptospira interrogans, habitualmente llamada patógena y Leptospira biflexa, microorganismos de bajo poder patogénico que es de vida libre, se encuentra en aguas superficiales y raramente está asociada a infecciones en los mamíferos.

Las clasificaciones actuales consideran que hay --- más de 170 serovariedades o serotipos de leptospiras patógenas (L. interrogans) sobre la base de pruebas de aglutinación cruzada y adsorción de aglutininas con antisuero -- de conejo específico del serotipo. El grupo taxonómico básico es el serotipo que se incluye dentro de una especie. A su vez, los serotipos están agrupados por conveniencia - en 19 serogrupos (que no es un taxón reconocido) según -- los componentes aglutinogénicos predominantes que compar-- ten (1,7,8,40).

Morfológicamente, todas las leptospiras se caracte-- rizan por poseer espirales extraordinariamente finas, las cuales se hallan tan estrechamente enrolladas, que no pueden distinguirse al microscopio. Son organismos helicoidales y sinuosos de extremos semicirculares ganchudos. Mi--- den generalmente de 5 a 20 micras de largo y aproximada--- mente 0.1 a 0.2 micras de diámetro. La movilidad es consecuencia de los movimientos de rotación, flexión y trasla--- ción del microorganismo, uno de cuyos extremos o los dos - están a menudo curvados a modo de gancho. Las leptospiras pueden verse en campo obscuro o contraste de fase, pero no en microscopio de campo brillante. No se visualizan fácilmente cuando se tiñen con colorantes de anilina, pero pueden demostrarse con el uso de técnicas de precipitación -- de plata o mediante la tinción de Giemsa e impregnación -- argéntica. Las leptospiras son capaces de atravesar los -- filtros que retienen bacterias.

Las leptospiras son aerobios obligados que pueden - ser directamente cultivados en gran número de medios arti-

ficiales complementados con suero de conejo al 10%. Requieren de tiamina y vitamina B 12 en los medios de cultivo. -- Para cultivarse son óptimos un pH de 7.2 a 7.4 y una temperatura de incubación de 30°C (grados centígrados). El tiempo de incubación para crecimiento generalmente es de 6 a 14 días. Las leptospiras se pueden aislar durante la etapa aguda de la enfermedad por cultivo de sangre en medios como el líquido de Stuart o el semisólido de Fletcher, que contienen suero de conejo, o el medio EMJH (Ellinghausen--McCullough-Johnson-Harris), que contiene albúmina y ácidos grasos en lugar de suero (15).

Las leptospiras tienen escasa resistencia a los agentes físicos y químicos, mueren a una exposición de temperatura de 45°C. durante 30 minutos. No soportan una exposición prolongada a la luz solar directa y son muy sensibles a la acción de los ácidos. El yodo elemental, el halozone, el hipoclorito de calcio, y los detergentes catiónicos son eficientes para destruir al microorganismo -- en breve tiempo. Se ha observado que la orina con un pH ácido mata a las leptospiras en unas cuantas horas (7,19, 26,43).

### 3.3.- Epizootiología.

El conocimiento respecto a la transmisión natural de la enfermedad aun no ésta completamente claro, pero se considera que es influida por las infecciones en otras especies.

En el ciclo de la enfermedad las leptospiras, luego del período leptospirémico, se alojan en los túbulos -- renales de sus huéspedes y desde ahí pasan a la orina, --

siendo ésta la principal fuente de contaminación y mediante la cual son eliminadas al medio ambiente. La fuente de infección es casi siempre el animal enfermo que contamina es pasto, el agua de bebida y los alimentos. Dicha contaminación generalmente ocurre por medio de la orina infectada, fetos abortados y secreciones uterinas contaminadas. Estudios recientes mencionan que la transmisión a través de la cópula e inseminación artificial también puede estar presente. En semen congelado las leptospiras pueden sobrevivir por lo menos tres años.

Las vacas en lactación pueden eliminar leptospiras en la leche, principalmente en la fase aguda de la enfermedad y así transmitirla a becerros lactantes susceptibles.

Las leptospiras al ser eliminadas por el animal infectado permanecerán viables si las condiciones ecológicas son favorables y quedarán en forma latente hasta encontrar un nuevo huésped como pueden ser ratas y diversos animales de fauna silvestre. (fig. 1). Por ejemplo en algunos roedores se ha comprobado la eliminación de leptospiras por orina durante toda su vida y sin manifestar signos ni lesiones, por lo que estas especies no solo diseminan leptospiras, sino que también mantendrán los serotipos que se encuentren en ellas hasta cerrar el ciclo nuevamente.

Las leptospiras generalmente entran al huésped a través de la superficie mucosa (oral o nasal) por piel -- abrasionada, sin embargo la entrada por vía conjuntival -- también es frecuente.

Animales infectados

Animales susceptibles

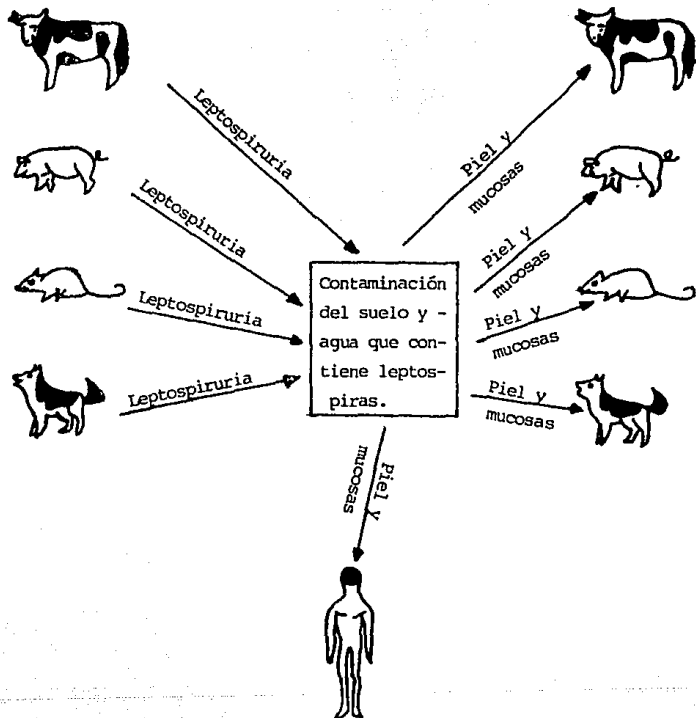


Fig. 1. Leptospirosis: Ciclo de transmisión (Acha, N.P. y Szyfres, B. 1986 )

Los perros y los cerdos también son fuente de infección para el ganado, siendo los cerdos los de mayor importancia en la transmisión ya que se sabe eliminan en la orina grandes cantidades de leptospiras por períodos prolongados, inclusive después de sanados clínicamente (3,4, 12,15,16,19,23).

### 3.4.- Patogenia

Las leptospiras después de que entran al organismo por las diferentes vías antes mencionadas se multiplican rápidamente en el torrente sanguíneo de donde pueden aislarse durante varios días hasta que el período febril ha disminuido, luego de la fase leptospirémica, se alojan en los túbulos renales y de ahí pasan a la orina con la cual son eliminadas al medio ambiente.

El período de incubación es de cuatro a nueve días. La leptospiruria comienza después de la primera semana de enfermedad y suele durar dos o tres meses, ya sea en forma continua o intermitente. Luego de los seis meses la leptospiruria es escasa o nula, dependiendo del serotipo que este afectando al animal. Los anticuerpos se hacen detectables entre el sexto y décimo día y alcanzando niveles máximos en la tercera o cuarta semana de enfermedad; a partir de ahí disminuyen gradualmente aunque pueden seguir siendo detectados por años.

En la fase aguda de la enfermedad los animales pueden morir por septicemia, por anemia hemolítica, o bien por una combinación de ambas presentaciones. También la -

muerte puede presentarse por insuficiencia hepática o uremia. Después persiste bastante tiempo todavía en los riñones por lo que ocasiona lesiones graves en los mismos.

La leptospirosis provocada por el serotipo hardjo (15,16) se detecta y persiste en el riñón, lo mismo que en el oviducto y útero ya sea vacío o preñado, por lo que el contacto sexual y las secreciones uterinas contaminadas pueden ser también una manera fácil e importante de transmisión de la enfermedad.

La extensa destrucción de glóbulos rojos da como resultado, la anemia, la hemoglobinuria e ictericia. Puede presentarse hemoglobinuria durante la última etapa del período febril o posteriormente. La anemia y la ictericia se producen con menos frecuencia que la hemoglobinuria. - Varios serotipos de leptospiras producen endotoxinas, y otros también producen hemolisinas, por lo que una hemólisis puede combinarse con anoxia anémica e incluso con nefrosis hemoglobinúrica en la lesión vascular básica.

En los animales gestantes el aborto es provocado por anoxia tisular y muerte del feto, con degeneración placentaria o sin ella; ambos efectos se deben a la invasión del producto durante la etapa septicémica de la enfermedad (4,12,19,33,44).

### 3.5.- Signos clínicos.

La infección por Leptospira en los bovinos puede provocar una enfermedad de curso agudo, subagudo o crónico.

La mortalidad varía entre 5 y 15%, siendo más alta en bovinos jóvenes que en adultos, la morbilidad puede exceder del 75% llegando en ocasiones al 100%.

En la forma aguda, que afecta principalmente a bovinos jóvenes, aunque puede ocurrir también en animales adultos, las primeras manifestaciones de la enfermedad -- son por lo general fiebre de 40 a 41.5° C. que suele durar unos cuantos días, anorexia, depresión, respiración superficial y acelerada, supresión de la rumia, rigidez de los miembros posteriores y en ocasiones también de la cabeza. La hemoglobinuria puede presentarse durante la última parte del período febril y que junto con la anemia hemolítica producen ictericia y palidez de mucosas. En las vacas se observa una disminución brusca de la producción de leche y es frecuente una mastitis atípica, la ubre se muestra flácida, la leche se torna viscosa y de color rojiza a veces teñida con sangre. El curso de la enfermedad es más severo en los terneros en los cuales se observa retraso en el crecimiento y una mortalidad variable. Los animales adultos también pueden perder peso a consecuencia de la infección. El aborto ocurre con frecuencia debido a la reacción general en la etapa aguda del padecimiento.

El curso subagudo de la enfermedad se caracteriza por ser menos grave que el anterior, observándose casi los mismos signos pero en menor grado. La fiebre puede --



ser de 39 a 40.5° C. hay un cierto grado de hemoglobinuria y no es frecuente la ictericia. La ubre no presenta cambios físicos aparentes, la secreción láctea disminuye, la leche se observa de color amarillenta, espesa y en ocasiones también teñida con sangre, que son principalmente algunos de los signos característicos durante esta fase. El aborto suele producirse de una a cuatro semanas después del comienzo de la enfermedad.

En la forma crónica de leptospirosis el aborto es a veces el único signo, que generalmente ocurre después de los seis meses de gestación, probablemente porque es más fácil la invasión de la placenta en esta etapa. La retención de placentas se produce hasta en un 25% de los animales que abortan (1,10,13,16,19,34).

Se menciona una posible asociación entre leptospirosis por el serogrupo Hebdomadis y aborto de etiología desconocida.

La L. pomona se sabe que produce hemólisis intravascular, ictericia, hemoglobinuria, nefritis intersticial, uremia, agalactia, hipertermia, anemia y lesiones capilares, siendo el aborto el principal signo en la enfermedad crónica.

La leptospirosis causada por L. hardjo es una infección distribuida mundialmente en los bovinos. Esta variedad ha sido bien identificada como causante de abortos, nacimientos prematuros, muerte neonatal, mastitis atípica, agalactia, retenciones placentarias y reciénamente se --

menciona que puede estar involucrada como una de las causas de infertilidad bovina. A menudo los títulos de L. -- hardjo son bajos y las infecciones generalmente ocurren en ausencia de títulos aglutinantes (8,14,15,23,24,36).

### 3.6.- Lesiones macroscópicas.

A pesar de que se han publicado numerosos trabajos, describiendo las alteraciones observadas durante un examen post-mortem de animales enfermos de leptospirosis, -- ninguno de los hallazgos patológicos puede considerarse patognomónico. En casos agudos se encuentra ictericia generalizada con hemorragias subepiteliales, subserosas y submucosas, lo mismo que homoglobinuria, y si esta es intensa a menudo se asocia con enfisema y edema pulmonar. -- También se pueden encontrar úlceras y hemorragias en la mucosa del abomaso, anemia e hipoplasia de la médula osea. El aumento en el tamaño del bazo es característico. El hígado suele estar algo aumentado de volumen, amarillento y con frecuencia presenta hemorragias subcapsulares y parenquimatosas. Los riñones casi siempre tendrán mayores cambios macroscópicos que el hígado. En la fase aguda de la enfermedad el riñón se caracteriza por estar algo aumentado de volumen y tenso. Pueden presentarse pequeñas áreas irregulares de pigmentación similares a hemorragias por debajo de la cápsula. En los animales que sobreviven a la infección generalizada se encuentran lesiones blancas o grisáceas de aproximadamente 4 mm de diámetro en el parénquima renal.

En los fetos abortados suele encontrarse líquido -- serosanguinolento en las cavidades peritoneal, pericárdi-

ca y pleural. Una lesión bastante común es la hemorragia que se localiza dentro de la grasa perirrenal con acumulación subcutánea e intramuscular de suero y sangre hemolizada. El cordón umbilical generalmente se encuentra edematoso y se secciona cerca de la pared abdominal. Algunos fetos abortados eventualmente quedan autolisados de tal manera que no puede demostrarse la existencia de lesiones o bacterias (19,35).

### 3.7.- Lesiones microscópicas.

Desde el punto de vista histológico, en el hígado hay edema difuso hepatocítico intracelular e intercelular. la tumefacción celular origina desorganización aparente de la arquitectura lobulillar. En las áreas portales del hígado generalmente se encuentra infiltración de linfocitos e histiocitos, y en los glóbulos hepáticos se presenta una necrosis hepatocítica centrilobulillar e infiltración mononuclear leucocitaria. En algunos casos se observa hemosiderosis del bazo (29).

Las alteraciones microscópicas en el riñón están por lo general confinadas a los túbulos, aunque los ovillos glomerulares pueden estar congestionados. Las células epiteliales y los tubos afectados tienen citoplasma granular, fragmentación del citoplasma y desprendimiento de las células junto con la membrana basal. Durante la etapa aguda de la enfermedad las leptospiras se pueden observar en cortes impregnados con plata, localizadas en el epitelio tubular afectado. Los lóbulos renales revelan infiltración mononuclear focal ampliamente distribuida, encontrándose principalmente células plasmáticas y linfocitos.

tos, pero pueden existir histiocitos, neutrófilos, eosinófilos y en algunos casos hay células gigantes sincitiales del tipo Langhans. Estas áreas de infiltración celular -- prominentes por debajo de la cápsula renal son los focos blanco grisáceos observados a simple vista. Las células - epiteliales de los túbulos e histiocitos normalmente se - encuentran en localizaciones perivasculares conteniendo - hierro, el cual se interpreta como hemosiderina, su pre-- sencia es consistente con los antecedentes de hemólisis - intravascular y hemorragias intratubulares. La fibrosis - no suele encontrarse frecuentemente.

En algunos fetos abortados se ha observado nefri-- tis intersticial de mediana severidad. Esta lesión tam-- bién puede encontrarse en animales adultos durante la eta-- pa tardía del padecimiento (19,23,34).

### 3.8.- Diagnóstico.

Es sumamente difícil establecer un diagnóstico de leptospirosis si no se cuenta con una historia clínica -- completa, además de que es raro encontrar en un solo ani-- mal todos los signos de la enfermedad. Cuando la enferme-- dad afecta a varios animales de un rebaño el diagnóstico es menos difícil. Casi siempre un diagnóstico clínico de-- be acompañarse con estudios de laboratorio que permitan - el aislamiento o la seroidentificación del agente.

Diversos procedimientos microscópicos, de cultivo, serológicos e inoculación en modelos experimentales pue-- den emplearse para el diagnóstico de laboratorio de lep-- tospirosis. La selección y el uso de una prueba apropiada

dependen del conocimiento de la infección.

Las leptospiras se pueden aislar durante la etapa aguda de la enfermedad por cultivo de sangre en medios -- como el de Fletcher o el de Stuart, que contengan suero -- de conejo al 10%, y el medio EMJH, que contiene albúmina y ácidos grasos como suplemento para su enriquecimiento en lugar de suero. La sangre no requiere anticoagulante. El líquido cefalorraquídeo, también puede cultivarse durante la etapa aguda del padecimiento. Después de la primera semana de enfermedad la recuperación de leptospiras por cultivo de la orina es posible. Las muestras de orina y líquido cefalorraquídeo deben cultivarse rápidamente o refrigerarse por períodos no mayores de 5 días. Si se --- practica una necropsia se debe hacer cultivo de riñón. -- Los cultivos se incuban a 30°C. o a temperatura ambiente en la obscuridad, y se descartan si son negativos después de seis semanas de incubación.

El examen microscópico en campo obscuro también -- puede revelar la presencia de leptospiras. Las muestras -- que se examinan son generalmente orina y sangre. Aunque -- el método puede ser valioso para establecer un diagnósti- co rápido, no se recomienda como procedimiento de diagnós- tico rutinario porque artificios como detritos celulares y\_fibrillas se confunden a menudo con espiroquetas. Las -- técnicas de coloración de anticuerpos fluorescentes y de precipitación de plata, así como la tinción de Giemsa e -- impregnación argéntica, se han usado para demostrar orga- nismos en tejidos post mortem, y son particularmente úti- les si las pruebas serológicas y de cultivo no son posi- bles. Las muestras para histopatología, deben colocarse --

en recipientes que contengan formol tamponado al 10%, en porción de 1 vol. de tejido en 10 vol. de formol (6).

La inoculación en modelos experimentales con material contaminado, tiene como finalidad la recuperación de leptospiras de la sangre u otros materiales que puedan obtenerse asépticamente para cultivo directo. Los hámster - destetados y los cobayos jóvenes se prefieren comúnmente por su mayor susceptibilidad a la infección por gran variedad de serotipos. El material se inyecta intraperitonealmente. La sangre cardíaca para cultivo se toma el --- cuarto y sexto día después de la inoculación, o cuando --- aparecen los primeros signos de la enfermedad (26).

Las pruebas serológicas que se han empleado para - el diagnóstico de leptospirosis son numerosas. Entre las más importantes se incluyen: aglutinación en placa, aglutinación microscópica, fijación de complemento y prueba - de anticuerpos fluorescentes. La aglutinación microscópica es considerada como prueba estándar y es la que más se ha usado. Es muy sensible para el diagnóstico de infecciones recientes y pasadas. El número de serotipos de prueba puede ser desde unos pocos a 15 o más, según el número de serotipos y su existencia relativa en regiones geográficas específicas. Cultivos jóvenes de leptospiras en medios líquidos se usan como antígeno. Pueden usarse vivos o tratarse con formol (43). Los sueros de prueba se diluyen seriadamente de dos a cuatro veces con solución fisiológica para dar diluciones séricas de 1:50 hasta 1:3200. Cantidades de dos décimas de mililitro de suero de cada - dilución se distribuyen en una serie de tubos de aglutinación añadiendo igual volumen de antígeno. Las mezclas de

reacción se agitan, se incuban a temperatura ambiente durante dos o tres horas, se agitan nuevamente y se examinan buscando aglutinación en microscopio de campo oscuro. -- Los títulos de 1:100 ó más se consideran positivos aunque varían para cada laboratorio (45).

Es necesario tener en cuenta que las reacciones --- cruzadas se producen no solo entre diferentes serovariedades del mismo serogrupo, sino que al principio de la in--- fección (2-3 semanas) también ocurren entre serovariedades de diferentes serogrupos, y puede predominar el título de una serovariedad heteróloga. Con el transcurso del tiempo se hace más alta la reacción a la serovariedad homóloga.

Lo largo y complicado de la prueba de aglutinación microscópica limita su utilidad para laboratorios peque--- ños. Para evitar esta desventaja se han preparado pruebas de aglutinación macroscópica en láminas portaobjetos que - incorporan antígenos individuales o combinados para for--- mar una agrupación. La desventaja de esta prueba es la de ser menos precisa.

A pesar de la gran confiabilidad de la prueba de -- aglutinación microscópica existen diversas situaciones -- que dificultan la correcta interpretación del serodiagnós- tico, surgiendo problemas para considerar positivo o nega- tivo el caso que se analiza. Entre los diversos factores que deben tenerse presentes para interpretar con precisión los resultados serológicos obtenidos, cabe mencionar el - momento de la obtención de la muestra, la prolongada per- sistencia de los anticuerpos originados por infección, - el elevado porcentaje de animales positivos aparentemente

sanos, la presencia de anticuerpos generados por vacunación y el fenómeno de coaglutinación o aglutinación de -- grupo que es causada por varias serovariedades (40,46).

Con el objeto de simplificar este complejo problema se sostiene que los títulos altos corresponden a cuadros recientes o actuales y que los títulos bajos son consecuencia de infecciones antiguas superadas, a pesar de que también podrían deberse al inicio de la respuesta inmunológica en una infección presente, en la cual los anticuerpos de reciente formación aún no han tenido tiempo de alcanzar un nivel alto, o por último que el animal haya sido sometido a terapia con antibióticos. En general, este criterio se considera acertado, pero debe recordarse que la respuesta serológica depende no sólo de la cepa, sino también del huésped, de la serovariedad y del cuadro clínico.

El diagnóstico serológico de aborto bovino realizado con suero de la madre presenta, en la mayoría de los casos, altos títulos, norma que varía según la etiología. Si la causa es L. pomona, el examen realizado al tiempo del aborto detecta una tasa alta de anticuerpos, la que generalmente no es inferior a 1:3000 (9), aunque no deben despreciarse los títulos a partir de 1:800, los que por ser bajos requieren ser comparados con los resultados de los otros animales del hato, para interpretarlos correctamente. En cambio, si la etiología es L. hardjo el título fluctúa frecuentemente entre 1:100 y 1:1000 pudiendo presentarse títulos altos y también negativos en algunas oportunidades (9,11). Esto se debería a que el aborto por L. pomona ocurre a las 2-3 semanas de la infección, en --



cambio con L. hardjo sucede entre las 6 y 12 semanas. La tasa de anticuerpos más alta se presenta por lo general - 2 a 3 semanas después de la infección, declinando gradualmente en el tiempo, motivo por el cual la tasa de aglutininas para L. hardjo es baja.

Teniendo en cuenta estas observaciones, se puede inferir que una hembra que aborte por leptospirosis no requiere, salvo excepciones de un segundo examen serológico.

La interpretación de la prueba se complica cuando las muestras proceden de animales vacunados. En este caso deben tenerse presentes dos antecedentes, uno se refiere a las serovariedades que se han utilizado para vacunar, y el otro a la fecha de vacunación. En esta forma se analizan las relaciones que puedan existir entre las serovariedades utilizadas en el diagnóstico serológico y las de la vacuna, como también la tasa de aglutininas en conformidad al tiempo transcurrido. Así se puede concluir si los anticuerpos producidos son consecuencia de una infección o vacunación, no solo por la correspondencia que pudiese existir con las serovariedades de la vacuna, sino también porque las aglutininas post-vacunales no sobrepasan, generalmente, títulos de 1:400 en los dos primeros meses de vacunados, declinando rápidamente para ya el cuarto mes no ser detectables a títulos significativos (39,46). Con el fin de evitar confusiones, se sugiere que los títulos mayores de 1:400 se consideran originados por la infección, o bien sospechosos si la prueba se realiza poco después de la vacunación, pues los anticuerpos detectados podrían no deberse a la vacuna. A su vez, en animales no vacunados los títulos de 1:100 - 1:200 indican una posible

leptospirosis, requiriéndose una segunda muestra para su confirmación.

La prueba de aglutinación microscópica es específica y confirmativa, sin embargo especialmente en los primeros estadios de la infección el suero del enfermo puede exhibir muchas reacciones cruzadas con varios serogrupos de leptospiras, al extremo de que la reacción es más alta con una serovariedad heteróloga que con la causante de la infección. Este fenómeno paradójico desaparece a medida que la enfermedad progresa, emergiendo el verdadero agente etiológico a título más alto, confusión que se puede aclarar mediante exámenes seriados, necesitando a veces más de dos pruebas separadas, cada vez, por unos 15 días.

Si se desea precisar el serotipo en el caso de reacciones múltiples se considera presuntivamente positiva aquella serovariedad que presenta un título cuatro veces superior al resto, interpretación que debe confirmarse mediante un segundo examen. En consecuencia se infiere que los exámenes serológicos repetidos no siempre son de utilidad. Se concluye, entonces que los procedimientos repetidos tienen utilidad para establecer las posibles variaciones del título en infecciones presentes o pasadas y para aclarar reacciones cruzadas o múltiples (46).

Entre las pruebas más recientes, son de interés la de inmunofluorescencia indirecta y ELISA (inmunoensayo-enzimático) la cual tiene la ventaja de ser más sensible -- que la prueba de aglutinación microscópica para la detección de anticuerpos. Con la prueba de ELISA e inmunofluorescencia indirecta se pueden determinar las clases de in

munoglobulinas (IgM o IgG), involucradas en la respuesta inmunológica, usando los reactivos correspondientes. Las IgM aparecen después de la primera semana de enfermedad, pero su concentración disminuye rápidamente en varias semanas hasta alcanzar niveles bajos, de tal manera que pueden resultar una medición inadecuada del estado inmunológico del animal o dar titulaciones difíciles de interpretar. Las clases IgG, que son los anticuerpos protectores, se desarrollan con mayor lentitud que las IgM y están presentes más tiempo (1,8).

El diagnóstico diferencial en las formas agudas y subagudas de leptospirosis debe hacerse con: piroplasmosis, anaplasmosis, hemoglobinuria bacilar y con hemoglobinuria posterior al parto. En la forma crónica en la cual el aborto es a veces el único signo hay que diferenciarla de brucelosis, trichomoniasis, listeriosis y de rinotraqueítis viral infecciosa (4,21).

### 3.9.- Tratamiento

Hay numerosas controversias respecto a la efectividad de los antibióticos en el tratamiento y control de la leptospirosis. La terapia con antibióticos a menudo tiene éxito si se administran tan pronto como aparezcan los primeros síntomas. Cuando el tratamiento se aplica en casos avanzados lo único que se logra es evitar infecciones secundarias.

La estreptomycinina o dihidroestreptomycinina a dosis de 12 mg/Kg de peso vivo (P.V.), vía intramuscular (I.M.) es eficaz para el tratamiento de la infección generaliza-

da, y a dosis de 25 mg/Kg de P.V. vía I.M. es efectiva --  
contra la leptospirosis en los bovinos.

La oxitetraciclina y las penicilinas también pueden usarse, la oxitetraciclina a razón de 11 mg/Kg de P.V. vía I.M. durante tres días y la penicilina a una dosis de 11 000 a 22 000 unidades/Kg de P.V. vía I.M. por 6 días o más.

### 3.10.- Prevención y control

Es evidente que la prevención absoluta o la erradicación total de leptospirosis, es básicamente imposible.- Actualmente se sabe que la vacunación en gran escala de los animales, es efectiva para prevenir la enfermedad clínica de éstos. En un brote de enfermedad en bovinos, el tratamiento simultáneo de todos los animales con estreptomycinina o dihidroestreptomycinina, en dosis de 25 mg/Kg de P.V. vía I.M. y vacuna con serotipo causante ha dado buen resultado para prevenir nuevos casos, y especialmente el aborto cuando están implicadas bastantes hembras preñadas. El medicamento destruye las leptospiras en los riñones y otros tejidos de los animales expuestos e infectados, y proporciona una medida de protección hasta que se induce una inmunidad activa por vacunación. Sin embargo, es necesario que las bacterinas sean preparadas con cepas virulentas y que confieran protección contra la infección clínica con serotipos homólogos y heterólogos. Es muy recomendable que los inmunógenos se preparen con cepas patógenas aisladas en la región en donde se encuentren los bovinos que serán vacunados. Por lo que resulta esencial identificar el serotipo o serotipos causantes de la enfermedad y emplear vacunas específicas pero controlar la propa

gación de la enfermedad y también para proteger a los animales que lleguen a un rebaño infectado.

La revacunación se recomienda a intervalos no mayores de un año, y si se comprueba que existe L. hardjo en gran proporción se recomienda la vacunación dos veces al año. El programa de vacunación en becerros debe practicarse a los 4 ó 6 meses de edad y seguir con una revacunación anual. Las hembras gestantes que son vacunadas en las últimas etapas del período, confieren inmunidad eficaz a las crías (4,13).

Las bacterinas estimulan la producción de un título de anticuerpos bajo a la prueba de aglutinación microscópica que aparecen al principio y declinan después de varias semanas, confiriendo inmunidad contra la infección renal durante 12 meses.

Los toros en los cuales se sabe que están infectados por leptospirosis no deberán ser usados para el apareamiento natural, hasta que se demuestre que no existen leptospiras en la orina o en el semen. En la preparación del semen para ser usado en programas de inseminación artificial, las concentraciones estandar de penicilina y estreptomycinina usadas como diluyente, probablemente destruyan al microorganismo, más sin embargo se sabe que algunas leptospiras pueden sobrevivir en semen congelado hasta por lo menos 3 años (16).

Para establecer las medidas de control en un hato infectado, éstas deberán ser dirigidas a la eliminación de fuentes de infección, implementar medidas higiénicas -

adecuadas y realizar la vacunación para conferir inmunidad. Las medidas específicas que deben emplearse son:

- a) Vacunar a todos los animales que sean serológicamente positivos al serotipo causante de la enfermedad.
- b) Realizar revacunaciones cada 6 a 12 meses.
- c) No mezclar cerdos con bovinos.
- d) Esterilizar la leche de las vacas infectadas o desecharla correctamente para evitar la contaminación del medio y propagación del microorganismo.
- e) Evitar hasta donde sea posible el contacto del animal con el medio infectado.
- f) Enterrar o incinerar los animales muertos a consecuencia de la infección, así como las placentas y fetos abortados.
- g) Establecer un programa intensivo para el control de roedores.
- h) Colocar cercas en los abrevaderos y pozas para reducir la contaminación.
- i) Evitar la entrada al hato de los animales de reemplazo hasta por lo menos después de 3 meses de que se presentó el último caso (1,12,19).

En este trabajo se llevó a cabo un muestreo serológico

gico de leptospirosis en bovinos cebú de dos municipios del estado de Chiapas.

Los municipios examinados fueron Cintalapa, Chis., y Pichucalco, Chis., de los cuales a continuación se hace una breve descripción.

El municipio de Cintalapa se encuentra a una altitud sobre el nivel del mar de 564 m. El clima de la región es tropical lluvioso, de sabana, caliente subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual es de  $24.2^{\circ}\text{C}$ . Su vegetación esta formada en su mayor parte por árboles bajos de troncos retorcidos y de amplia copa en asociación abierta con gramíneas. También suelen encontrarse varias especies de palmas y popales o vegetación de los pantanos que son asociaciones de plantas herbáceas, altas y de grandes hojas.

Los suelos son profundos con frecuencia llanos y mal drenados, que se encharcan o se anegan con facilidad debido a la dificultad del descenso del agua por filtración. La fauna silvestre es muy rica y variada donde abundan monos, tapires, jaguares, mitzelis, ardillas, etc.

Pichucalco se localiza a una altitud de 107 m sobre el nivel del mar. Su clima es tropical lluvioso, de selva, caliente húmedo con lluvias todo el año. La temperatura media anual es de  $26.4^{\circ}\text{C}$ . La vegetación es de selva alta, densa, con árboles de altura superior a 30 m que permanecen verdes todo el año sobre todo en suelos profundos bien drenados, también existen acaguales altos que es vegetación secundaria en lugares en donde ha sido talada

la selva, en suelos profundos algo inundable por las lluvias existen palmares altos, popales en suelos inundables durante todo el año. La fauna silvestre es la característica de las regiones tropicales (5).

En estas dos regiones las condiciones ecológicas son propicias para la sobrevivencia de las leptospiros, ya que como se sabe existen épocas del año de intensas lluvias y elevados niveles de humedad y temperatura. Frente a estas consideraciones y teniendo en cuenta que la leptospirosis constituye una de las enfermedades que provocan la interrupción de la gestación en bovinos, con abortos, preferentemente en el último tercio del ciclo intrauterino (10,13), se realizó este trabajo para aportar nuevos datos sobre la prevalencia de la enfermedad y conocer las serovariedades infectantes más frecuentemente involucradas en estas regiones.



## II.- OBJETIVOS

- 1.-Determinar la presencia de anticuerpos aglutinantes contra diferentes serovariedades de Leptospira mediante la prueba de aglutinación microscópica en ganado cebú de los municipios de Cintalapa y Pichucalco, Chiapas.
- 2.- Analizar en forma porcentual los resultados obtenidos, y conocer de acuerdo a los mismos las serovariedades de Leptospira con mayor prevalencia en el ganado bovino de los dos municipios del estado de Chiapas.

## III.- MATERIAL Y METODO

## 1.- Material

1.1.- Se trabajaron 99 muestras de suero sanguíneo de bovino de dos regiones del estado de Chiapas, de las cuales - 30 se obtuvieron del rancho de San Isidro La Gringa Mpio. de Cintalapa (Región A) y 69 del Mpio. de Pichucalco (Región B).

1.2.- Las serovariedades de Leptospira utilizadas como --- antígenos en la prueba de aglutinación microscópica fueron las siguientes:

## Serovariedades utilizadas en la región A.

Cepa	Cepa
<u>L. bataviae</u> . Van Tienen	<u>L. pyrogenes</u> . Salinem.
<u>L. canicola</u> . Hond Utrecht IV.	<u>L. hardjo</u> . Hardjoprajitno
<u>L. pomona</u> . Pomona.	<u>L. autumnalis</u> . Akiyami A.
<u>L. icterohaemorrhagiae</u> . RGA.	<u>L. australis</u> . Ballico.
<u>L. wolffi</u> . 3507.	<u>L. hebdomadis</u> . Hebdomadis
<u>L. tarassovi</u> Mitis Johnson.	<u>L. gryppotiphosa</u> . Moskva V

## Serovariedades utilizadas en la región B.

Cepa	Cepa
<u>L. bataviae</u> . Van Tienen	<u>L. hardjo</u> . Hardjoprajitno
<u>L. canicola</u> . Hond Utrecht IV.	<u>L. akiyami</u> . Akiyami.
<u>L. pomona</u> . Pomona.	<u>L. ballico</u> . Ballico.
<u>L. icterohaemorrhagiae</u> . RGA.	<u>L. ballum</u> . Castelloni.
<u>L. wolffi</u> . 3507.	<u>L. szuajizak</u> . Worsfold.
<u>L. tarassovi</u> Mitis Johnson.	
<u>L. pyrogenes</u> , Salinem.	

- 1.3.- Agujas hipodérmicas del No. 16 por 1.5 pulgadas de largo.
- 1.4.- 99 tubos de ensaye estériles de 10 ml con tapón --- de hule.
- 1.5.- Refrigerantes.
- 1.6.- Equipo y material para diagnóstico de leptospiro--- sis.

## 2.- Método

Se tomaron 99 muestras de sangre de bovinos no vacunados contra leptospirosis, por punción yugular, utilizando una aguja y tubo estériles por animal. Se dejaron coagular en plano inclinado y dichas muestras se enviaron al departamento de epizootiología del INIFAP Méx. D.F., para su procesamiento donde se separó el suero del coágulo de cada tubo. Todas las muestras se centrifugaron a -- 2500 r.p.m. durante 5 minutos, posteriormente se transfirió el suero a otros tubos estériles, los cuales se sellaron para conservarlos a  $-20^{\circ}\text{C}.$ , hasta reunir los 99 sueros para realizar la prueba de aglutinación microscópica.

En el laboratorio las serovariedades de leptospiras utilizadas como antígenos, fueron cultivados en caldo fosfato biotriptasa (Bioxón de México S.A.) al 0.2%, pH - 7.2, con el 10% de suero de conejo inactivado y estéril e incubados a  $30^{\circ}\text{C}.$ , durante 5 a 7 días. Posteriormente se procedió a la estandarización del antígeno, mediante la observación en microscopio de campo oscuro para obtener una concentración aproximada de 200 leptospiras por campo.

La prueba de aglutinación microscópica es la que se uso para determinar la presencia de anticuerpos anti--leptospira, desarrollándose de acuerdo al método descrito por Yanagawa (45).

A partir de cada dilución inicial 1:50, se realizan diluciones dobles del suero con solución amortiguadora de fosfatos o con una solución salina fisiológica (SSF) estéril. Cantidades iguales de cada dilución del suero y del cultivo de leptospiras, fueron colocadas en placas de aglutinación de porcelana de 12 pozos, e incubados a temperatura ambiente durante una hora.

El título de anticuerpos en la reacción de aglutinación microscópica fué considerado en la máxima dilución del suero, capaz de aglutinar el 50% de las leptospiras - utilizadas como antígeno, lo cual fué observado a través del microscopio de campo oscuro con el objetivo X160.

El procedimiento más detallado de la prueba de --- aglutinación microscópica se describe a continuación.

- 1.- Se prepara una dilución del suero 1:50 (4.9 ml de SSF y 0.1 ml de suero).
- 2.- Se coloca en la placa excavada de porcelana 0.1 ml de la dilución 1:50 y 0.1 ml del antígeno. Este procedimiento se realiza con cada una de las serovariedades que se - quieran utilizar.
- 3.- Como control se coloca 0.1 ml de SSF y 0.1 ml de antí geno en otra porción de la placa excavada o en otra placa.
- 4.- Se colocan las placas excavadas en cámara húmeda y se incuban a temperatura ambiente durante una hora.

5.- Se examina al microscopio de campo obscuro una gota - del control y una gota de la dilución, con objetivo X160 sin usar cubreobjetos.

6.- Del suero que salga positivo 1:50, se realizan dilu-- ciones dobles: 1:100, 1:200, 1:400, etc., hasta título fi nal, siguiendo el mismo procedimiento anterior (0.1 ml de cada dilución y 0.1 ml de antígeno).

7.- El suero se reconoce como positivo cuando el 50% ó -- más de las leptospiras están aglutinadas a partir de la - dilución 1:100 en adelante (Ver fig. No. 2)

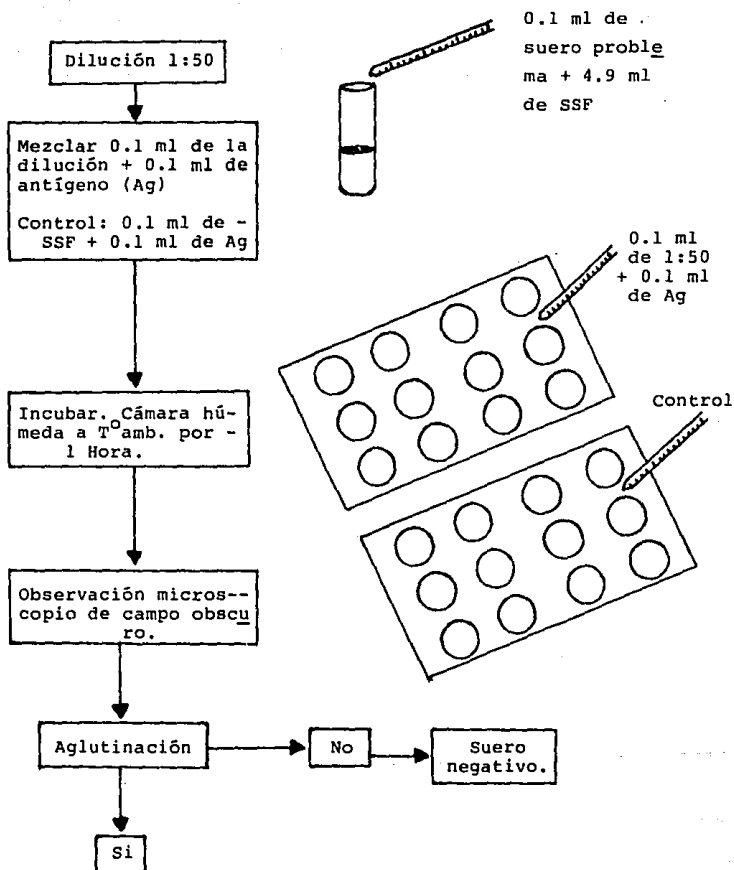


Fig. No. 2 Técnica de microaglutinación para el Dx.

de Leptospirosis Bovina. (INIFAP, Méx., 1987)

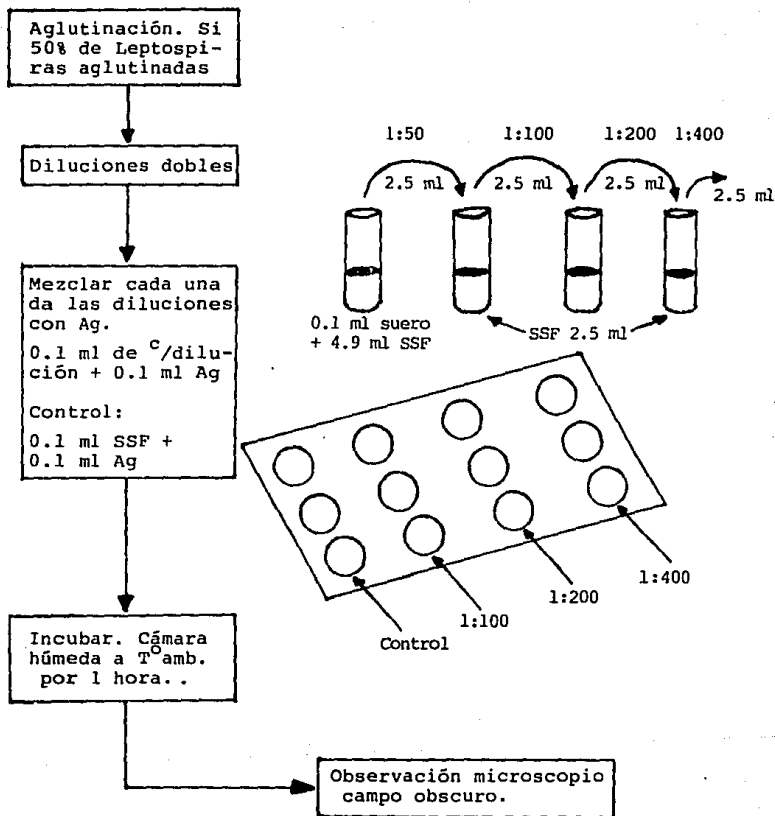


Fig. 2 Continuación Dx de Leptospirosis Bovina.

## IV.- RESULTADOS

La prueba de aglutinación microscópica es la que se empleo para la realización de este trabajo, encontrándose en los sueros de los bovinos muestreados títulos de anticuerpos desde la dilución 1:50, considerándose estas reacciones como negativas, por lo que se excluyen de los cuadros y gráficas. Se determinaron títulos positivos a partir de la dilución 1:100 en adelante hasta conocer el título final de dichos sueros.

Se examinaron 99 sueros en total, obteniéndose los siguientes resultados:

De 30 sueros analizados en la región A, 14 resultaron positivos a diferentes serovariedades, representando un 46.67%, 16 sueros reaccionaron negativos con 53.33%, - de éstos 16 sueros 4 dieron reacción leve a la dilución 1:50 pero fueron considerados como negativos por ser ésta de escaso valor (Cuadro 1 y gráfica 1).

Las serovariedades que reaccionaron en los sueros muestreados de la región A fueron las siguientes: -----  
L. wolffi, 11 (36.66%); L. hardjo, 11 (36.66%); L. pyrogenes, 2 (6.66%); L. australis, 1 (3.33%); L. hebdomadis, 1 (3.33%) y L. pomona, 1 (3.33%) (Cuadro 3 y gráfica 2).

Los sueros que reaccionaron con la serovariedad --  
L. wolffi y L. hardjo tuvieron títulos positivos en la dilución 1:100, 1:200, 1:400 y 1:800, para la serovariedad L. pyrogenes 1:100 y 1:200, para L. australis y L. hebdomadis 1:100 y para L. pomona 1:200 (Cuadro 3).



En la región B se analizaron 69 sueros de los cuales 31 reaccionaron positivos a las diferentes serovariedades de Leptospira representando un 44.93%, 38 sueros resultaron negativos con 55.07%, de éstos 38 sueros 23 dieron reacción leve a la dilución 1:50 pero de igual forma como en la región A también fueron considerados negativos (Cuadro 4 y gráfica 3).

Las serovariedades que reaccionaron en los sueros muestreados de la región B fueron los siguientes: L. hardjo, 26 (37.68%); L. wolffi, 15 (21.73%); L. worsfoldi, 9 (13.04%); L. ballum, 4 (5.80%); L. pomona, 3 (4.34%); - L. szuajizak, 3 (4.34%); L. bataviae, 1 (1.44%); (Cuadro 6 y gráfica 4).

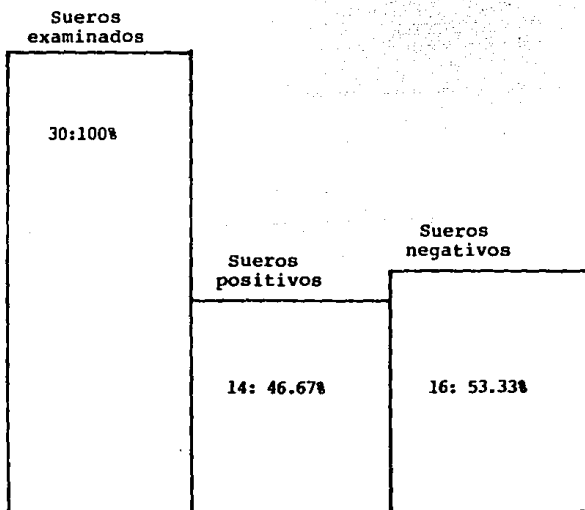
Los sueros que reaccionaron con la serovariedad - L. hardjo tuvieron títulos positivos en la dilución 1:100 1:200 y 1:400, para L. wolffi 1:100 y 1:200, para L. worsfoldi 1:100, 1:200 y 1:400, para L. ballum 1:100, para L. pomona 1:100 y 1:200, para L. szuajizak 1:100 y 1:200 y para L. bataviae 1:100 (Cuadro 5).

## C U A D R O 1

Porcentaje de bovinos que resultaron positivos y negativos a la prueba de aglutinación microscópica (AM) con las diferentes serovariedades de leptospiras, en la región (A)

		Porcentaje (%)
No. de animales (sueros) positivos	14	46.67
No. de animales (sueros) negativos	16	53.33
Total de animales muestreados (sueros obtenidos)	30	100.00

## G R A F I C A 1



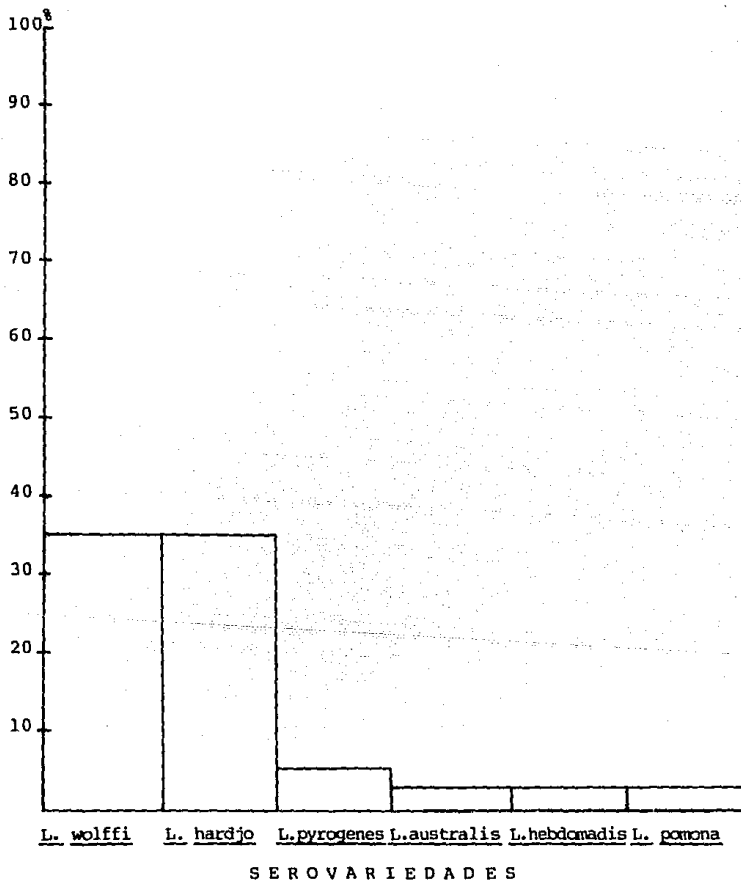
Resultados de la prueba de AM con las siguientes serovariedades de Leptospira en la región (A). (Se incluyen unicamente los sueros y serovariedades positivas)

Identificación de la muestra sueros (+)	SEROVARIEDADES					
	<u>L. wolffi</u>	<u>L. hardjo</u>	<u>L. pyrogenes</u>	<u>L. australis</u>	<u>L. hebdomadis</u>	<u>L. pomona</u>
1	1:400	1:400				
2	1:800	1:800				
3	1:400	1:100				
4	1:800	1:800				
5	1:800	1:800				
6	1:400	1:200				
7	1:200	1:100				
8		1:100				
9	1:200	1:100				
10	1:100					
11	1:100	1:200				
12			1:200	1:100		
13			1:100			1:200
14	1:100	1:400			1:100	
Total (+)14	11	11	2	1	1	1
(%)46.67	36.66	36.66	6.66	3.33	3.33	3.33

CUADRO 2

## GRAFICA 2

Porcentaje de sueros positivos a las diferentes serovariedades de Leptospira, en la región (A)



CUADRO 3

Porcentaje de sueros positivos a la prueba de AM con las diferentes serovariedades de Leptospira, en la región (A)

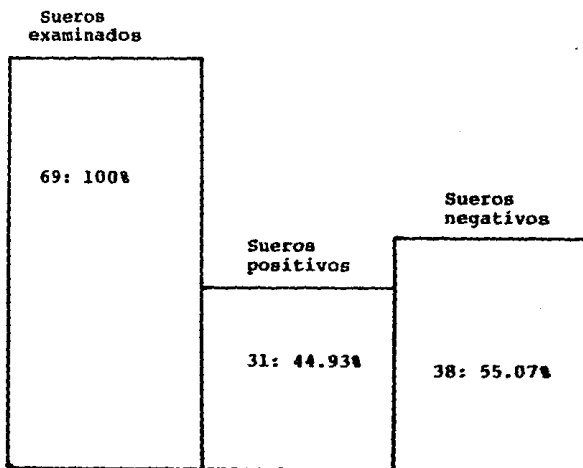
Antígeno	No. de sueros (+) por antígeno	Porcentaje (%)
<u>L. wolffi</u>	11	36.66
<u>L. hardjo</u>	11	36.66
<u>L. pyrogenes</u>	2	6.66
<u>L. australis</u>	1	3.33
<u>L. hebdomadis</u>	1	3.33
<u>L. pomona</u>	1	3.33

## CUADRO 4

Porcentaje de bovinos que resultarán positivos y negativos a la prueba de AM con las diferentes serovariedades de Leptospira, en la región (B)

		Porcentaje (%)
No. de animales (sueros) positivos	31	44.93
No. de animales (sueros) negativos	38	55.07
Total de animales muestreados (sueros obtenidos)	69	100.00

## GRAFICA 3



Resultados de la prueba de AM con las siguientes serovariedades de Leptospira, en la región (B). (Se incluyen unicamente los sueros y serovariedades positivas)

Identificación de la muestra sueros (+)	S E R O V A R I E D A D E S						
	<u>L.hardjo</u>	<u>L.wolffi</u>	<u>L.worsfoldi</u>	<u>L.ballum</u>	<u>L.pomona</u>	<u>L.szuzajizak</u>	<u>L.bataviae</u>
1	1:100	1:200		1:100			
3	1:200						
4	1:200	1:200	1:200				
5	1:200						
6	1:200						
7	1:100						
10				1:100			
17	1:100	1:100				1:200	
21	1:200	1:100		1:100			1:100
22	1:200	1:100	1:200				
23	1:200						
24	1:200		1:200				
26	1:100						
30	1:200	1:100					
37	1:100						
39	1:200	1:100	1:200				
40	1:100				1:100		
41	1:200	1:100	1:100		1:100		

C U A D R O 5

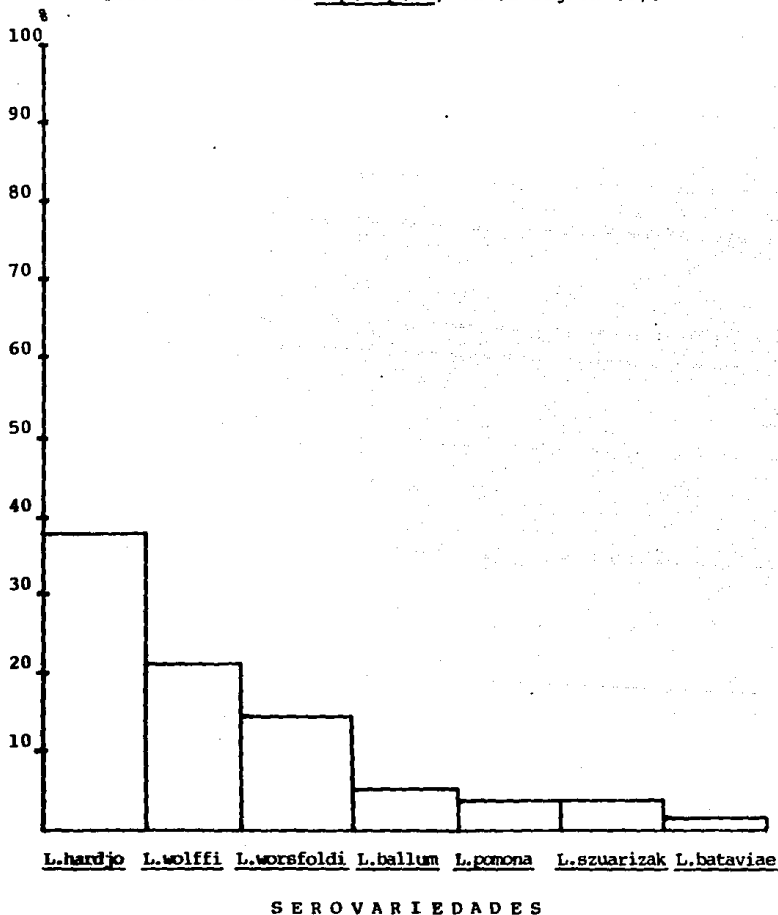
Identificación de la muestra sueros (+)	SEROVARIEDADES						
	<u>L.hardjo</u>	<u>L.wolffi</u>	<u>L.worsfoldi</u>	<u>L.ballum</u>	<u>L.pomona</u>	<u>L.szuajizak</u>	<u>L.bataviae</u>
43	1:200	1:200					
44	1:200	1:100					
45		1:200					
48		1:200	1:400				
50	1:100						
51	1:100		1:100			1:100	
54	1:200	1:100			1:200		
56	1:200			1:100			
58			1:100			1:100	
59			1:100				
62	1:400						
64	1:200	1:100					
65	1:100	1:200					
<b>Total (+)31</b>	<b>26</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1</b>
<b>(%)44.93</b>	<b>37.68</b>	<b>21.73</b>	<b>13.04</b>	<b>5.80</b>	<b>4.34</b>	<b>4.34</b>	<b>4.34</b>

Continuación C U A D R O 5



## GRAFICA 4

Porcentaje de sueros positivos a las diferentes serovariedades de Leptospira, en la región (B).



## C U A D R O 6

Porcentaje de sueros positivos a la prueba de AM  
con las diferentes serovariedades de Leptospira,  
en la región (B).

Antígeno	No. de sueros (+) por antígeno	Porcentaje (%)
<u>L. hardjo</u>	26	37.68
<u>L. wolffi</u>	15	21.73
<u>L. worsfoldi</u>	9	13.04
<u>L. ballum</u>	4	5.80
<u>L. pomona</u>	3	4.34
<u>L. szuajizak</u>	3	4.34
<u>L. bataviae</u>	1	1.44

## V.- DISCUSION

El exámen serológico de aglutinación microscópica es el de mayor uso en el diagnóstico de leptospirosis, -- ya que es muy sensible para detectar infecciones recientes y crónicas, además de ser serovariedad específica, ha ce que la prueba sea confiable y segura.

Para la realización de la prueba se utilizaron 12 serovariedades en la región A, encontrándose anticuerpos contra Leptospira en los sueros de los bovinos muestreados para 6 serovariedades, siendo las mas frecuentes: L. wolffi y L. hardjo, siguiéndoles en orden de importancia: L. pyrogenes, L. australis, L. hebdomadis y L. pomona -- (Cuadro 2 y 3, gráfica 2). Un suero reaccionó contra la serovariedad L. gryppotiphosa en la dilución 1:50 pero -- fué considerado como negativo. No se encontró reacción -- contra las serovariedades: L. autumnalis, L. bataviae, -- L. canicola, L. icterohaemorrhagiae y L. tarassovi.

En la región B se utilizaron 13 serovariedades de Leptospira como antígenos encontrándose reacción positiva contra 7 de las mismas, siendo las más frecuentes: L. -- hardjo y L. wolffi, les siguen en orden de importancia: L. worsfoldi, L. ballum, L. pomona, L. szuajizak y L. bataviae (Cuadro 5 y 6, gráfica 4). En varios sueros se detectaron anticuerpos contra la serovariedad L. tarassovi en la dilución 1:50, pero ésta fué considerada como negativa. No se determinaron anticuerpos antileptospira contra las serovariedades: L. akiyami, L. ballico, L. canicola, L. pyrogenes y L. icterohaemorrhagiae.

Existe una relación en cuanto a las serovariedades encontradas tanto en la región A, como en la región B, ya que en las dos zonas se hicieron presentes las serovariedades L. hardjo, L. wolffi y L. pomona. (Cuadro 7)

C U A D R O 7

Comparación de los porcentajes de las 3 serovariedades de Leptospira detectadas en las dos regiones.

Serovariedad	Región A	Región B
<u>L. hardjo</u>	36.66%	37.68%
<u>L. wolffi</u>	36.66%	21.73%
<u>L. pomona</u>	4.34%	3.33%

Se sabe que la distancia entre la región A, y la región B, es de más de 200 Km y debido a la similitud de las serovariedades encontradas en cada región, se demuestra que la leptospirosis y en especial estas serovariedades se están difundiendo entre los bovinos del estado de Chiapas.

Con respecto al clima de las dos regiones del estado de Chiapas, así como también la presencia de suelos -- mal drenados e inundables y la existencia de lagunas y -- ríos, son factores ecológicos que tienen influencia para el desarrollo de las leptospiras y en consecuencia para la infección del ganado.

En el presente trabajo como lo muestran los resultados las serovariedades L. hardjo y L. wolffi son las que más frecuentemente se encontrarán en los sueros de -- los bovinos muestreados, y haciendo referencia sobre la --

leptospirosis causada por L. hardjo, se sabe que es una - infección distribuida mundialmente en los bovinos, la --- cual ha sido bién identificada como causante de abortos, retención placentaria, muerte neonatal e infertilidad --- (13,14,24).

Se han realizado diversos trabajos en la república -- Mexicana sobre leptospirosis (2,36,47), donde se han de-- terminado anticuerpos contra esta enfermedad. En los tra-- bajos que se mencionan en la bibliografía las serovarieda-- des que tienen similitud con las encontradas en las dos - regiones del estado de Chiapas, son las siguientes: L. - hardjo, L. wolffi, L. pyrogenes, L. habdomadis, L. pomo-- na y L. ballum.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el traba-- jo realizado en el estado de Chiapas se podra observar - que varias serovariedades detectadas en el área de estu-- dios son semejantes a las detectadas por otros autores en otras partes de la República Mexicana, con lo cual se de-- duce que la leptospirosis bovina es ya un problema que -- poco a poco se está difundiendo en el territorio nacional.

Resulta esencial identificar las serovariedades -- causantes de la leptospirosis en una determinada región - ya que en base a esto se deben de emplear bacterinas que contengan la serovariedad específica causante de la enfer-- medad y con esto lograr un paso importante en la preven-- ción y control de la leptospirosis.

En otros países también existen numerosos trabajos sobre leptospirosis que de acuerdo a los resultados tie-- nen similitud con las serovariedades detectadas en los --

dos municipios del estado de Chiapas.

La prevalencia de L. hardjo asociada co la infec--  
cción en los bovinos ha sido estudiada por varios métodos.  
Kingscote, F.B. (24), confirma la presencia de L. hardjo  
en un 58% en bovinos de Canadá. La serovariedad fue ais--  
lada en usencia y presencia de signos clínicos de la en--  
fermedad y de anticuerpos detectables por la prueba de --  
aglutinación microscópica. Ellis, W.A. y Col. (15,16), --  
aislaron a la serovariedad L. hardjo del tracto genital -  
de ganado no preñado, deduciendo que el tracto genital es  
un sitio tan importante para la localización de esta sero  
variedad como el tracto urinario, concluyendo que la ---  
transmisión venérea juega una parte muy importante en la  
infección epidemiológica.

En cuanto a la serovariedad L. wolffi, existen es-  
tudios serológicos que la indican como prevalente en Ar--  
gentina (8,31). Cabe mencionar que las condiciones ecoló-  
gicas en este país como precipitaciones que en exceso oca  
cionan inundaciones y desborde de ríos, así como tempera-  
turas por arriba de 31°C, son factores propicios para la  
sobrevivencia y multiplicación de la bacteria establecien  
do el peligro potencial de la leptospirosis.

La lucha contra la leptospirosis en animales de --  
importancia económica es una tarea reciente, en la cual -  
no se tiene toda la experiencia como en otras enfermeda--  
des infecciosas en las que se ha venido trabajando duran-  
te años.

Debido a que sus síntomas son muy parecidos a ---

otras enfermedades, hay que realizar un diagnóstico diferencial de cada una de ellas, para lo cual es necesario llevar a cabo un detallado examen clínico y un correcto estudio serológico para tener la certeza de estar sobre un diagnóstico real, o más aún intentar el aislamiento -- del agente etiológico. Entre las enfermedades con las cules hay que diferenciar a la leptospirosis se encuentran: piroplasmosis, anaplasmosis, hemoglobinuria posterior al parto, hemoglobinuria bacilar, brucelosis, trichomoniasis, listeriosis y rinotraqueítis viral infecciosa.

## VI.- CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, los porcentajes positivos de las serovariedades de Leptospira encontradas en los sueros de los bovinos muestreados del estado de Chiapas se expresaron por medio de cuadros y gráficas, en los cuales las serovariedades de mayor porcentaje, para la región A pertenecieron a: L. wolffi (33.66%) y L. hardjo (36.66%); siguiéndoles en orden porcentual, L. pyrogenes (6.66%); L. australis (3.33%); L. hebdomadis (3.33%) y L. pomona (3.33%). En la región B, los porcentajes de positividad mayores correspondieron a: L. hardjo (37.68%) y L. wolffi (21.73%); siguiéndoles en orden descendiente; L. ballum (5.80%); L. pomona (4.34%); L. szuajizak (4.34%) y L. bataviae (1.44%).

Como lo demuestran los resultados la leptospirosis está presente en el ganado bovino de las dos regiones examinadas, siendo un foco latente en lo que las leptospiras no hacen manifestaciones clínicas específicas en los animales afectados y sólo bajo condiciones especiales se pueden convertir en focos manifiestos.

Una vez ya que se han determinado las serovariedades presentes en cada región, es de vital importancia establecer medidas preventivas usando las bacterinas específicas con las serovariedades que están afectando a los bovinos en cada una de las regiones.

Por último, es de hacer notar que en ninguno de los ranchos muestreados para este estudio se obtuvo infor



mación sobre problemas infecciosos ya sea de tipo reproductivo o renal, además en estos lugares nunca se ha utilizado vacunación para esta enfermedad.

## VII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Acha, N.P. y Szyfres, B. (1986). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, 2a edición. Ed. Organización panamericana de la salud, Págs. 114, 118, 119.
- 2.- Alejo, C.R. (1982). Primer muestreo serológico de --- leptospirosis en bovinos en la F.E.S.C. Tesis. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M., --- Méx. D.F.
- 3.- Armatredjo, A. & Campbell, R.S.F. (1975). Bovine leptospirosis. Vet. Bull. 43: 875.
- 4.- Blood, D.C.; Henderson, J.A. and Radostis, O.M. (1982). Medicina Veterinaria, 4a edición. Ed. Interamericana Méx. D.F. Pág. 595.
- 5.- Cardoso, C. MD. (1979). El clima de Chiapas y Tabasco, U.N.A.M. Méx. D.F.
- 6.- Cottral, G.E. (1978). Manual of Standardized methods for Veterinary Microbiology, Cornell Univ. Press. -- New York.
- 7.- Davis, D.B; Dulbeco, R; Eisen, N.H; Ginsberg S.H. -- (1985). Tratado de Microbiología, 3a edición. Ed. -- Salvat, Méx. D.F. Pág. 619.

- 8.- Draghi, G.M.; Zurbriggen A.M. y Col. (1986). Estudio serológico de la leptospirosis bovina en la provincia de Corrientes, Argentina. Vet. Arg. 3 (24); 357, 358, 363.
- 9.- Elder, J.K.; Pepper, M.P.; Hill, W.M. and Ward, H.W. (1985). The Significance of leptospiral titres associated with bovine abortion. Aust. Vet. J. 62: 258 --- 261.
- 10.- Ellis, W.A. (1978). Antibodies to leptospira in the sera of aborted bovine fetuses. Vet. Rec. 103 (11) - 238.
- 11.- Ellis, W.A.; O'Brien, J.J.; S.D. Neill and J. Hanna. (1982). Bovine leptospirosis: serological findings -- in aborting cows. Vet. Rec. 110: 178-180.
- 12.- Ellis, W.A. (1984). Bovine leptospirosis in the tropics; prevalence, pathogenesis and control. Preventive Veterinary Medicine. 2.: 412-414.
- 13.- Ellis, W.A.; O'Brien, J.J.; Bryson, D.G. and Mackie, P.D. (1985). Bovine leptospirosis: Some clinical features of serovar hardjo infection. Vet. rec. 117: --- 101-104.
- 14.- Ellis, W.A.; O'Brien, J.J. Neill, S.D. and Bryson, D. G. (1986). Bovine leptospirosis: experimental serovar hardjo infection. Vet. Microbiol. 11: 293-294.

- 15.- Ellis, W.A and Thiermann, B.A. (1986). Isolation of leptospire from the genital tracts of Iowa cows. -- Am. J. Vet. Res. 47 (8): 1694,1695.
- 16.- Ellis, W.A.; Songer, G.J.; Montgomery, J.A. and Cassells, A.J. (1986). Prevalencia of Leptospira interrogans serovar hardjo in the genital and urinary -- tracts of non-pregnant cattle. Vet. Rec. 118: 11-13.
- 17.- Fernández, S.I. (1963). Demostración de Leptospira pomona por anticuerpos fluorescentes en riñón de ganado bovino raza Holstein sacrificado en el rastro - del Distrito Federal. Tesis. U.N.A.M., Méx. D.F.
- 18.- Gastelum, B.J. (1933). Fiebre icterohemorrágica en - el estado de Sinaloa, trabajo presentado en el X Congreso Médico Nacional (edición especial).
- 19.- Gibbons, Catcot, Smithcors. (1984). Medicina y cirugía de los bovinos. Ed. La prensa médica mexicana. - Méx. D.F. Págs. 175-183.
- 20.- Gutiérrez, F. LA. (1968). Contribución al estudio de la incidencia de leptospirosis bovina en la cuenca - lechera del Distrito Federal mediante métodos de aglutinación en placa. Tesis U.N.A.M., Méx. D. F.
- 21.- Hafez, E.SE. (1984). Reproducción e inseminación artificial en animales, 4a edición. Ed. Interamericana, Méx. D.F. págs. 492-493.

- 22.- Harrison, T.R. y Col. (1973). Medicina Interna, ler. Tomo. 4a edición. Ed. La prensa médica mexicana, --- Méx. D.F.
- 23.- Hathaway, C.S.; Todd, N.J.; Headlman, A.S. and Jeffrey, M. (1984). Possible role of leptospire of --- the pomona serogroup in sporadic bovine abortion in the south west of England. Vet. Rec. 115: 623-626.
- 24.- Kingscote, F.B. (1985). The diagnosis of Leptospira serovar hardjo infection in cattle in Canada. Can. - Vet. J. 26: 270.
- 25.- López, G.HM. (1972). Determinación de leptospirosis bovina por el método de aglutinación-lisis en el ganado sacrificado en el rastro municipal de Cd. Victoria, Tamaulipas. Tesis. U.N.A.M., Méx. D.F.
- 26.- Merchant. A.I. and Packer, A.R. (1980). Bacteriología y Virología Veterinarias. 3a edición española. - Ed. Acibia, Zaragoza, España. Págs. 503,505,511.
- 27.- Noguchi, H. (1918). Further study on the cultural - condition of Leptospira icterohaemorrhagiae. J. Exp. Med. 27.
- 28.- Reyes, L.E. (1981). Diagnóstico de leptospirosis en bovinos, ovinos y roedores, en el Ex-vaso de Texco---co. Tesis. Facultad de Estudios Superiores Cuauti---tlán, U.N.A.M., Méx. D.F.

- 29.- Robbins, L.S. y Cotran, S.R. (1984). Patología es---  
tructural y funcional. 2a edición. Ed. Interamericana,  
Méx. D.F. Pág. 384.
- 30.- Rodríguez, G.H. (1969). Exploración serológica de --  
leptospirosis y de brucelosis en ganado porcino y bo  
vino con historia clínica de aborto. Tesis. U.N.A.M.  
Méx. D.F.
- 31.- R. de Bordoy. AM. (1985). Leptospirosis: Prevalencia  
de anticuerpos durante un ciclo reproductivo en dos  
rodeos bovinos en la provincia de Formosa, Argentina.  
Vet. Arg. 2 (12). Págs. 161,164,170.
- 32.- Sais, Z. (1962). Contribución al estudio de la inci-  
dencia de leptospirosis en ganado bovino. Tesis. --  
U.N.A.M. Méx. D.F.
- 33.- Salas, L.V. (1986). Encuesta serológica de leptospi-  
rosis bovina en el centro-oeste de la provincia de -  
Buenos Aires, Arg. Vet. Arg. 3 (23). Págs. 248-253.
- 34.- Slee, J.K.; McOrist, S.; Skilbeck, N.W. (1983). Bovi  
na abortion associated with Leptospira interrogans --  
serovariety hardjo infection. Aust. Vet. J. 60 (7) -  
Pág. 204.
- 35.- Smith, A.H. y Jones, C.T. (1980). Patología Veterina-  
ria. la edición en español. Ed. UTEHA, Méx. D.F.

- 36.- Solórzano, A. y Lugo, V.G. (1982). Resultados preliminares en un estudio seroepizootiológico de leptospirosis bovina en el estado de Sonora. Reunion de Investigación Pecuaria en México. Pág. 165.
- 37.- Stoener, H.E. (1976). The Biology of Spirochaetes, - Ed. Johnson, R.C. Acadic Press, New York.
- 38.- Sullivan, N.D. (1974). Leptospirosis in animals and man. Aust. Vet. J. 50. Pág. 216.
- 39.- Tripethy, D.N.; Hanson, E.L. and Mansfield, M.E. --- (1976). Evaluation of the Immune Response of Cattle to Leptospiral Bacterins. Am. J. Vet. Res. 37: 51-55.
- 40.- turner, L.H. (1976). Classification of spirochaetes in general and of yhe Genus Leptopira in particular Ed. In Johnson, R.C. Academic Press. New York. Pág. 95.
- 41.- Varela, gerardo y Col. (1954). Estudios de leptospirosis en las ciudades de Veracruz, Tampico y México, da la República Mexicana. Revista de Investigación en Salud Pública, S.S.A. 14 (3). Instituto de Salubridad y Enfermedades, Méx. D.F.
- 42.- Varela, Gerardo y Col. (1972). Serología de la leptospirosis en la República Mexicana. Revista de Investigación en Salud Pública. S.S.A. 32 (1). Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, Méx. D.F.

- 43.- Vera, H.Ó. and Dumoff, M. (1974). Culture media. Manual of Clinical Microbiology. 2a edición. Eds. Lennette, E.H.; Spauldina, E.H.; and Truant, J.P. American Society For Microbiology, Washington, D.C. Pág. 881.
- 44.- William, D. and Hagan, B.G. (1977). Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 3a edición. -- Ed. La prensa médica mexicana, Méx. D.F. Pág. 446.
- 45.- Yangawa, R. y Takashima, L. (1974). Convarition of serotype in Leptospira from hebdomadis to Kremetos. -- Infect. Inmun. 10: 1439-1442.
- 46.- Zamora, J. y Riedeman S. (1986). Consideraciones para la interpretación de la prueba de aglutinación microscópica en el diagnóstico de leptospirosis bovina. Arch. Med. Vet. 18 (2). 145-147.
- 47.- Zavala, V.J.; Pinzón, C.J.; Flores, C.M.; Damián, C. AG. (1984). La leptospirosis en Yucatán. Estudio serológico en humanos y animales. Salud Pública de México. 26: 254-257.