

14  
207



**Universidad Nacional Autónoma  
de México**

**Facultad de Estudios Superiores  
CUAUTITLAN**



**“Estudio Serológico para la Detección de  
Anticuerpos Contra Leptospirosis en Cerdas  
en los Municipios de Teoloyucan y Cuau-  
titlán de Romero Rubio, Estado de México.”**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A  
**Verónica del Carmen Caballero Ramírez**

**Director de Tesis: PhD. Ricardo Flores Castro**

**Asesor: Angel Caballero Servín**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

UNAM



## **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**

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCION</b>	<b>2</b>
<b>PLANTEAMIENTO</b>	<b>15</b>
<b>HIPOTESIS</b>	<b>16</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	<b>18</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>24</b>
<b>DISCUSION</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>31</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>32</b>

## RESUMEN

Se realizó un estudio utilizando la técnica de Aglutinación microscópica en 205 sueros de cerdas procedentes de 5 granjas, comprendidas en una zona de los municipios de Cuautitlán de Romero Rubio y Teoloyucan, Estado de México.

Este trabajo fué realizado en el Laboratorio de Leptospiriosis del Departamento de Bacteriología del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, y se analizaron los sueros en contra de 13 serovariedades de L. interrogans, considerándose como positivos a una dilución 1:100, o superior.

Se encontró que de los 205 sueros, 69.75% resultaron positivos a una o más serovariedades.

Los resultados por orden de presencia de cada una de las serovariedades utilizadas fueron: L. pomona 39.09%, L. pyrogenes 18.53%, L. ballum 18.04%, L. autumnalis 11.70%, L. canicola -- 11.21%, L. trassovi 9.75%, L. icterohaemorrhagiae 8.29%, L. grippotyphosa 5.85%, L. serjoe 2.92%, L. wolffi 1.95%, L. australis 1.46%, L. batavia 0.97% y L. hardjo 0.97%.

Los resultados indican la presencia de anticuerpos contra leptospira en granjas porcícolas y la existencia de serovariedades no contenidas en vacunas comerciales.

## I. INTRODUCCION

### 1. CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD:

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa conocida mundialmente que afecta a los animales domésticos, silvestres y al hombre.

El estudio de la leptospirosis ha despertado gran interés entre los investigadores en las últimas décadas, debido a los problemas de Salud Pública, Sanidad Animal, además de las pérdidas económicas que ocasiona (5,14,15).

#### a.- AGENTE ETILOGICO.

El padecimiento es provocado por bacterias del género leptospira.

La palabra "leptospira" se conjuga de dos raíces, la primera "lepto" que etimológicamente significa extenuación de cuerpo delgado y la segunda raíz "pyra" que proviene también del latín y significa hoguera y esto se traduce al griego como fuego, de tal manera que conjuntándolos se traduciría como una cosa delgada que produce fuego etimológicamente hablando (14).

El género leptospira se clasifica dentro de la familia Treponemataceae y el Orden Sprochaetalis, que comprende dos especies:

-L. biflexa.- Que es de bajo poder patogénico y se encuentra por lo común en el agua y el suelo, y raramente puede verse -

involucrada afectando a los mamíferos.

-L. interrogans.- que es patógena para el hombre y los animales, esta especie está formada por 22 serogrupos y éstos a su vez están constituidos por serotipos o serovares. El taxón básico es el serovar y actualmente se conocen 200 de ellos.

Las características principales de estos organismos es su forma filiforme y delgada, midiendo de 0.1 a 0.2 micras de diámetro y de 6 a 20 micras de largo, la parte media se mantiene rígida y sus extremos se hallan doblados en forma de gancho, se mueve por rápidos movimientos ondulatorios rodando sobre su eje longitudinal (4,14,17,19,22).

Las características morfológicas y antigénicas de las leptospiras se mencionan a continuación:

- 1.- Una envoltura constituida por tres hojas de composición química compleja; poliósidos, lípidos y proteínas; los poliósidos son el soporte de las características antigénicas.
- 2.- Un filamento rígido, el axostil; órgano de movilidad, situado bajo la envoltura y por fuera del citoplasma, constituido verdaderamente de un filamento doble con una línea de fisión longitudinal, sin segmentación.
- 3.- Una membrana parietocitoplasmática que reúne ciertas propiedades de la pared de las bacterias (presencia de ácido muérico y la membrana citoplasmática).
- 4.- El cuerpo celular, está constituido por un cilindro citoplasmático con disposición helicoidal, se enrolla alrededor del axostil conteniendo vacuolas, los ribosomas y un núcleo no

delimitado por una membrana (7,19,22).

Todas las características morfológicas y estructurales son comunes a las diferentes leptospiras, cualquiera que sea su origen y su papel patógeno.

Las leptospiras poseen un antígeno protéico (filamento axial), un antígeno poliósido (pared celular) y un antígeno de superficie de naturaleza desconocida, estos antígenos provocan la formación de anticuerpos detectables por cualquiera de las pruebas serológicas (19,22).

Algunas leptospiras tienen predilección por parasitar algunas especies de animales, así por ejemplo L. canicola infecta al perro, L. icterohaemorrhagiae a la rata, L. pomona al ganado porcino.

Se menciona también que algunos serovares tienen predilección en alojarse en algunos órganos o tejidos, como sucede con L. icterohaemorrhagiae, que se aloja preferente en el hígado y riñón, L. canicola en el cerebro y riñón y L. pomona en los vasos capilares periféricos.

La supervivencia en el medio depende en gran medida de la valoración de las condiciones del suelo y el agua en la zona contaminada; es muy susceptible a temperaturas inferiores de 7 a 10°C ó superior a 34 o 36°C, también le afecta los cambios de pH que se alejan de la neutralidad: un pH inferior de 6.0 ó superior de 8.0 la inhiben (2,15,18).

b.- EPIZOOTIOLOGIA.

Se ha observado la existencia de dos tipos de hospedadores dependiendo de la especie animal y el serotipo infectante. Uno es llamado de mantenimiento o portador, el cual se caracteriza por ser altamente susceptible a la infección, presentando una lesión renal discreta, de larga duración y una transmisión natural dentro de la misma especie, estableciéndose así un ciclo endémico de la enfermedad; es también capaz de transmitir la infección a otras especies y se considera el reservorio más importante, por que en él, las leptospiras que se establecen en los riñones son eliminadas en la orina durante meses o años.

El otro hospedador es llamado accidental, por presentar una baja susceptibilidad a la infección, aunque cuando la infección se establece en él, los efectos patogénicos ocasionalmente pueden ser severos; la fase renal es generalmente de limitada duración, por lo que la transmisión a otras especies puede llegar a ser ineficiente o muy limitada (14,25,29,39).

c.- TRANSMISION.

Al parecer en México la rata es la especie de mayor importancia epidemiológica en la transmisión de la leptospira, debido a su amplia distribución geográfica, gran adaptación y ser reservorio de la infección, también el perro juega un papel importante, ya que éstos se presentan regularmente en cualquier



granja porcícola. Estos al estar infectados eliminan en forma esporádica leptospiras en su orina durante 4 a 6 meses, sin embargo las ratas las eliminan por períodos más prolongados (13, 25,39).

El hombre y los animales pueden adquirir la infección de manera directa o indirecta con la orina o agua contaminada con leptospiras, a través de conjuntiva palpebral, mucosa nasofaríngea o heridas en la piel, también se ha descrito que se puede adquirir por contacto sexual, trasplacentariamente, por contacto de placentas y fetos abortados (5,10,18,25).

#### d.- PATOGENIA.

La leptospira se disemina en el hospedador por vía del torrente sanguíneo, teniendo un período de incubación de 4 a 12 días, después se presenta la fase leptospirémica que dura de 7 a 10 días, en la cual la temperatura se puede elevar de 1 a 2°C por encima de lo normal. El crecimiento continúa hasta altas concentraciones de leptospiras, encontrándose en todos los tejidos. especialmente en la sangre, hígado, cerebro, riñón, pulmón y glándulas adrenales.

En este período las leptospiras son opsonizadas, fagocitadas y eliminadas por el sistema retículo endotelial (14,18,24).

Las leptospiras son buenos antígenos; los animales recuperados quedan protegidos contra el serotipo que les afectó o sea que no hay inmunidad cruzada entre los diversos serotipos (15,25).

Generalmente los primeros anticuerpos que se detectan en el suero son IgM; al día 25 aparecen los IgG conforme incrementan estos, decrecen los IgM. Los IgG persisten por mucho más tiempo (de 6 a 12 semanas) (7,19,22).

También en este período hay retención de nitrógeno y posteriormente las leptospiras se establecen en los túbulos renales y como consecuencia se presenta una leptospiruria de duración variable, según la especie animal afectada (en cerdos más de 45 días).

Los mecanismos básicos en los cambios patológicos ocurridos, están relacionados en parte, con los daños a nivel capilar, debido a sustancias parecidas a las endotoxinas de las bacterias Gram negativas. Al respecto se han detectado la producción de fibrolisina y hemolisina (14,24,29).

#### e.- SIGNOS CLINICOS.

Los cuadros pueden ser agudo, subagudo y crónico, o bien aparecer de forma asintomática, dependiendo de la serovariedad infectante, la edad y el estado general del hospedador (15,17).

En las hembras preñadas se puede presentar en forma de abortos al último tercio de la gestación, con fetos momificados, quedando la cerda con metritis y mastitis, manifestando el cuadro agudo: fiebre, anorexia, debilidad, conjuntivitis, ictericia, hemoglobinuria y disturbios nerviosos (convulsiones)(3,10,11,24).

En los casos que llegan a nacer vivos los lechones, están

débiles, con peso subnormal, ictericos y las cerdas hirsutas.

En las hembras que presentan mastitis (mastitis suave) y agalactia por lo general los lechones mueren de hambre.

En cerdas no preñadas y machos, cuando llega la infección pueden presentar cualquier cuadro clínico o quedar como portadores por algún tiempo y presentar anticuerpos de la serovariedades infectantes (3,10,11,12,24,25).

#### f.- LESIONES.

En las hembras preñadas, clínicamente se presenta anemia, ictericia, abortos, mostrando ligeros cambios microscópicos de placentitis.

En lechones muertos se presentan hemorragias petequiales en pleura pulmonar, epicardio, corteza renal y tejido pélvico; el hígado y el bazo estan edematosos y oscuros con focos necróticos (2,3,11,13,18,20,24).

En fetos abortados, no son reveladoras sus lesiones, por la descomposición que sufren tiempo antes del aborto.

En machos y hembras, las manifestaciones más aparentes son la ictericia en varios órganos, los pulmones estan pálidos, edematosos y dilatados, el hígado está aumentado, friable y generalmente aparece decolorado, también presentan hemorragias y pequeñas zonas de necrosis focal. Los riñones estan edematosos con numerosas pequeñas hemorragias (10,18,20,24).

En los casos que los cerdos han presentado la enfermedad, se

forma una nefritis intersticial focal crónica (2,3,11,12,18,20).

g.-DIAGNOSTICO.

Los cuadros clínicos y epidemiológicos, no son muy específicos de la enfermedad, además de que las lesiones encontradas no son características de la enfermedad. Debido a lo anterior se deben realizar pruebas de laboratorio y éstas pueden ser:

1.- Pruebas serológicas:

A.- Aglutinación macroscópica.

B.- Aglutinación microscópica.

C.- Inmunofluorescencia.

D.- Prueba de ELISA.

2.- Exámen de orina, en microscopio de campo oscuro.

3.- Cultivos.

4.- Inoculación en animales de laboratorio.

De éstos procedimientos el más usado es la prueba de Aglutinación microscópica y es usada como referencia.

Esta técnica se emplea para detectar anticuerpos en el suero, identificar los aislamientos de leptospiras y clasificar cepas, además de servir como base para evaluar cualquier otro método serológico para el diagnóstico de la enfermedad (4,28, 31,32).

#### h.- TRATAMIENTO.

En cerdas que abortan y a los animales con la infección generalizada es eficaz las oxitetraciclinas (7 a 11 mg/kg de peso) y estreptomycin (25 mg/kg de peso) por vía intramuscular durante cuatro días y repitiendo el tratamiento siete días después (2,6,13).

En grupos de porcinos se recomienda adicionar en la alimentación oxitetraciclinas (1 kg. por tonelada metrica), durante ocho a once días y repetir el tratamiento tres semanas después (2,13).

La terramicina (250 mg/kg) cada doce horas, intramuscularmente y las tetraciclinas (11 mg/kg) actúan favorablemente en los primeros estadios de la enfermedad, en dosis elevadas y períodos prolongados (2,6).

Los resultados pueden ser desalentadores, ya que la mayor parte de los casos, las cerdas preñadas se someten al tratamiento, cuando ha desaparecido la septicemia y se han presentado los abortos. También, los antibiótico de elección pueden carecer de valor cuando el daño renal esta muy avanzado.

#### i.- CONTROL.

El control esta basado en la vacunación, y ya que estos microorganismos no son parásitos intracelulares, las bacterinas (germenes muertos) estimulan una excelente protección de corta

duración (menos de un año), la inmunidad es humoral. Las concentraciones de anticuerpos inducidos por la aplicación de bacterinas suelen ser bajas y no interfieren con el diagnóstico serológico (8).

En el mercado se pueden encontrar bacterinas con cinco serovariedades; L. canicola, L. grippotyphosa, L. icterohaemorrhagiae, L. hardjo y L. pomona.

El muestreo serológico se debe hacer cada seis meses y desechar a los animales que resulten positivos.

Las medidas de higiene, como la desinfección, evitar encharcamientos, limpieza en general, aislamiento de animales enfermos y portadores sanos y el control de vectores como roedores, perros y otros reservorios.

## 2. ANTECEDENTES DE LA LEPTOSPIROSIS PORCINA EN MEXICO.

En 1958 se estudiaron 186 muestras de suero porcino empleando la técnica de aglutinación de Wannan utilizando leptospiras vivas cultivadas en medio de Korthoff, de dichos sueros, 173 fueron positivos a una dilución 1:40 de los siguientes serotipos: 78 a L. icterohaemorrhagiae, 71 a L. pomona y 24 a L. canicola (36).

Se estudiaron 876 sueros porcinos de diferentes partes de la República Mexicana en 1961 y se encontraron 422 positivos a una dilución 1:40; 116 a L. icterohaemorrhagiae, 191 a L. pomona y 24 a L. canicola (24) y en 1965 se examinaron 386 muestras que resultaron positivas 173, las cuales 78 fueron a L. icterohaemorrhagiae, 71 a L. pomona y 24 a L. canicola (35).

En 1968 se muestrearon 520 sueros por medio de la prueba de Aglutinación en placa con L. pomona encontrando 167 sueros positivos (1).

Con la técnica de Wolff, en 1969 se analizaron 142 sueros, encontrando el 36% de positivos, el serotipo más frecuente fué L. bratislava (30).

Se trabajaron 883 sueros de porcinos en 1969, con la técnica de Wannan con cepas vivas de leptospiras, considerando positivos títulos de 1:40 en adelante, teniendo como resultado 429 positivos los cuales 174 fueron para L. icterohaemorrhagiae, 191 a L. pomona y 64 a L. canicola (37).

En un estudio de 1968 a 1970 de 398 sueros porcinos, repor-

ta el 12% de reactores positivos a L. australis, L. ballum y L. pomona (16).

Se reporta el 14% de positivos de 300 sueros estudiados en 1971 a L. pomona y L. icterohaemorrhagiae (21), y otro estudio se muestreo 503 porcinos con la técnica de Stoerner, encontraron 361 positivos, reportando a L. grippotyphosa como el serotipo más importante (23).

Se analizaron en 1976, 95 muestras de suero porcino con la prueba de Aglutinación microscópica descrita por Wolff, considerando positivos a la dilución 1:100 o más alta con L. pomona, L. canicola, L. ballum y L. bratislava (9). En este mismo año, se recogieron 209 sueros porcinos, los cuales 127 fueron positivos mediante la técnica de Aglutinación microscópica con antígenos vivos, los resultados positivos fueron 23 a L. icterohaemorrhagiae, 40 a L. canicola, 58 a L. pomona y 29 a L. grippotyphosa (38).

En 1977, se reportó que el estudio de 900 sueros el 11.3%, dieron reacción positiva con la prueba de Microaglutinación con L. pomona, L. batavia, L. hardjo, L. canicola y L. tarassoviae (26).

El porcentaje de reactores positivos encontrados de 500 sueros estudiados en 1980 fué de 56.33, los cuales 141 fueron a L. canicola, 118 a L. grippotyphosa, 77 a L. hardjo, 153 a L. icterohaemorrhagiae y 283 a L. pomona (33).

Se realizó una investigación en 1983, utilizando la prueba de Microaglutinación a 2481 sueros porcinos procedentes de



15 Estados de la República Mexicana en el lapso de 7 años, los serotipos más frecuentes fueron L. pomona (38%), L. shermani (11.6%), L. hardjo (8.1%) y L. icterohaemorrhagiae (8.0%) (22).

En 1986, de 5 granjas porcícolas se recolectaron 55 sueros, los cuales 35 fueron positivos a uno o más serotipos, 18 a L. icterohaemorrhagiae, 16 a L. pyrogenes, 23 a L. grippotyphosa, 11 a L. autumnalis t 11 a L. shermani (39).

De 1985 a 1988, se examinaron 778 sueros de cerdos y se encontró positividad en 305 a los siguientes serotipos: 33 a L. icterohaemorrhagiae, 249 a L. pomona, 11 a L. canicola y 13 a L. grippotyphosa (5).

## II. PLANTEAMIENTO

En este trabajo de investigación de tesis, se pretende conocer la principales serovariedades de leptospiras en granjas de cerdas de los municipios de Cuautitlán de Romero Rubio y Teoloyucan, Edo. de México. Ya que anteriormente no se había realizado ningún estudio serológico sobre leptospirosis, además de que las granjas muestreadas presentan problemas de tipo reproductivo (abortos, infertilidad y fetos momificados).

Considerando que la leptospirosis es una enfermedad con sintomatología inespecífica, haciendo difícil un diagnóstico clínico acertado y tratamiento oportuno, adicionando que la porcicultura presenta una fuente de ingresos muy fuerte en México, por lo tanto, el factor económico es de primordial importancia, pues las granjas sufren pérdidas económicas por problemas de tipo reproductivo. Por este motivo se muestrearon 205 cerdas de 5 granjas y fueron titulados anticuerpos contra leptospira, usando las serovariedades que más frecuentemente afectan a los cerdos.

Es la intención, al realizar este trabajo, dar a conocer la incidencia y presencia de leptospirosis para ayudar a tomar medidas preventivas y de control, así como hacer una tipificación más detallada de estos microorganismos para posteriormente utilizar una bacterina más adecuada para controlar esta zoonosis.

### III. HIPOTESIS

Se considera que en algunas granjas porcícolas de Cuautlán de Romero Rubió y Teoloyucan, Estado de México, se presentan problemas de leptospirosis, causadas por serovariedades de Leptospira interrogans, no incluidas en bacterinas comerciales.

#### IV. OBJETIVOS

- 1.- Conocer la presencia de Leptospirosis en cerdas de granjas en los Municipios de Cuautitlán y Teoloyucan, Estado de México, mediante la técnica de Aglutinación microscópica.
- 2.- Conocer las serovariedades más frecuentes de leptospiras en cada granja.
- 3.- Este trabajo servirá para otros estudios encaminados a buscar una solución a los problemas de Leptospirosis en esta zona; específicamente en implantar programas de control, mediante el uso de biológicos que incluyan las serovariedades resultantes en el estudio.

## V. MATERIAL Y METODOS

### 1. MATERIAL:

- a.- 205 cerdas adultas para cría, no vacunadas, en los Municipios de Cuautitlán y Teoloyucan, Edo. de México, con antecedentes de abortos.
- b.- Equipo y material de laboratorio para diagnóstico serológico de leptospirosis.
- c.- 13 serotipos de Leptospira interrogans, obtenidos del Laboratorio de Leptospirosis del Departamento de Bacteriología del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.

SEROGRUPO	CEPA
1.- <u>L. australis</u>	Ballico
2.- <u>L. autumnalis</u>	Akiyami A
3.- <u>L. ballum</u>	S 102
4.- <u>L. bataviae</u>	Van Tienen
5.- <u>L. canicola</u>	Hond Utrecht IV
6.- <u>L. grippotyphosa</u>	Adam
7.- <u>L. hardjo</u>	Hardjoprajitno
8.- <u>L. icterohaemorrhagiae</u>	RGa
9.- <u>L. pomona</u>	Pomona
10.- <u>L. pyrogenes</u>	Salinem

SEROGRUPO	CEPA
11.- <u>L. serjoe</u>	Mus 24
12.- <u>L. tarassovi</u>	Perepelicin
13.- <u>L. wolffi</u>	3705

## 2.- METODOS:

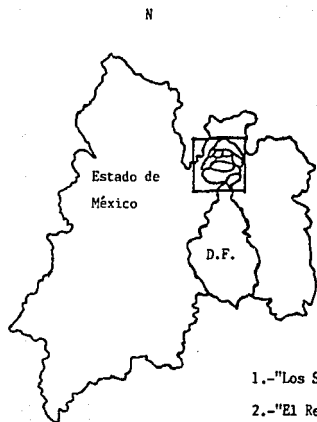
### a.- Trabajo de campo:

#### ai.- Características de las granjas:

Las granjas bajo estudio, manejan un sistema de explotación intensivo, donde se incluyen: alimento balanceado en comederos fijos, agua potable en bebederos automáticos de tasa o tetina, las razas de las cerdas son Hampshire, Landrace y Yorkshire, y cuentan con servicio Médico Veterinario permanente.

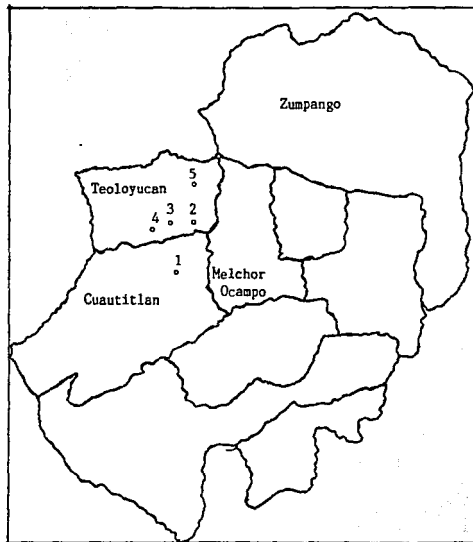
El número de animales de estas granjas oscila entre 120 a 200 cerdas para cría, el porcentaje de muestras tomadas fué de 22 al 31%, y se recolectaron un total de 205 muestras de suero de cinco granjas, durante los meses de octubre a diciembre de 1989; comprendidas en una zona de los municipios de Cuautitlán de Romero Rubio y Teoloyucan, Edo. de México (ver figura 1).

En estos municipios el clima predominante es el templado subhúmedo, con lluvias en verano y porcentaje de lluvia invernal menor de 5. El régimen pluvial medio anual oscila entre 600-800 mm y temperatura media anual entre 12 y 16°C. La mayor precipitación pluvial se registra en junio con un valor que



E

- 1.-"Los Sauces"
- 2.-"El Retoño"
- 3.-"El Retoño II"
- 4.-"El Retiro"
- 5.-"San Francisco"



20

Figura 1.- Ubicación Geográfica de las granjas muestreadas.

está entre 120 y 130 mm y la mínima en febrero con un valor de 5 mm.

aii.- Obtención de sueros:

- 1.-Se recolectaron 5 ml. de sangre por cerda, extraída por puncción en la vena auricular y depositadas en tubos de ensaye estériles con tapón de hule previamente identificados.
- 2.-Transcurridas 24 hr. a temperatura ambiente, se retiraron los coágulos sanguíneos formados en las muestras, obteniéndose aproximadamente 2 ml. de suero por tubo.
- 3.- Estos fueron centrifugados a 2500 RPM durante 5 minutos.
- 4.- Posteriormente los sueros se decantaron a otros tubos de ensaye estériles, también identificados y registrados con el nombre de la explotación y la ubicación de la misma, número de registro del animal, número progresivo y se congelaron hasta su uso.

b.- Trabajo de Laboratorio:

bi.- Elaboración del Medio Líquido de Korthof (4).

bii.- Siembra de cepas:

- 1.-El medio de cultivo nuevo se envasa en tubos de ensaye estériles con tapón de rosca, con 8 ml. de medio por tubo.
- 2.- A cada uno de los tubos se le agrega 1.5 ml. del cultivo de leptospiras seleccionado.
- 3.- Se incuba en estufa bacteriológica, a 32°C durante 6 días.
- 4.- Se verifica que los nuevos cultivos posean las caracterís-



ticas necesarias para poder ser utilizadas en la prueba de Aglutinación microscópica.

biii.- Técnica de Aglutinación microscópica:

Las pruebas de Aglutinación microscópica se realizaron en el Laboratorio de Leptospirosis del Departamento de Bacteriología del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.

Para realizar las pruebas se utilizaron 13 serovariedades de Leptospira interrogans, cultivadas en medio líquido de Korthof.

La técnica se desarrolló por el método descrito por Miers (27), con la única diferencia de que para la incubación se utilizaron microplacas de 96 pozos de fondo plano, en lugar de portaobjetos.

Para que los antígenos puedan ser utilizados en la prueba de Aglutinación microscópica, deben ser cultivos vivos en medio líquido, tener de 7 a 14 días de crecimiento, sin contaminación ni autoaglutinación y contener aproximadamente de 100 a 200 microorganismos por campo. No se deben utilizar los antígenos después de 30 días, debido a que baja su antigenicidad.

Procedimiento:

- 1.- Inactivar los sueros en baño María, a 36°C durante 30 minutos.
- 2.- Mezclar en un tubo de ensaye 0.1 ml. de suero con 0.24 ml. de solución salina fisiológica, para obtener una dilución 1:25.

- 3.- Poner en los pozos de las microplacas 0.05 ml. de esta dilución.
- 4.- Agregar 0.05 ml. de antígeno, con lo que se obtiene una dilución de 1:50.
- 5.- Incubar durante 60 minutos, en cámara húmeda.
- 7.- Extraer con asa de platino, una gota de la dilución y colocarla sobre un portaobjetos.
- 8.- Leer el portaobjetos en microscopio de campo oscuro, con el objetivo 40X.
- 9.- Registrar el grado de aglutinación de cada antígeno, en relación con el antígeno control, según sea la escala, 1+ a 4+ ó negativo:  
+++ = 75% de bacterias aglutinadas.  
++ = 50% de bacterias aglutinadas.  
+ = 25% de bacterias aglutinadas.  
+ = 0 a 25% de bacterias aglutinadas.  
Negativo = Sin aglutinación e idéntico al antígeno control (4,14,27,30,31).
- 10.- Seleccionar todos los sueros positivos a ++ ó más.
- 11.- Hacer diluciones dobles de la dilución original 1:25 y titular.  
En animales una dilución 1:100 se considera como positivo (14).

## VI. RESULTADOS

Los resultados que se obtuvieron, fueron de una muestra total de 205 sueros de cerdas, los cuales 143 reaccionaron positivamente a la prueba de Aglutinación microscópica, a una dilución 1:100, a una o más serovariedades.

TABLA 1.- Presencia de serovariedades de Leptospira interrogans mediante la prueba de Aglutinación microscópica, con títulos en 1:100 en sueros de 205 cerdas en los Municipios de Cuautitlán y Teoloyucan, Edo. de México.

SEROVARIEDAD	No. de sueros.	No.de positivos.	Porcentaje de positivos en dilución 1:100.
1.- <u>L. pomona</u>	205	74	36.09
2.- <u>L. pyrogenes</u>	205	38	18.53
3.- <u>L. ballum</u>	205	37	18.04
4.- <u>L. autumnalis</u>	205	24	11.70
5.- <u>L. canicola</u>	205	23	11.21
6.- <u>L. tarassovi</u>	205	20	9.75
7.- <u>L. icterohaemo</u>	205	17	8.29
8.- <u>L. grippotyphosa</u>	205	12	5.85
9.- <u>L. seiroe</u>	205	6	2.92
10.- <u>L. wolffi</u>	205	4	1.95
11.- <u>L. australis</u>	205	3	1.46
12.- <u>L. batavia</u>	205	2	0.97
13.- <u>L. hardjo</u>	205	2	0.97
TOTAL.	205	143	69.75

TABLA 2.- Presencia de serovariedades de Leptospira interrogans mediante la prueba de Aglutinación microscópica con títulos 1:100, de 205 sueros de cerdas en cinco granjes de los Municipios de Cuautitlán y Teoloyucan, Edo. de México.

<u>SEROVARIEDAD</u>	<u>GRANJA 1</u>	<u>GRANJA 2</u>	<u>GRANJA 3</u>
	positivos/total de animales (% de positivos)		
1.- <u>L. pomona</u>	8/37(21.62)	10/42(23.80)	10/48(20.83)
2.- <u>L. pyrogenes</u>	9/37(24.32)	13/42(30.95)	8/48(16.66)
3.- <u>L. ballum</u>	2/37( 5.40)	8/42(19.04)	20/48(41.66)
4.- <u>L. autumnalis</u>	4/37(10.81)	7/42(16.66)	11/48(22.91)
5.- <u>L. canicola</u>	4/37(10.81)	2/42( 4.76)	12/48(25.00)
6.- <u>L. tarassovi</u>	1/37( 2.70)	1/42( 2.38)	10/48(20.83)
7.- <u>L. icterohemorrhagiae</u>	2/37( 5.40)	3/42( 7.14)	7/48(14.58)
8.- <u>L. gripotyphosa</u>	2/37( 5.40)	2/42( 4.76)	4/48( 8.33)
9.- <u>L. serjoe</u>	0/37( 0.00)	0/42( 0.00)	0/48( 0.00)
10.- <u>L. wolffi</u>	1/37( 2.70)	0/42( 0.00)	0/48( 0.00)
11.- <u>L. australis</u>	2/37( 5.40)	0/42( 0.00)	0/48( 0.00)
12.- <u>L. batavia</u>	0/37( 0.00)	0/42( 0.00)	0/48( 0.00)
13.- <u>L. harjo</u>	0/37( 0.00)	0/42( 0.00)	0/48( 0.00)

GRANJA 1.-"Los Sauces"

GRANJA 2.-"El Retoño"

GRANJA 3."El RetoñoII"

+ Continuacion de la TABLA 2.

SEROVARIEDAD	GRANJA 4 positivos/total de animales (% de positivos)	GRANJA 5 positivos/total de animales (% de positivos)
1.- <u>L. pomona</u>	17/38(44.73)	29/40(72.00)
2.- <u>L. pyrogenes</u>	7/38(18.42)	1/40( 2.50)
3.- <u>L. ballum</u>	7/38(18.42)	0/40( 0.00)
4.- <u>L. autumnalis</u>	2/38( 5.26)	0/40( 0.00)
5.- <u>L. canicola</u>	2/38( 5.26)	3/40( 7.70)
6.- <u>L. tarassovi</u>	2/38( 5.26)	6/40(15.00)
7.- <u>L. icterohaemorrhagiae</u>	2/38( 5.26)	3/40( 7.50)
8.- <u>L. grippityphosa</u>	0/38( 0.00)	4/40(10.00)
9.- <u>L. serice</u>	0/38( 0.00)	6/40(15.00)
10.- <u>L. wolffi</u>	1/38( 2.63)	2/40( 5.00)
11.- <u>L. australis</u>	0/38( 0.00)	0/40( 0.00)
12.- <u>L. batavia</u>	2/38( 5.25)	0.40( 0.00)
13.- <u>L. harjo</u>	0/38( 0.00)	2/40( 5.00)

GRANJA 4.- "El retiro"

GRANJA 5.- "San Francisco"

**TABLA 3.- Positividad resultante de 5 granjas muestreadas de cerdas para cría en los Municipios de Cuautitlán y Teoloyucan, Edo. de México.**

<u>GRANJA</u>	No. de sueros	No. de positivos	Porcentaje de positivos
1.- "Los sauces"	37	24	64.86
2.- "El retiro"	42	24	57.14
3.- "El retiro II"	48	32	66.66
4.- "El retoño"	38	27	71.05
5.- "San Francisco"	40	36	90.00
<b>TOTAL</b>	<b>205</b>	<b>143</b>	<b>69.75</b>

## VII. DISCUSION

Se menciona que en nuestro país la Leptospirosis es una zoonosis rara, pero en realidad la poca frecuencia con que se encuentra esta enfermedad en los animales, es producto de la dificultad que se tiene para hacer el diagnóstico desde el punto de vista puramente clínico, ya que sus síntomas no son característicos y fácilmente se le puede confundir con otros procesos infecciosos.

Por otra parte en México las Instituciones donde se investiga esta zoonosis, son pocas, de donde resulta que muchos diagnósticos clínicos hechos por el médico veterinario, quedan en la duda, ya que el diagnóstico definitivo, solo puede efectuarse por el laboratorio.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este muestreo serológico, en el que se ha realizado una búsqueda de anticuerpos contra leptospira en el suero de 205 cerdas adultas, no vacunadas, provenientes de 5 granjas, explotadas fundamentalmente para cría, se observa que en 147 de estos animales (69.75%)(tabla 1) existen anticuerpos originados por los mencionados microorganismos a títulos significativos (1:100); por lo que se refiere que la Leptospirosis está presente en las granjas de las cerdas estudiadas.

En las cinco granjas investigadas y que están comprendidas en los municipios de Cuautitlan de Romero Rubio y Teoloyucan, Edo. de Méx., se usaron 13 serovariedades que son las que común

mente se encuentran en las cerdas y son las que se mencionan en el capítulo de material y métodos, sin embargo las cerdas que resultaron ser negativas a las leptospiras usadas, no significa que estén libres de otras serovariedades que no se utilizaron en el presente trabajo.

En la tabla 2 y 3 donde se presentan los resultados obtenidos de la granja 1, "Los sauces" en el municipio de Cuautitlán puede observarse que en 37 cerdas muestreadas el 64.86% son reactores positivos con predominio de L. pyrogenes y L. pomona.

Corresponde a la granja 2 "El retoño", también la seropositividad es alta, de 42 muestras el 57.14% son positivas, destacando como en la granja anterior, L. pyrogenes y L. pomona.

Sin embargo en la granja 3, "El retoño II", L. ballum y L. canicola, son los serovares que más se encontraron, con una seropositividad alta, de 48 casos, el 66.66% de infectados.

En la granja 4 y 5, "El retiro" y "San Francisco", son dos explotaciones bastante contaminadas, en la primera, de 38 cerdas investigadas el 71.05% son positivas, y en la segunda en 40 animales, en el 90% se titularon anticuerpos contra leptospira, destacando en forma significativa L. pomona, que es muy común en los cerdos.

Los resultados que se presentan en la tabla 3, se puede apreciar que en las granjas encuestadas el porcentaje de positividad va desde el 64.86% al 90%.

Los estudios realizados con anterioridad como el de Jiménez, G.E.(22) y otros investigadores, demuestran que L. pomona es la



serovariedad con más alto porcentaje en cerdos, teniendo también incidencia otras serovariedades como las incluídas en éste trabajo.

Por otra parte cabe señalar que el significado, de que se haya realizado esta investigación en cerdas, es por que, en la reproducción, las leptospiras tienen una repercusión letal; los abortos que provocan, así como la infertilidad ocupan un porcentaje elevado en parte de los casos, es por ello, que la prevención y el control de la leptospirosis se hace necesario, empleando una bacterina que contenga la serovariedad o serovariedades presentes en la granja, así como el estudio serológico de cada explotación.

También es factible que cuando el Médico Veterinario, se interese en estudiar detenidamente esta zoonosis, el número de casos incrementaran.

## VII. CONCLUSIONES

Basándose en el análisis de los resultados que presentó la investigación, concluimos en orden de importancia:

- 1.- Se demostró la presencia de anticuerpos de leptospiras en cerdas en los municipios de Cuautitlán de Romero Rubio y Teoloyucan, Edo. de México.
- 2.- En general el serotipo L. pomona (36.09%) es el más difundido en estas granjas, seguido por orden de importancia por los serotipos L. pyrogenes (18,53%), L. ballum (18.04), L. autumnalis (11.70%) y L. canicola (11.21%).
- 3.- En las granjas muestreadas, el porcentaje de reactores positivos en 205 sueros fue de 69.75%.
- 4.- Todas las granjas muestreadas se encuentran afectadas por más de una serovariedad de Leptospira interrogans.
- 5.- Un mismo animal puede presentar anticuerpos de más de una serovariedad de Leptospira interrogans.
- 6.- Se recomienda, ya que su prevención y control es muy difícil, el uso de una bacterina que contenga las serovariedades presentes en las granjas.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Amezcua, Hdz.J.,(1968),"Contribución al estudio de la incidencia de leptospirosis en ganado porcino en Guadalajara, Jal., Yurécuaro y La Piedad Mich., mediante el diagnóstico de aglutinación en placa".  
Tesis Profesional, Esc. Nac. Med. Vet. y Zoot., México.
- 2.- Blood, D.C., Henderson, J.A., (1988), "Medicina Veterinaria".  
6° ed., Nueva editorial Interamericana, Mexico, D.F.
- 3.- Bohl, E.H., Powers, T.E., (1954, "Abortion in swine associated with leptospirosis".  
Jour. Am. Vet. Med. Ass., Abril: 262-265.
- 4.- Caballero, S.A., (1988), "Manual de procedimientos de laboratorio para leptospirosis".  
Secretaría de Salud, Laboratorio Nacional de Salud Pública, México.
- 5.- Caballero, S.A., (1989), "Leptospirosis en zonas rurales y urbanas".  
Revista Higiene, 38: (4) :7-10.
- 6.- Cacchione, R.A., (1969), "Leptospirosis experimental. Empleo de antibióticos en el tratamiento de la enfermedad".  
Revista de Investigación Agropecuaria, INTA, Buenos Aires, Rep. Argentina, Serie 4, Patología Animal, Vol. VI, No. 12: 121-127.

- 7.- Chang, A., Faine, S., (1970), "Electron-microscopic evidence for reactions of axial filaments of leptospira with IgM and IgG antibodies".  
Bull. Wld. Hlth. Org., 43:571-577.
- 8.-Clayton, N., (1987), "Leptospira hardjo vaccination regime".  
Vet. Rec., 10: 358-359.
- 9.- Dikens, H., (1976), "Leptospirosis".  
Boi. Tec. de la Dir. Gral. Sanidad Aniamal, S.A.G., México.
- 10.- Ellis, W.A., Mac Parland, P.J., (1986), "Boars as carriers of Leptospire of the Australis serogroup on farms with an abortion problem".  
Vet. Rec., 17:(118): 563.
- 11.- Ellis, W.A., Mac parland, P.J., (1986), "Isolation of leptospire from the genital tract and kidneys of aborted sows".  
Vet. Rec., 15:(118): 294-295.
- 12.- Ellis, W.A., Songer, J.G., (1986), "Prevalence of Leptospira interrogans serovar hardjo in the genital and urinary tracts of non-pregnant cattle".  
Vet. Rec., 14:(118): 11-13.
- 13.- Esminger, M.E., Parker, R.O., (1983), "Swine Science".  
Fifth edition, The Interstate, Danville, Illinois.

- 14.-Faine, S., (1982), "Guidelines for the control of Leptospirosis".  
World Health Organization, Geneva.
- 15.- Frappe, R.C., (1986), "Manual de Infectología Veterinaria. Enfermedades, Bacterianas y Micóticas".  
3 ed. ed. Ed. Francisco Mendez O., México, D.F.
- 16.- González, D., (1970), "Estudio epizootológico de leptospirosis 1968-70".  
Sanidad Animal, S.A.C., México.
- 17.- Hanson, L.E., Tripathy, D.N., (1978), "Diseases of Swine".  
5 ed. The Iowa State University Press-Ames, Iowa, USA.
- 18.- Hathaway, S.C., Litte, T.W.A.,(1983), "Experimental infection of pregnant gilts with Leptospirens insolated from British Wildlife. II,- Clinical, Bacteriological and Pathological aspects of infection".  
Br. Vet. J., 139: 404-414.
- 19.- Hathaway, S.C., Little, T.W.A.,(1981), "Prevalence and clinical significance of leptospiral antibodies in pigs in England".  
Vet. Rec., 14,(108): 224-228.
- 20.- Hunter, P., Van DerVyver, F.H., (1987), "Leptospirosis as a cause of "white spot" kidney in South Africa pig abattoirs".  
Onderstepoort Jour. Vet. Res., 54:59-62.

21.- Jiménez, A., (1971), "Exploración serológica de leptospirosis en cerdos".

Tesis Profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.

22.- Jiménez, G.E., (1983), "Estudio serológico de 2481 casos sospechosos de leptospirosis".

Tesis Profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.

23.- Jiménez, L., (1971), "Encuesta serológica para detectar anticuerpos aglutinantes contra diferentes leptospiras en suidos en el Edo. de Guanajuato".

Tesis Profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.

24.- Langham, R.F., Morse, E.U., (1958), "Experimental Leptospirosis. V. Pathology of Leptospira pomona infection in swine".

Am. Jour. Vet. Res., Abril:395-400.

25.- Langham, R.F., Morter, R.L., (1960), "Experimental Leptospirosis. VII. Re-exposure of pregnant sows with Leptospira pomona".

Am Jour. Vet. Res., January: 95-98.

26.- León, L., (1977), "Estudio serológico por aglutinación microscópica de la leptospirosis en bovinos y cerdos en México".

Ier. Simposium Internacional de Laboratorios de Diagnostico Veterinario, México. Tomo 1: 453-467.

27.- Miers, D.M., (1985), "Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de Leptospirosis".

Organización Panamericana de la Salud, O.M.S.

Nota Técnica No. 30.

28.- Morilla, G.A., Bautista, G.C.R., "Manual de Inmunología".  
1 ra. Ed. Editorial Diana, México.

29.- Ramírez, N.R., Pijoán, A.C., "Enfermedades de los cerdos".  
Ed. Diana, México, D.F.

30.- Rodríguez, G., (1969), "Exploración serológica de leptospirosis y brucelosis en ganado bovino y porcino con historia clínica de aborto".

Tesis Profesional, Esc. Nac. Med. Vet. y Zoot., U.N.A.M., México.

31.- Turner, L.H., (1968), "Special Article, Leptospirosis II, serology".

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Vol. 62:(6): 880-899.

32.- Turner, L.H., (1970), "Special Article, Leptospirosis III, Maintenance, isolation and demonstration of leptospira".

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Vol 64:(4): 623-646.

33.- Valencia, R.D., (1980), "Identificación por el método de aglutinación en placa de serotipos de leptospiras comunes, causantes de aborto en granjas porcinas de Culiacán, Sinaloa, México".

Tesis Profesional, F.E.S.C., U.N.A.M., México.

34.- Varela, G., Zavala, J., (1961), "Estudios serológicos de Leptospirosis en la República Mexicana".

Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop. Vol. XXI (1 y 2): 49-52.

35.- Varela, G., Roch, E., (1965), "Leptospirosis en la República Mexicana".

Salud Pública de México, Epoca V, Vol VII, (2): 189-193.

36.- Varela, G., Vázquez, A., (1958), "Investigación de aglutininas para para Leptospira icterohaemorrhagiae, L. pomona y L. canicola en sueros humanos y de animales, de diversos estados de la República Mexicana".

Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop., Tomo XVII (1): 31-35.

37.- Varela, G., Velasco, R., (1969), "Investigación serológica en la República Mexicana de Leptospirosis en animales"

Rev. Invest. Salud Publica, Vol. XXIX (1): 101-103.

38.-Velasco, R., (1976), "Estudio serológico sobre Leptospirosis en bovinos y porcinos del Edo. de Veracruz".

Rev. Inv. Salud Pública, 36: 13-17.



39.- Zepeda, M.O., (1986), "La rata en la epizootiología de la Leptospirosis en granjas porcícolas".

Tesis Profesional, F.E.S.C., U.N.A.M., México.