

254
2es.



**FRECUENCIA DE LEPTOSPIROSIS EN BOVINOS.
PRODUCTORES DE LECHE CON PROBLEMAS
REPRODUCTIVOS EN UNA EXPLOTACION DE
IXTAPALUCA. ESTADO DE MEXICO**

**TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
POR
FERNANDO TORRES AGATON**

ASESORES: M.V.Z. PEDRO CANO CELADA

M.V.Z. VICTOR MANUEL BANDA RUIZ

MEXICO, D. F.

1995



FALLA 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.

DEDICATORIA

A mis padres JUAN Y MARGARITA por su esfuerzo, confianza, apoyo, cariño y educacion he podido culminar una meta de superacion en la vida, ya que sin ustedes no lo hubiera logrado.

A mis papas JULIO Y RUFINA +, y abuelitos HESQUIO Y DEMETRIA + cuya herencia ha sido espiritu de superación, responsabilidad, amor y respeto a todo lo que se emprende en la vida.

A mis hermanos MIRIAM, XOCHITL, YOLOTLI Y JUANITO por el apoyo que me brindaron durante el desarrollo de este trabajo.

Y ANA MARIA por compartir esta etapa de mi vida, y darme su apoyo, tiempo, paciencia y amor en la elaboracion de ésta tesis.

A mis amigos ADRIANA, DULCE, SILVIA, ROCIO, ENRIQUE, OMAR , FRANCISCO, LUIS, EDGARDO y a todas aquellas personas que en algun momento directa o indirectamente participaron en el desarrollo de esta tesis.

A los MVZ NORBERTO VEGA A., SERGIO ROSAS M., SERGIO PRATX Y FRANCISCO JIMENEZ P. por su apoyo y conocimientos brindados durante mi vida profesional.

GRACIAS

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores PEDRO CANO Y VICTOR BANDA, quienes gracias a su dirección, conocimiento, tiempo y esfuerzo he culminado esta tesis.

A mis sinodales SALVADOR AVILA TELLEZ, FRANCISCO SUAREZ GUEMEZ, LUIS ZARCO QUINTERO Y ROSA ELENA MIRANDA MORALES por la revisión de esta tesis.

A mis tios, tias y primos ARTURO Y EDGAR, quienes con cariño, comprensión y ayuda hicieron posible esta realidad.

A mi amigo BECKETT NERI COLIN. quien con su paciencia y apoyo logre la realización de este trabajo.

GRACIAS

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODO.....	8
RESULTADOS.....	11
DISCUCION.....	13
CONCLUSION.....	16
LITERATURA CITADA.....	18
CUADROS.....	21
FIGURAS.....	33

RESUMEN.

TORRES AGATON FERNANDO. Frecuencia de Leptospirosis en bovinos productores de leche con problemas reproductivos, en una explotación de Ixtapaluca, Estado de México. Mediante un diagnóstico integral de Leptospirosis. (bajo la asesoría de PEDRO CANO CELADA y VICTOR MANUEL BANDA RUIZ).

El presente estudio se realizó con el objetivo de conocer la frecuencia de animales reactivos positivos a leptospira con problemas reproductivos, en ganado bovino productor de leche, en una explotación de Ixtapaluca, Estado de México, mediante pruebas bacteriológicas, microscópicas y serológicas, para lo cual se efectuó un muestreo en 80 vacas de la raza Holstein Friesian de 1º, 2º y 3º parto, de las cuales 50 tuvieron problemas reproductivos (aborto, infertilidad y reabsorciones) y 10 vacas aparentemente sanas. Las muestras se trabajaron en el laboratorio del CENID-Microbiología, mediante las pruebas de aislamiento, observación directa y aglutinación microscópica (AM), también se realizaron pruebas de tarjeta para Brucella y seroneutralización para rinitraqueítis infecciosa bovina (IBR).

Los resultados obtenidos mediante la prueba de AM indican que las serovariedades de mayor frecuencia encontradas son: L. wolffi, L. hardjo con una frecuencia del 86 %.

Como apoyo al diagnóstico diferencial como se realizó en ésta tesis entre Brucella e IBR nos demostró que no solo existe el problema de leptospirosis, sino también de estas 2 últimas enfermedades, que están afectando a las vacas de esta explotación.

Esto indica que se deben de utilizar bacterinas monovalentes o bivalentes para tener un mayor control de las cepas más patógenas, y a su vez tener mayor control serológico de los demás serotipos de leptospira.

INTRODUCCION.

La Leptospirosis, enfermedad zoonótica de distribución mundial que afecta la reproducción de los animales domésticos, silvestres y el humano de cualquier parte del mundo; es causada por una espiroqueta del género Leptospira. Las leptospiras son bacterias en forma de espiral, muy delgadas, consideradas como las espiroquetas más pequeñas. Poseen movimientos flexuosos sobre su propio eje (1,13).

En la actualidad se conocen dos especies de Leptospira: biflexa, la cual es saprofita y de vida libre y Leptospira interrogans, la cual cuenta con 26 serogrupos y más de 200 serovariedades, todas estas de morfología similar pero antigénicamente diferentes, patógenas para los animales domésticos, silvestres y el humano (1,12).

En forma no oficial se considera una tercera especie Leptospira illini (especie de clasificación incierta) esto es debido a que el Subcomité Taxonómico de leptospira (ICSB) considera la información insuficiente para definir satisfactoriamente el género de Leptonema y la especie Leptospira illini. (23).

Son bacterias en forma de espiral, muy delgadas, consideradas como las espiroquetas más pequeñas. Poseen movimientos flexuosos sobre su propio eje.

En la especie bovina las serovariedades que se reconocen como agentes causales de problemas reproductivos son: L. pomona, L. hardjo, L. serjce, L. canicola, L. icterohaemorrhagiae, L. wolffi entre otras. En México las de mayor frecuencia son: L. hardjo, L. wolffi y L. farassovi (1,4,5,8,9,13, 24).

Factores ambientales como las condiciones de suelo y del agua de las

zonas endémicas, la susceptibilidad del microorganismo a la desecación y a los cambios de Potencial de Hidrógeno (pH). Ph inferiores a 6 o superiores a 8 la inhiben (7). Las temperaturas inferiores a 7 C o superiores a 34 C afectan su supervivencia, la humedad como factor importante que rige la persistencia del microorganismo en cama o suelo y los reservorios que pueden ser uno o más para cada serovariedad (7, 8).

La fuente de infección es casi siempre el animal enfermo que contamina el pasto, el agua de bebida y los alimentos por medio de la orina, fetos abortados y secreciones uterinas, además del semen de toros infectados. El principal reservorio en la naturaleza de la leptospira son los roedores, pero algunas serovariedades como L. pomona, L. hardjo y L. tarassovi se han adaptado en bovinos utilizados para la agricultura, usándolos como huespedes de mantenimiento (7).

La vía de entrada del microorganismo en animales susceptibles es a través de escoriaciones de la piel, mucosas y vía oral. El período de incubación varía de 4 a 10 días y es seguido de una leptospiremia que dura aproximadamente de 24 a 48 horas (7,8).

Esta fase termina con la aparición de anticuerpos en la sangre del animal. Es entonces cuando el microorganismo es rápidamente eliminado de la circulación sanguínea, pero tiende a localizarse y permanecer en los riñones. El sitio en el que se aloja es en el interior de los tubulillos contorneados, donde se multiplica y pasa a la orina. La leptospiruria continúa durante 1 a 3 meses, pero el microorganismo puede persistir en el riñón por períodos más largos (7,8).

La leptospirosis se manifiesta en forma aguda, subaguda y crónica (7,8).

La forma aguda puede presentarse en animales de cualquier edad, pero es más frecuente en becerros de menos de un mes, se caracteriza por septicemia, fiebres altas de 40.5 a 41.5 C, anorexia, depresión, pérdida de peso, mucosas hemorrágicas, pálidas y en ocasiones ictéricas. Puede haber hemoglobinuria, observándose la orina de color rojo. La anemia produce taquicardia y disnea polipneica, presentándose posteriormente la muerte. En animales adultos se presenta además baja en la producción láctea, la cual es secretada desde un color rosa hasta un franco rojo (una mastitis flácida)(1,7,8).

En la forma subaguda, los signos son similares pero menos severos, la fiebre es moderada de 39 a 40.5 C, se registra además anorexia, disnea y cierto grado de hemoglobinuria, no es frecuente la ictericia, puede ocurrir aborto. Además uno de los signos característicos es la disminución de la producción láctea y la emisión de leche espesa teñida de color rojo o anaranjado amarillento en los cuatro cuartos, sin cambios físicos evidentes en la ubre (1,7,8).

La forma crónica se manifiesta por signos clínicos leves que pueden quedar restringidos al aborto, momificaciones, reabsorciones, nacimiento de animales débiles e infertilidad (1,7,8).

Las pruebas diagnósticas más empleadas son:

Bacteriología: Aislamiento, la cual se realiza a partir de muestras de tejido y/o fluidos (riñón, pulmón, hígado, sangre, orina y líquido cefalorraquídeo) de especies susceptibles a este microorganismo, cultivándose en medios específicos. Sin embargo, presenta algunas desventajas como son: la frecuente contaminación de las muestras, la necesidad de contar con

leptospiras viables en la muestra, tener medios específicos y por lo general la prueba de diagnóstico tarda demasiado tiempo (7,8).

Microscopía: Es necesario contar un microscopio de campo oscuro, las muestras de orina deben contener leptospiras viables, el personal de laboratorio debe estar capacitado para la observación de las bacterias (7,8).

Serología: Existen varias técnicas serológicas para detectar anticuerpos específicos contra leptospira: aglutinación en placa o en tubo, aglutinación microscópica, fijación del complemento, ensayo inmunoenzimático (ELISA), hemoaglutinación directa e inmunofluorescencia directa o indirecta (6,7,13,23).

La técnica serológica de Aglutinación Microscópica (AM) es la más utilizada para el diagnóstico de leptospirosis y se basa en la reacción de aglutinación con las diferentes serovariedades a los anticuerpos que pudieran estar presentes en el suero de los animales sospechosos. Por otra parte esta prueba es muy sensible y específica ya que detecta a las serovariedades que en algún momento infectaron al huésped sospechoso. Para su uso se requiere de leptospiras vivas, y detecta principalmente inmunoglobulinas del tipo IgM a partir del día 5 después de que ocurrió la infección (4). Varios autores han realizado investigaciones de esta enfermedad en los Estados Unidos, mediante el uso de la prueba de absorción de aglutininas, se reporta que de 73 muestras el 83% se identificó a la serovariedad *hardjo*, de 11 muestras el 12.5% fueron positivos a la serovariedad *grippotyphosa* (19).

En Canadá de 553 abortos bovinos, sólo en 34 casos, que representa el 6.1% se detectó en el feto leptospira con la técnica de inmunofluorescencia (21).

En México en 1984, Zavala et al., estudiaron la frecuencia de la reactividad contra leptospira en el suero de 1,123 bovinos, siendo reactivos el 8.8% empleando la prueba serológica de AM (24).

En Tizayuca, Hgo. se analizaron 12,430 notificaciones serológicas AM de animales con problemas reproductivos en el período de 1982-1989, la infección por leptospira fue diagnosticada en 5,189 casos que representaba el 41.7% de los sueros analizados (2).

Banda et al., en 1985 determinaron la presencia de anticuerpos en sueros de bovinos en 9 Estados de la República Mexicana y encontraron el 35.8% de bovinos seropositivos mediante el método serológico, de AM (5).

El mismo autor en 1992 realizó un estudio serológico AM retrospectivo de 1987 a 1991 reportando los siguientes resultados, de 3,293 sueros de bovinos con problemas reproductivos provenientes de 19 Estados de la República Mexicana fueron positivos 1,561 sueros (47.4%) y las serovariedades de mayor frecuencia de leptospira fueron L. wolffi, L. hardjo, L. tarassovi y L. pyrogenes (4).

En 1991, Caballero y Romero en un estudio seroepidemiológico utilizando la técnica de AM detectaron positivos al 48% de una muestra que contenía 8600 sueros de bovinos con problemas reproductivos (10).

En tres municipios del sur de Tamaulipas en el mismo año, las serovariedades de mayor frecuencia encontradas por Cantú y Banda fueron: L. wolffi 38.7%, L. tarassovi 35.5%, L. hardjo 24.7% (9).

Es indispensable conocer los anticuerpos de los animales vacunados, enfermos y portadores sanos con problemas reproductivos y sus serovariedades para tener mejor control de esta enfermedad, y así

disminuir los costos de producción por animal y el riesgo como zoonosis, es por ello que se pretende realizar un diagnóstico integral de leptospirosis en vacas productoras de leche de un establo de Ixtapaluca, Estado de México. Para así conocer la frecuencia de los animales con problemas reproductivos seropositivos a leptospira.

MATERIAL Y METODO.

El estudio se realizó en el municipio de Ixtapaluca, Estado de México, en una explotación de bovinos productores de leche ubicada a los 19° latitud norte, 99° latitud oeste, a 2,300 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media anual de 15.9 C y una precipitación promedio anual sobre los 710.3 mm y un clima según Koppen modificado por Enriqueta García C (Wo) (W) B (I) correspondiente a un clima templado semifrío (15).

El hato sujeto a estudio cuenta con aproximadamente 800 vacas en producción, en el cual se efectuó un muestreo a 60 vacas, de la raza Holstein Friesian de 1°, 2° y 3° parto, de las cuales 50 tuvieron problemas reproductivos (aborto: pérdida del producto antes de los 9 meses; infertilidad: pérdida de la capacidad de procrear y reabsorciones: muerte embrionaria y la asimilación del embrión por el útero)(18), y 10 vacas fueron aparentemente sanas (sin problemas reproductivos). En el cuadro 1 se muestra la situación reproductiva de las vacas aparentemente sanas, en el cuadro 2 y 2.1, se muestra la situación reproductiva de las vacas con problemas reproductivos. Los animales de este hato se vacunan cada 6 meses contra leptospira, y cuando las vacas se diagnostican cargadas (a los 30 días de servidas), utilizando una vacuna con 10 serovariedades de leptospira y a los 30 días postparto administrando la

DVB y una bacterina que contiene 5 serovariedades de leptospira.

Las muestras consistieron en orina y sangre de las vacas antes mencionadas, las muestras de orina (figura 1) se obtuvieron en la mayoría de la vacas por medio de un masaje vulvar, recolectando la orina a la mitad de la micción, en otras se obtuvieron por medio de pipetas de inseminación, recolectándola directamente de la uretra en frascos esteriles. Cabe hacer mención que previo a la recolección de la orina se Inmovilizó al animal, se lavo y seco la región perineal (17).

Las muestras de sangre (figura 2) se recolectaron del paquete vascular coccígeo, para esto se levantó la cola del animal con una mano y con la otra, se introdujo la aguja dentro de la primera porción de la cara ventral por la línea media de las vértebras coccígeas, obteniendo la sangre en tubos vacutainer esteriles sin anticoagulante (17).

Ambas muestras fueron transportadas al laboratorio del CENID MICROBIOLOGIA la orina en frascos estériles y la sangre en tubos vacutainer estériles sin anticoagulante (en una hielera a temperatura ambiente), para su uso en el diagnóstico de Leptospirosis (cabe hacer mención que las muestras se trabajaron en menos de 4 horas de haberse tomado éstas).

Las muestras de orina se trabajaron de la siguiente manera: adicionalmente, se revisaron varias gotas de orina para detectar la presencia de leptospiras, utilizando un microscópio de campo obscuro, posteriormente se centrifugó la orina a 2,500 r.p.m. durante 15 minutos obteniendo muestras del sedimento y sobrenadante de la orina para aplicar en ellas la técnica de anticuerpos fluorescentes (AF) con el siguiente procedimiento: sembrando

2 gotas de orina fresca en medio de cultivo EMJH específico para leptospira y se mantuvieron a temperatura ambiente de 37 C. semanalmente durante 4 semanas. Para observar si había o no crecimiento del microorganismo. Después através del microscopio de campo obscuro se revisaron varias gotas de orina para detectar la presencia de leptospiras, posteriormente se centrifugo y se obtuvo muestras de sedimento y sobrenadante de la orina para aplicar en ellas la técnica de Anticuerpos Fluorescentes (AF) con el siguiente procedimiento: Se pusieron 2 gotas de orina centrifugada en un portaobjetos, dejando secar al aire, para después fijar la Impronta con acetona durante 15 minutos. Después se colocó a cada gota de orina una gota de conjugado, y se incubó durante 1 hora a 37 C antes de ser observada en el microscopio de epifluorescencia (7).

Las muestras de sangre se centrifugaron a 2500 rpm durante 15 minutos para obtener el suero y correr la prueba serológica de Aglutinación Microscópica (AM) con antígeno vivo contra 11 serovariedades de Leptospira interrogans (7,21). En el cuadro 4 se muestran las serovariedades utilizadas y las cepas de referencia.

La prueba de AM consistió en realizar diluciones dobles del suero comenzando en 1:50 en tubos de ensaye; de cada dilución se colocó una gota en una placa de porcelana con doce excavaciones y a cada una de ellas se le agregó una gota de cada uno de los 11 antígenos de leptospira, se incubaron en una cámara húmeda durante 1 hr. a temperatura ambiente y posteriormente se observó la reacción de aglutinación en un microscopio de campo obscuro. Se consideró como positivo todo aquel suero capaz de aglutinar a el 50% ó más leptospiras a una dilución igual ó mayor de 1:100

(11).

El control efectivo de la leptospirosis depende de la medida de diagnosticarla y desarrollar antígenos inmunizantes. Pero el desarrollo de vacunas múltiples depende en parte, en una medida de anticuerpos protectores de las vacunas. Se ha observado que la pobre persistencia de anticuerpos por AM en bovinos no necesariamente indican una pobre protección ya que se ha reportado que bovinos y cerdos se han recuperado de una leptospirosis y sus títulos son tan bajos que no sobrepasan una dilución de 1/40 y más aparte, fueron resistentes a una inoculación de exposición con leptospiras virulentas de L. pomona causando enfermedad en animales susceptibles utilizados como controles (20).

Por otra parte Ellis, en un estudio realizado en varios hatos lecheros comenta que la incidencia de animales con anticuerpos de 1/10 o mayores a la serovariedad L. serjoe es tomado como una guía para el estado inmune del hato, y que la incidencia de títulos de anticuerpos 1/300 o más fue usado como un indicio de una infección activa dentro del hato. Por otro lado la presencia de estos títulos de anticuerpos no necesariamente indica que todos los animales tuvieron una infección activa. El mismo autor en un muestreo de animales infectados experimentalmente 18/20 vaquillas tuvieron títulos por arriba de 1/300 por más de 9 semanas (14).

Banda en 1991 encontró títulos vacunales a los 90 días en vaquillas seronegativas, anticuerpos que no sobrepasaron títulos de 1/200, por lo que se puede considerar que una vacuna comercial después de 3 meses los anticuerpos declinan por debajo de 1/100 (3).

RESULTADOS.

Se muestran los resultados serológicos por AM de las vacas aparentemente sanas. Se observa que 3/10 sueros de vacas aparentemente sanas fueron negativos, representando el 30%. En los sueros de las 7 vacas restantes se observaron aglutinaciones contra L. woffii 7/10, L. hardjo 4/10, L. panama 4/10, L. icterohaemorrhagiae 4/10, L. tarassovi 2/10, L. bratislava 2/10, L. grippotyphosa 1/10, L. hebdomadis 1/10 variando los títulos de anticuerpos desde 1/50 hasta 1/1600 (cuadro 5, figura 3).

En los cuadros 6 y 7 se muestran los resultados obtenidos por AM de las muestras de sueros de las vacas con problemas reproductivos en donde soló 5/50 (10%) resultaron negativos; también se puede observar que en este grupo de animales los títulos de anticuerpos encontrados fueron desde 1/50 hasta 1/1600.

Las serovariedades encontradas fueron L. woffii 30/50, L. hardjo 30/50, L. panama 17/50, L. canicola 7/50, L. pyrogenes 3/50, L. icterohaemorrhagiae 3/50, L. bratislava 1/50, L. tarassovi 1/50, L. hebdomadis 1/50 (figura 4).

Teniendo con esto una serofrecuencia positiva del 70% en las vacas aparentemente sanas y del 90% en las vacas con problema reproductivo.

En el cuadro 8 se observa que soló una muestra de orina fué positiva a la prueba de Observación Directa, y 2/50 a la prueba de AF. En ningún caso se logro aislar a la leptospira. Cabe hacer mención que todas las vacas aparentemente sanas fueron negativas a estas pruebas.

Como apoyo a ésta tésis se realizaron pruebas complementarias para un diagnóstico diferencial para la prueba de tarjeta de Brucella y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) por la prueba de seroneutralización ; los resultados

obtenidos se muestran en el cuadro 9 donde 33/50 sueros fueron positivos a la prueba de tarjeta de *Brucella abortus* representando el 66% y 41/50 el 82% sueros a la prueba de seroneutralización para el diagnóstico de IBR .

En los sueros de las vacas aparentemente sanas se detectaron 6/10 el 60% de los sueros positivos a la prueba tarjeta de *Brucella* y 7/10 el 70% de los sueros a la prueba de seroneutralización para IBR.

En la figura 5 y cuadros 10, 11 y 11.1 observamos la concordancia de los resultados de las pruebas serológicas de (*Leptospira* , *Brucella* e IBR) donde 28/60 animales fueron positivos a las tres pruebas, 6/60 solo a las pruebas serológicas de *Leptospira* y *Brucella* y 15/60 fueron positivos a la prueba de *Brucella* e IBR, y 3 vacas negativas a las pruebas antes mencionadas.

DISCUSION

Los problemas reproductivos en la actualidad causan pérdidas en la ganadería sobre todo en bovinos productores de leche, afectando también la propia producción y esto va desde problemas en aparato reproductivo de la vaca hasta la pérdida del feto casi a término. Dentro de las principales entidades nosológicas que pueden causar estas complicaciones reproductivas son: Rinotraqueítis infecciosa bovina, Diarrea viral bovina (DVB), Leptospirosis, Brucelosis, Campilobacteriosis, Listeriosis, Clamidiosis, Tricomoniasis, Ureaplasmosis, Hipoproteínuria, Deficiencias de Vitamina A, Aflatoxicosis, Intoxicación por agua entre otras (7).

La Leptospirosis en México se encuentra ampliamente difundida(1,16). Sin embargo, ésta infección aún no ha sido tomada en cuenta por las autoridades responsables de la salud animal y puesta bajo un estricto

control sanitario por las mismas.

Dentro de las zoonosis la leptospirosis es importante, y por lo tanto el diagnóstico es limitado en los humanos ya que para ello se toma en cuenta única y exclusivamente aspectos clínicos y la mayoría de las veces confusos (10).

Por otra parte el tratamiento de esta infección es reducido, ya que en el ganado de leche es difícil diagnosticar con exactitud a los animales infectados de leptospirosis. También la prevención es complicada, ya que se realiza por medio de bacterinas, que contienen 5, 8 y hasta 10 serovariedades diferentes, lo que en la mayoría de las veces confunde el resultado de un diagnóstico serológico, sobre todo si la aplicación del biológico es constante y de reciente administración.

La serofrecuencia encontrada en el presente trabajo en las vacas con problemas reproductivos fue del 90%, y las vacas normales fue del 70%. Probablemente esta alta frecuencia sea debida a una vacunación reciente, ya que en la mayoría de los casos los anticuerpos no fueron mayores a 1/200. Sin embargo, en algunos animales los títulos variaron de 1/400 hasta 1/1600, por lo que se podría sospechar en una infección reciente (14).

Por otra parte, soló 2 vacas de las 50 con problemas reproductivos (las vacas No. 128 y No. 361) fueron positivas a la prueba de anticuerpos fluorescentes en orina. El resultado positivo a esta prueba indica que estos animales cursan una etapa de convalecencia o son portadores sanos lo cual implica un riesgo para la demás población susceptible.

Una muestra de orina fue positiva a OD (la vaca No. 7), teniendo con esta el mismo riesgo de las 2 muestras antes mencionadas. El aislamiento en

ningún caso fue positivo, esto puede ser aceptable ya que la leptospira es difícil de adaptar a medios de cultivo específicos en el laboratorio, sobre todo las serovariedades que afectan al ganado bovino, las cuales pueden tardar hasta 6 meses en desarrollar un crecimiento satisfactorio (8).

De las 8 serovariedades detectadas L. wolffi y L. hardjo fueron las de mayor frecuencia, esto en base a los títulos de anticuerpos obtenidos, en algunos casos hasta de 1/1600, esto concuerda por lo reportado por otros investigadores (4,5,9,24).

Como se mencionó anteriormente los problemas reproductivos implican a otros agentes causales, como apoyo a este trabajo se realizaron en los sueros determinaciones serológicas contra Brucella y Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) siendo los resultados muy parecidos a los obtenidos en Leptospira. Lo que confirma lo expuesto anteriormente que al existir un hato en producción con un determinado número de agentes causantes de aborto, como sucede en este hato, en donde se encontraron animales seropositivos a Leptospira, Brucella e IBR por lo que se confirma que es difícil un diagnóstico certero de la causa del aborto y por lo tanto un resultado válido. Esto hace pensar que los problemas reproductivos sean provocados por varios agentes, con lo cual se agrava mas la situación de la explotación. Teniendo en cuenta el calendario de vacunación que se realiza en este hato, se considera un manejo indiscriminado de bacterinas así como un número elevado de serovariedades en el contenido de estas bacterinas; de acuerdo a los resultados positivos vacas con un título de anticuerpos menor o igual a 1/200 se consideraron recientemente vacunadas (efecto de vacunación, animales mayores de 6 meses postvacunación tenían

títulos de anticuerpos contra leptospira de 1/50 y 1/100 de acuerdo a la prueba de AM, y los sueros que presentaban títulos de anticuerpos mayores a 1/400 serán indicio de una presunta leptospirosis.

Se recomienda que a todos los animales seropositivos a leptospira se les de el tratamiento indicado que consiste en aplicar una dosis de Hidroestreptomocina a razón de 25 a 30 miligramos por kilogramo de peso, repitiendo la dosis a los 15 días. Ya que el uso indiscriminado de antibióticos ha ocasionado que las grandes empresas comerciales de leche castiguen el precio y el producto de la mayoría de los establos por altos índices de antibióticos en la leche.

CONCLUSION

Los títulos de anticuerpos encontrados de 1/200 y una historia de vacunación de 6 meses a 1 año, se pudieran sospechar que hubo recientemente una infección en este ganado, es importante determinar o mencionar que no necesariamente un título elevado de anticuerpos contra leptospira sea indicio de que el animal elimina leptospiras por la orina, pero lo que sí es muy probable es que estas se encuentren alojadas en el feto abortado o en órganos blancos del animal como puede ser riñón e hígado es por esto de la importancia de emplear biológicos específicos para determinada región ya que en la mayoría de los hatos el uso indiscriminado de bacterinas con 8 o más serovariedades pueden enmascarar alguna serovariedad en particular lo cual es el caso de ésta explotación, en donde se emplea una bacterina que contiene 5 y 10 serovariedades, pero únicamente se detectaron en los animales títulos superiores de 1/400 solo en las serovariedades L. wolffii y L. hardjo en la

mayoría de los casos.

A pesar de que en el presente trabajo se encontró una alta frecuencia de títulos de anticuerpos contra diferentes serovariedades de leptospira, no fue posible encontrar relación entre la presencia de anticuerpos contra leptospira y la ocurrencia de problemas reproductivos; ya que se encontraron títulos similares en vacas con y sin historia de problemas reproductivos.

Por otra parte como apoyo al diagnóstico diferencial como se realizó en ésta tesis entre Brucella e IBR nos demostró que no solo existe el problema de leptospirosis, sino también de estas 2 últimas enfermedades, que están afectando a las vacas de esta explotación ya que casi presentaron los mismos resultados para leptospira.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Ancha, N.P. y Syfrés, B. (1988) Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Ed. Organización Panamericana de la Salud. México. D.F. p.112-120.
- 2) Arteaga, T.G.; Banda, R.V.M; Méndez, R.I.; Moles, C.L.P.; Rosales, O.J.C y Torres, B.J. (1991) Leptospirosis en el complejo agroindustrial de Tizayuca, Hgo.: I Posibles implicaciones epidemiológicas, 18vo. Congreso de Buiatría Memorias AMVEEB p. 239-342.
- 3) Banda, R.V; Loza, R, E y Mejía, S, P. (1991) Eficiencia del hidróxido de aluminio, vitaminas liposolubles y levamisol, empleadas en una bacteria de leptospira en vaquillas, para la generación de anticuerpos específicos. Téc. Pec. Méx. Vol. 29 No. 3 (1991) p 139-143.
- 4) Banda, R.V.; Luna, A.M.; Moles, C.L y Torres, B.J (1992) Estudios retrospectivos de leptospirosis bovina. Diagnóstico serológico de 1987-1991. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria p 275. Chihuahua, Chihuahua México. Memorias.
- 5) Banda, R.V; Torres, B.J y Salomon, S.A. (1985) determinación serológica y aislamiento de leptospira en animales domésticos. Tealna de Licenciatura de la Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- 6) Bennett, R.M. (1991) A survey of dalry farmer's dicision concerning the control of leptospirosis. Veterinary-Record. vol.90 pp.387-392.
- 7) Blood, D.C.-Radostits, O.M.(1992) Enfermedades causadas por especies de leptospiiras. Medicina Veterinaria. 7a edición Ed. Interamericana México D.F.p.816-827.
- 8) Buxtón, A, and Fraser, G. (1977) Animal Microbiology vol. I Blackwell Scientific Publications.p.253-259.

- 9) Cartu, C.A. y Banda, R.V. (1991) Serodiagnóstico de leptospira en bovinos de tres municipios del sur de Tamaulipas. 18vo. Congreso de Buiatría Memorias AMVEEB. p 326-328.
- 10) Caballero, S.A y García, R.J. (1991) Leptospirosis en México, estudio seroepidemiológico realizado en humanos, bovinos y cerdos. Memorias Premio CANIFARMA México. pp 107-123.
- 11) Centro Panamericano de Zoonosis (1968) Manual sobre métodos de laboratorio para leptospirosis. Of. Sanit. Panam. Nota técnica No. 9. Buenos Aires, Argentina.
- 12) Cottral, G.E (1986) Microbiología Veterinaria Ed. La Prensa Médica Mexicana México D.F. p 430-436.
- 13) Ellis, A.W (1984) Leptospirosis. Veterinary Research Laboratories. p.683-691.
- 14) Ellis, A.W and Michina, S, W (1976) Bovine leptospirosis : Infection by the hebdomadis serogroup and abortion - A herd study. Vet. Rec. Vol. 99 p 409-412.
- 15) García, E. (1987) Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koopen; para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. 4a edición. Ed. García, México, D.F.
- 16) Gillespie, J.H, y Timoney, J.F (1983) Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos. Ed. La prensa Médica Mexicana. México. D.F p. 43-49.
- 17) González, P.M; Posadas, M.E; Olguin y B.A; Reza, G.L. (1991) Manual de clínica propedéutica bovina. 2da reimpresión. Ed. LIMUSA México D.F. p 48
- 18) Matons, A (1943) Diccionario de Agricultura Zootecnia y Veterinaria Tomo I, II y III Barcelona Buenos Aires ed. Salvat p.28,336 y 450.

- 19) Miller, D.A.; Wilson, M.A and Bera, G.W (1991) Survey to estimate prevalence of leptospira interrogans infection in mature cattle in the United States. Am. J. Vet. Res. Schaumburg, 111. American Veterinary Medical Association. vol 52 N°6 pp.1837-1841.
- 20) Negi, S, K; Myers, W, L and Segre, D (1971) Antibiodl Response of cattle to leptospira pomona: Response as measured by hemagglutination, microscopic aglutination, and hamsters protection tests. American Journal Veterinary reserch vol. 32 N°12 p.1915-1920.
- 21)Prescott, J.F; Miller, R.B; Nicholson, V.M; Martin, S.W and Leanick, T (1988) Seroprevalence and association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontario. Canadian Journal of Veterinary Research. 52:2 p. 210-215.
- 22) Rault, D (1989) Serologic diagnosis of leptospirosis: Comparison of line blotand immunofluorescence techniques with the genus specific microscopic aglutination test J. Infect. Dis. 160(4)p. 734.
- 23) John G. Holt (1984) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology vol. 1 ed. Williams & Wilkins U.S.A. pp.
- 24) Zavala, V.J; Pinzón, C.J; Flores, C.M; Damián Centeno, A.G (1984) Leptospirosis en Yucatán. Estudios Serológicos en humanos y animales. Salud Pública México. 26p.254-259.

CUADRO 1**SITUACION REPRODUCTIVA DE LAS MUJERES APARENTEMENTE SANAS SUJETAS A ESTUDIO**

VACA No.	PARTO	ABORTO	SERVICIOS	ESTADO ACTUAL	FECHA DE NACIMIENTO
20	1	0	2	INGENUNADA	DIC-90
04	1	0	2	CERRADA	AGO-92
107	1	0	3	CERRADA	AGO-92
200	1	0	2	CERRADA	JUN-91
310	2	0	1	INGENUNADA	AGO-90
496	1	0	0	ABIERTA	AGO-91
546	1	0	2	CERRADA	JUN-91
630	1	0	2	CERRADA	JUL-91
779	1	0	1	INGENUNADA	MAY-91
3742	1	0	0	ABIERTA	JUN-90

CUADRO 2 22

SITUACION REPRODUCTIVA DE LAS VACAS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS SUJETAS A ESTUDIO

VACA No.	PARTO	ABORTO	SERVICIOS	ESTADO ACTUAL	FECHA DE NACIMIENTO
7	0	2	3	VACIA	MAY-89
23	1	1	3	SUCIA	AGO-90
32	1	1	1	ABIERTA	JUN-90
34	1	1	5	ABORTADA	NOV-90
76	1	1	2	VACIA	NOV-90
91	2	1	2	ABORTADA	JUL-90
93	1	3	3	INFERTILIDAD	MAY-90
120	2	0	5	REABSORCION	FEB-91
137	1	2	2	TRATAMIENTO	OCT-91
143	3	0	4	INFERTILIDAD	ABR-90
145	1	1	5	INFERTILIDAD	DIC-90
175	2	1	3	INFERTILIDAD	MAY-90
177	1	1	3	REINSEMINADA	OCT-90
241	2	2	11	CARBADA	NOV-89
254	1	1	3	INFERTILIDAD	ABR-91
275	1	1	2	ABORTADA	NOV-90
345	3	0	2	VACIA	JUN-91
361	1	1	1	SUCIA	ABR-90
363	1	1	1	CARBADA	MAR-91
430	2	2	3	VACIA	AGO-89
464	2	1	3	SUCIA	MAR-90
460	2	1	2	SUCIA	OCT-90
481	0	3	5	ABORTADA	MAY-90
559	1	1	1	SUCIA	JUN-90
572	2	0	2	VACIA	OCT-90

CUADRO 2.1 ²³

SITUACION REPRODUCTIVA DE LAS VACAS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS SUJETAS A ESTUDIO

VACA No.	PARTO	ABORTO	SERVICIOS	ESTADO ACTUAL	FECHA DE NACIMIENTO
72	1	0	2	VACIA	DIC-91
97	1	2	2	SUCIA	JUN-90
147	2	1	3	REINSEMINADA	OCT-90
193	3	1	5	SUCIA	JUL-90
202	2	1	2	CARRADA	JUN-91
211	1	2	3	ABORTADA	AGO-90
255	2	1	2	TRATAMIENTO	MAY-91
273	2	1	3	SUCIA	MAY-90
296	1	1	1	ABORTADA	DIC-90
327	1	1	2	REINSEMINADA	DIC-90
340	1	1	2	SUCIA	OCT-91
361	1	1	3	REINSEMINADA	MAR-90
372	1	2	5	ABORTADA	JUN-90
407	2	1	2	TRATAMIENTO	JUL-91
425	2	1	3	VACIA	FEB-90
463	1	2	2	ABORTADA	MAR-92
525	1	1	2	REINSEMINADA	JUN-91
600	2	1	3	SUCIA	ABR-92
611	1	2	2	VACIA	SEP-90
646	1	1	4	CARRADA	JUN-90
651	1	1	3	REINSEMINADA	AGO-91
657	1	1	2	SUCIA	OCT-90
731	2	1	2	TRATAMIENTO	JUN-90
807	1	2	2	VACIA	ABR-91
1322	1	2	4	SUCIA	MAY-92

CUADRO 4

SEROVARIEDADES UTILIZADAS PARA LA PRUEBA DE AGLUTINACION MICROSCOPICA

SEROVARIEDAD	SEROGRUPO	CEPA DE REFERENCIA
<u>L. australis</u>	Bratislava	Bratislava
<u>L. canicola</u>	Canicola	Nond Utrecht IV
<u>L. hebdomadis</u>	Hebdomadis	Hebdomadis
<u>L. icterohaemorrhagiae</u>	Icterohaemorrhagiae	RGA
<u>L. wolffi</u>	Wolffi	3307
<u>L. pyrogenes</u>	Pyrogenes	Salinen
<u>L. penona</u>	Penona	Penona
<u>L. hardje</u>	Hardje	Hardjeprajitno
<u>L. grippityphosa</u>	Grippityphosa	Neska
<u>L. tarassovi</u>	Tarassovi	Nitis Johnson
<u>L. panama</u>	Panama	CZ 214 K

CUADRO 5

RESULTADO DE LAS VACAS APARENTEMENTE SANAS EN LA PRUEBA SEROLOGICA DE (AM)

VACA No.	ictero-hemofragias	hemodis.	bratislava.	pyrores.	grippetosa	canicola	panona	panama	usiffi	hardje	tarasm
20	-	-	-	-	-	-	-	1/30	1/30	-	-
84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
107	1/100	1/100	1/200	-	1/30	-	-	1/30	1/200	1/400	1/200
200	1/30	-	-	-	-	-	-	-	1/30	1/30	-
310	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
496	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1600	1/100	-
546	-	-	1/30	-	-	-	-	1/30	1/30	-	-
634	1/30	-	-	-	-	-	-	-	1/30	1/30	-
779	1/30	-	-	-	-	-	-	1/30	1/30	-	1/30
3742	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CUADRO 6.1 27

RESULTADOS DE LAS VACAS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS EN LA PRUEBA SEROLOGICA DE (AM)

VACA No.	istero- hemo- prágnico	hebdema- dia.	heatis- lema.	cyroge- nes.	grippe- típica	cañicosa	pmena	panama	soiffi	hardje	tarasso vi
72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	-	-	-	-	-	-	-	-	1/800	1/200	-
147	-	-	-	-	-	-	-	1/100	1/50	-	-
192	-	-	-	-	-	-	-	-	1/100	1/50	-
202	-	-	-	-	-	-	-	-	1/800	1/200	-
211	-	-	1/100	-	-	-	-	1/50	1/1600	1/100	-
253	-	-	-	-	-	1/50	-	-	-	-	-
272	-	-	-	-	-	-	-	-	1/800	1/100	-
296	-	-	-	-	-	-	-	-	1/800	1/100	-
327	-	-	-	-	-	-	-	-	1/200	1/800	-
340	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1600	1/100	-
361	-	-	-	-	-	-	-	-	1/800	1/100	-
372	-	-	-	-	-	1/50	-	-	1/800	-	-
407	-	-	-	-	-	-	-	1/50	-	-	-
423	-	-	-	-	-	-	-	-	1/400	1/100	-
463	-	-	-	-	-	-	-	-	1/400	1/50	-
523	-	-	-	-	-	-	-	-	1/800	1/100	-
600	-	-	-	-	-	-	-	1/50	1/800	1/50	-
611	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/50	-
646	1/50	-	-	-	-	-	-	1/50	1/400	-	-
631	-	-	-	-	-	-	-	1/50	1/800	1/50	-
637	-	-	-	-	-	-	-	1/50	1/400	-	-
731	-	-	-	-	-	-	-	1/50	-	-	-
807	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1352	-	-	-	-	-	1/50	-	1/50	-	-	-

CUADRO 8

OBSERVACION MICROSCOPICA DIRECTA, AISLAMIENTO Y FLUORESCENCIA DIRECTA
DE LEPTOSPIROSIS DE LAS VACAS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS Y SANAS

VACAS	No. DE NUESTRAS	OBSERVACION DIRECTA POSITIVO	AISLAMIENTO POSITIVO	FLUORESCENCIA POSITIVO
CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS	50	1	0	2
SANAS	10	0	0	0

CUADRO 9

RESULTADO DE LAS PRUEBAS DE BRUCELLA Y DE LA PRUEBA SEROLOGICA DE IBR

VACAS	No. DE MUESTRAS	PRUEBA DE TIRIETA PARA BRUCELLA		PRUEBA SEROLOGICA IBR	
		POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS	30	33	17	41	9
SANAS	10	6	4	7	3

CUADRO 10

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS
PARA EL DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS
EN LAS VACAS APARENTEMENTE SANAS

VACA No.	AM	AF	OD	BRUCELLA	IBR	MESES POST. VACUNACION		
						LEPTO	IBR	BRUCELLA
20	+	-	-	-	-	10	6	5
84	-	-	-	-	-	8	6	6
107	+	-	-	+	+	1	1	1
200	+	-	-	-	-	7	10	5
310	-	-	-	-	-	3	9	5
496	+	-	-	+	-	3	10	5
506	+	-	-	-	-	3	10	5
696	+	-	-	-	+	3	9	5
779	+	-	-	+	+	3	10	5
3752	-	-	-	+	-	3	10	5

CUADRO 11 31

RESULTADOR DE LAS PRUEBAS REALIZADAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN VACAS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

VACA No.	AM	AF	OD	BRUCELLA	IBR	MESER POST VACON ACIÓN		
						LEPTO	IBR	BRUCELLA
7	+	-	+	-	+	6	5	5
20	+	-	-	+	+	8	6	5
32	-	-	-	-	+	3	7	5
34	+	-	-	+	+	8	6	5
76	+	-	-	-	+	7	5	5
91	+	-	-	+	+	2	8	5
93	+	-	-	+	+	5	7	5
120	+	+	-	-	+	2	8	5
127	+	-	-	-	+	10	8	5
142	+	-	-	-	+	2	8	5
143	+	-	-	+	+	8	6	5
175	+	-	-	+	+	2	9	5
177	+	-	-	-	+	2	9	5
201	+	-	-	+	+	2	8	5
204	+	-	-	+	+	6	4	5
275	+	-	-	-	-	6	4	5
302	+	-	-	-	-	5	8	5
301	+	-	-	+	+	6	9	5
303	+	-	-	-	+	6	9	5
400	+	-	-	-	+	6	9	5
444	+	-	-	-	+	7	10	5
468	+	-	-	+	-	7	9	5
481	+	-	-	+	-	5	7	5
539	-	-	-	-	-	8	9	5
572	-	-	-	-	-	3	5	5

CUADRO 11.1 32

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS PARA EL
DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN VACAS CON
PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

VACA No.	AM	AF	OD	BRUCELLA	IBR	VEER POST VACONACION		
						LEPTO	IBR	BRUCELLA
72	-	-	-	+	+	3	5	5
97	+	-	-	+	+	3	6	5
147	+	-	-	+	+	3	7	5
193	+	-	-	-	+	4	6	5
202	+	-	-	+	+	3	5	5
211	+	-	-	-	+	6	8	5
235	+	-	-	+	+	5	7	5
273	+	-	-	+	+	6	8	5
296	+	-	-	+	+	7	9	5
327	+	-	-	+	+	2	8	5
346	+	-	-	+	+	4	5	5
361	+	+	-	+	+	3	4	5
372	+	-	-	+	+	5	9	5
407	+	-	-	+	+	2	8	5
425	+	-	-	+	+	3	4	5
443	+	-	-	+	+	3	5	5
525	+	-	-	+	+	5	8	5
600	+	-	-	+	+	6	9	5
611	+	-	-	+	-	4	6	5
646	+	-	-	+	-	3	7	5
651	+	-	-	+	+	3	4	5
637	+	-	-	-	+	4	9	5
731	+	-	-	+	+	5	7	5
887	+	-	-	+	-	3	9	5
1332	+	-	-	+	+	3	7	5

FIGURA
MANEJO DE LAS MUESTRAS DE ORINA PARA EL
DIAGNOSTICO INTEGRAL DE LEPTOSPIRA

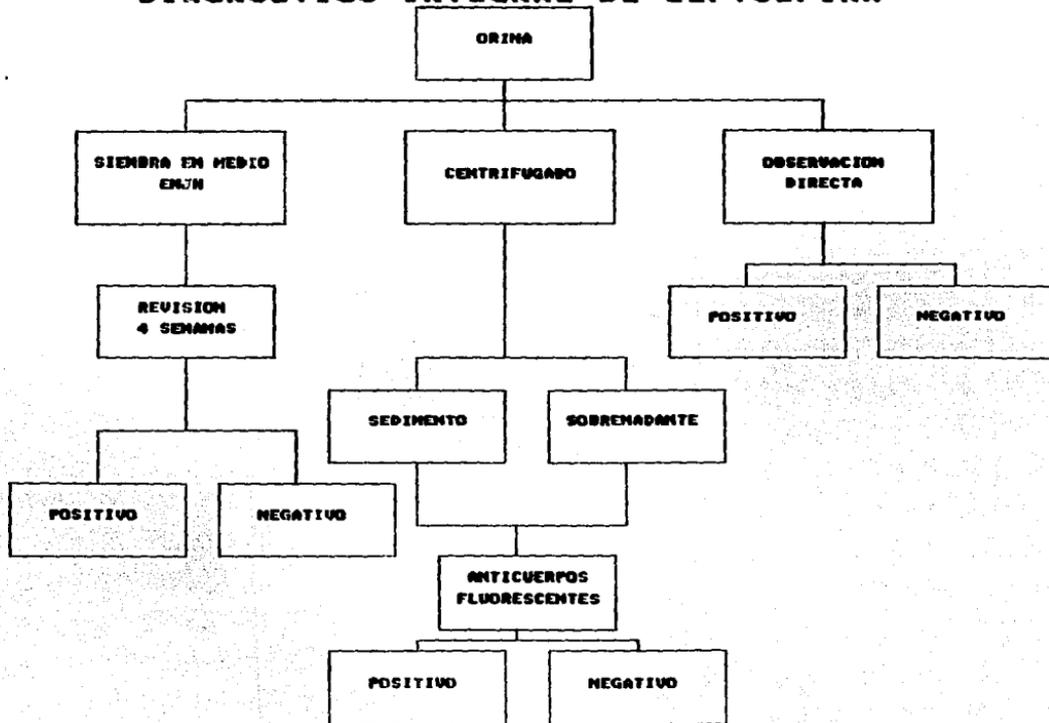


FIGURA 2
MANEJO DE LAS MUESTRAS DE SANGRE PARA EL
DIAGNOSTICO INTEGRAL DE LA LEPTOSPIROSIS

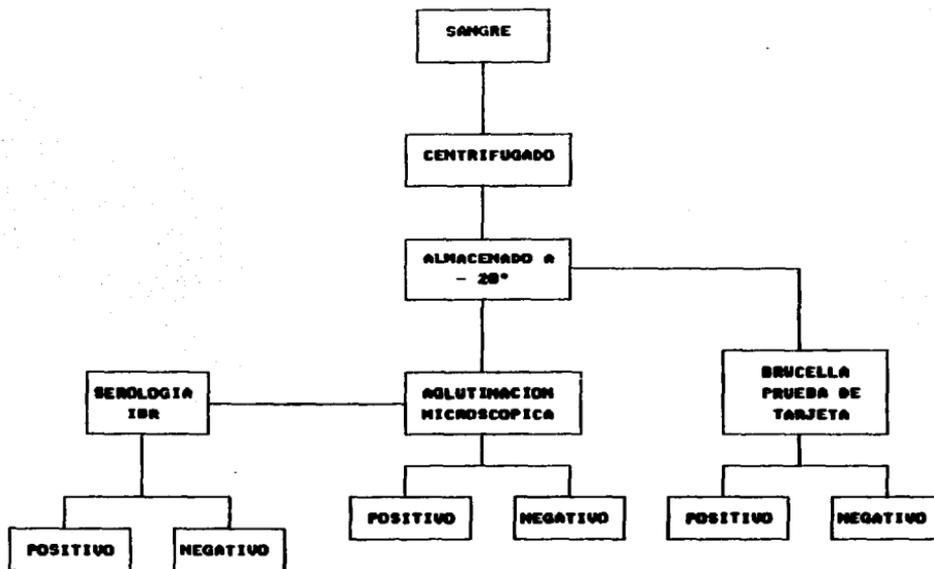
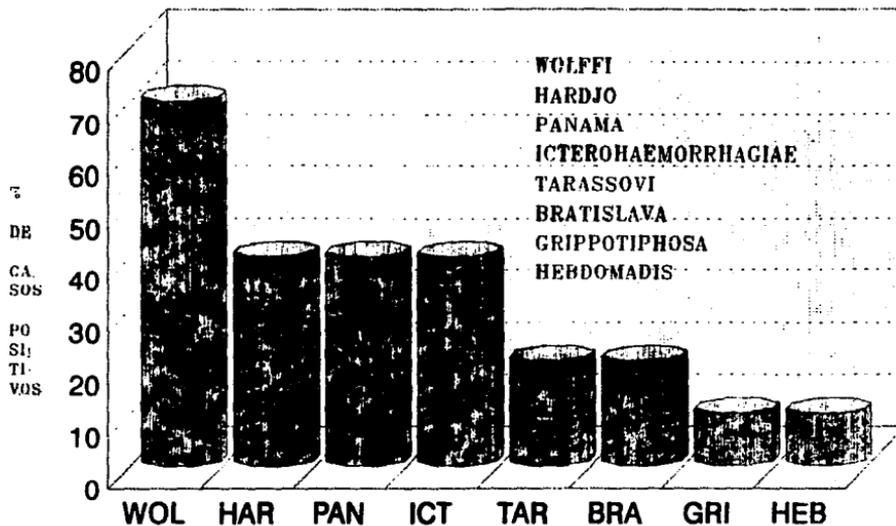


FIGURA 3

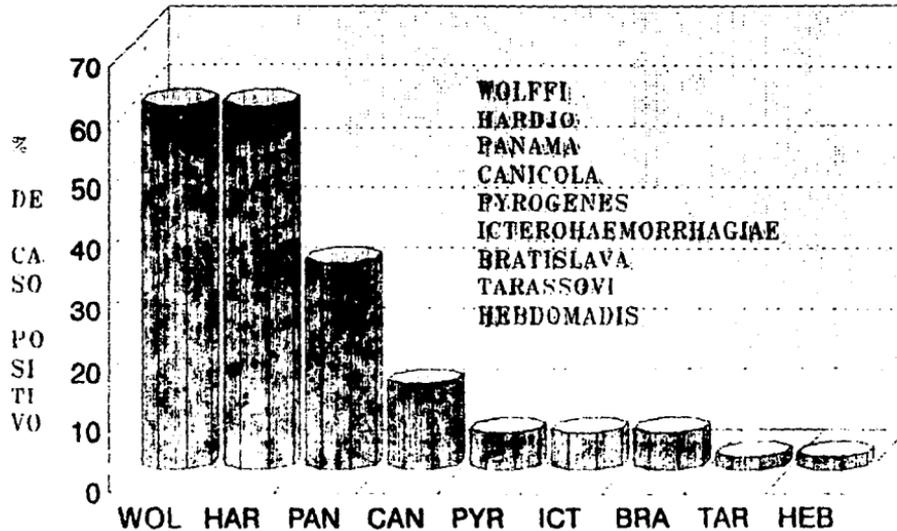
FRECUENCIA DE SEROVARIEDADES DE LA PRUEBA DE AM



VACAS APARENTEMENTE SANAS

FIGURA 4

FRECUENCIA DE SEROVARIEDADES DE LA PRUEBA DE / AM



36

VACAS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

FIGURA 5

CONCORDANCIA DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS

