

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL
DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES,
DE 1989 A 2004 EN EL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA E
INMUNOLOGÍA, FMVZ - UNAM.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

ROCÍO CHÁVEZ TREJO

Asesores:

DR. ALEJANDRO DE LA PEÑA MOCTEZUMA
DRA. GRACIELA TAPIA PÉREZ

MÉXICO, D. F.

2006



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 esta 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.

DEDICATORIAS

A mis papás, Pedro Chávez Cruz y Ángela Trejo Benítez, pero muy especialmente por TI Mami, por todo Tu amor, comprensión, apoyo y confianza. GRACIAS POR CREER EN MÍ.

A mis cuatro maravillosos hijos Armando, Angélica, Ángel y Ariana que Dios me ha enviado para motivarme, emocional, espiritual, laboral y profesionalmente. Gracias por su amor, paciencia y confianza. USTEDES SON EL MOTOR DE MI EXISTENCIA, LOS AMO.

A mí amigo, maestro, esposo y ASESOR, M. en C. Ernesto Armando Rodríguez Reyes, porque gracias a tu destacada participación, conocimientos y dirección en la toma de decisiones importantes, ha sido posible concluir con este estudio. A pesar de no haber figurado como uno de mis asesores de manera oficial, sabes que en verdad lo has sido desde el inicio. GRACIAS POR EXISTIR.

Comparto este logro con mis queridos hermanos Juanis, Esther, Peri, Lalo y Tino. Porque gracias al amor que nos une, cada uno en su camino ha logrado superar las adversidades.

R O C Í O

AMADO MAESTRO JESÚS, GRACIAS.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia porque me ha permitido formarme como MVZ con la ayuda de todos los académicos que fueron mis profesores

Al líder del Grupo de Investigación en *Leptospira* y Leptospirosis Dr. Alejandro de la Peña Moctezuma, por la oportunidad que me brindó para obtener mi título de Licenciatura. Gracias por su confianza, su tiempo, sus conocimientos compartidos y su PACIENCIA. GRACIAS Doctor.

A la Dra. Graciela Tapia Pérez por ser una excelentísima persona, por compartir su tiempo, sus conocimientos, su amistad, su confianza, gracias por ser tan positiva. GRACIAS.

Al honorable jurado de examen que me fue asignado, porque gracias a sus observaciones y sugerencias, este trabajo ha sido concluido. GRACIAS

A mi Maestro, Ernesto Armando Rodríguez Reyes, quien siempre estuvo cerca de mí en el desarrollo de este estudio y con sus consejos, sugerencias y observaciones ha sido posible llevar a término este proyecto. GRACIAS

Al Dr. José Juan Martínez Maya. GRACIAS por haber sido mi profesor, GRACIAS por sus valiosos comentarios y observaciones, GRACIAS por sus palabras de aliento, GRACIAS por motivar en mí la confianza que me ha llevado a este momento tan importante en mi vida. GRACIAS.

A la Dra. Cristina Rodríguez Sánchez Jefa de la Sección de Diagnóstico por las facilidades otorgadas para la realización de este estudio. GRACIAS

A mis suegros Emilio y Mary, por recibirme en su familia, por apoyarme incondicionalmente y hacerme sentir como en casa. GRACIAS

A Marce por tu amistad, consejos, sugerencias, por la Luz que has compartido conmigo y ha venido a iluminar mi vida desde que te conocí. GRACIAS A DIOS QUE TE PUSO EN MI CAMINO.

A todos mis cuñados por el interés mostrado durante todo el proceso de mi titulación. Especialmente, agradezco a Erika y Armando su esposo, por su apoyo y ayuda durante las etapas finales de este proceso. GRACIAS.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
PROCEDIMIENTO.....	82
ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.....	85
REFERENCIAS.....	117
CUADROS.....	168
FIGURAS.....	191

LISTADO DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AM	Aglutinación microscópica
ARNI	Artículo de revista no indexada
ATPasa	Adenosin trifosfatasa
°C	Grados centígrados
CD14	Antígeno de superficie expresado por monocitos, algunos granulocitos y macrófagos
EP	Espacio periplásmico
<i>flaB</i>	Gen codificante de flagelina
FlaB	Proteína flagelina
5-FU	5-Fluoruracilo
GLP	Glicoproteína
GroEL	Proteína citoplasmática
IgG	Inmunoglobulina del tipo G
IgM	Inmunoglobulina del tipo M
IL10	Interleucina 10
ImpL63	Proteína de la membrana citoplasmática L63
KDa	KiloDalton
KDO	ácido ceto-deoxioctanoico
LipL21	Lipoproteína de 21 kiloDaltons
LipL32	Lipoproteína de 32 kiloDaltons
LipL36	Lipoproteína de 36 kiloDaltons
LipL41	Lipoproteína de 41 kiloDaltons
LipL48	Lipoproteína de 48 kiloDaltons
LPS	Lipopolisacárido
M	Molar

MC	Membrana citoplasmática
MDCK	Células de riñón canino Madin-Darby
ME	Membrana externa
MeI-FMVZ-UNAM	Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México
μm	
mV	
OmpL1	
PCR	Micrómetro
PFP	
PG	MiliVoltios
pH	Porina de la membrana externa
PPS	Reacción en cadena de la polimerasa
<i>sphA</i>	Proteína fijadora de penicilina
SphH	Peptidoglicano
TLR2	Potencial de hidrógeno
	Práctica Profesional Supervisada
TLR4	Gen que codifica para una esfingomielinasa
TNF- α	Hemolisina formadora de poro
	Receptor celular de algunos tipos celulares del sistema inmune
	Receptor celular de algunos tipos celulares del sistema inmune
	Factor de necrosis tumoral alfa

RESUMEN

CHÁVEZ TREJO ROCÍO. Análisis de los resultados obtenidos en el diagnóstico serológico de leptospirosis en animales, de 1989 a 2004 en el Departamento de Microbiología e Inmunología, FMVZ – UNAM (bajo la dirección de: MVZ, MSc, PhD Alejandro De la Peña Moctezuma y MVZ, M en C, DC Graciela Tapia Pérez).

La combinación de los programas Access® y Excel® para la creación de bases de datos electrónicas permitió de una manera rápida y ágil analizar los resultados del diagnóstico de leptospirosis mediante la prueba de AM generados en el Mel FMVZ-UNAM de abril de 1989 a julio de 2004, de acuerdo a la especie animal, raza, sexo y edad. De 6,923 muestras recibidas, únicamente se tenía el registro de la especie animal en 6,810. Los bovinos fueron la especie más representativa con 3,556 muestras de suero (51.21%), seguidos de los caninos con 1,513 (22.21%), porcinos con 942 (13.83%), equinos con 161 (2.36%), ovinos con 75 (1.10%) y caprinos con 68 (0.99%). En el caso de las especies animales silvestres, se recibieron muestras de suero de herbívoros rumiantes 13 (21.31%), de herbívoros no rumiantes 9 (14.75%), de roedores y murciélagos 8 (13.11%), de carnívoros 27 (44.26%), de mamíferos marinos 3 (4.92%) y de un mamífero insectívoro (1.64%). La seropositividad obtenida para especies animales con una frecuencia de registros \geq a 30 fue: bovinos (55%); caninos (44%); caprinos (68%); equinos (53%); ovinos (43%) y porcinos (39%). Las tres serovariedades más frecuentes fueron: en bovinos, Hardjo, Tarassovi y Wolffi (1:100 a 1:3,200); en caninos, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes (1:100 a 1:3,200); en porcinos, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis y Canicola (1:100 a 1:1,600); en equinos, Pyrogenes, Canicola y Bratislava (1:100 a 1:3,200); en ovinos, Pomona, Ballum e Icterohaemorrhagiae (1:100 a 1:3,200); en caprinos, Pomona e Icterohaemorrhagiae (1:100 a 1:800). En felinos domésticos Canicola y Pyrogenes (1:100 a 1:200). En animales silvestres, las serovariedades más frecuentes fueron: Herbívoros rumiantes, Autumnalis, Ballum y Bataviae (1:100 a 1:200); en carnívoros, Ballum, Bataviae y Canicola (1:100 a 1:1,600); en Cobayos, Canicola, Hardjoprajitno y Sejroe (1:200).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS EN ANIMALES, DE 1989 A 2004 EN EL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA, FMVZ - UNAM.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

La leptospirosis en los animales esta bien documentada y es evidente que animales domésticos y silvestres infectados con serovariedades patógenas de *Leptospira* son la fuente más común de las infecciones en humanos, que se consideran huéspedes accidentales. Las primeras descripciones de leptospirosis en los humanos fueron hechas por el médico Adolf Weil en Heidelberg, Alemania en 1886 e incluían cuadros febriles e ictericos cursando con falla renal (síndrome de Weil).¹ Sin embargo, un síndrome aparentemente idéntico observado en trabajadores que limpiaban alcantarillas se describió varios años antes.² En 1914, Inada e Ido descubrieron al agente causal de está signología, quienes lo reportaron como una "espiroqueta" por presentar forma espiral. La leptospirosis fue al parecer reconocida como un riesgo ocupacional de los cosechadores de arroz en la China antigua.³

En Japón se le denominó akiyami (fiebre de otoño), término que se continúa utilizando en la actualidad.³

El primer aislamiento de leptospirosis patógenas en cultivo puro se logró por un grupo de investigadores japoneses dirigidos por Inada en 1914,⁴ aunque se ha documentado que la primera visualización de *Leptospira* se realizó años antes con tinciones argénticas, a partir de cortes de tejido renal de pacientes que padecían

fiebre amarilla. Los extremos de esta espiroqueta tienen forma de gancho por lo que Stimson las nombró "*Spirochoeta interrogans*" por el parecido a un signo de interrogación.^{3,5}

El papel de las ratas como una fuente de infección para el humano fue descubierto en 1917⁶ y la infección en el perro fue reconocida en 1919,⁷ sin embargo, la distinción entre la infección con la serovariedad Canicola (cuadros de afección renal) y la serovariedad Icterohaemorrhagiae (cuadros hemorrágicos e ictericia) fue descrita 14 años más tarde.⁸ La leptospirosis en el ganado bovino fue reconocida años más tarde por Alston y Broom.⁹

En 1918, Hideyo Noguchi se encontraba trabajando en el Instituto Rockefeller y fue comisionado para estudiar un brote epidémico sugerente de fiebre amarilla, trasladándose al puerto de Guayaquil, Ecuador. Descubrió en la sangre de los enfermos una espiroqueta a la que denominó "*Leptospira icteroides*". Una vez que logró cultivarla, se dedicó a la elaboración de sueros hiperinmunes y vacunas con lo cual logró controlar la enfermedad.³

Leptospirosis en México

En diciembre de 1919 se le notificó a Hideyo Noguchi, que había un brote de fiebre amarilla en Yucatán, México. Con base en sus hallazgos durante su estancia en Ecuador, decidió venir a México trayendo consigo sus sueros hiperinmunes y vacunas. Llegó a Mérida el 23 de diciembre de 1919, poniéndose a su disposición el laboratorio del Hospital O'Horán. A todos los enfermos les realizó frotis sanguíneos, pero sólo en un caso encontró el tipo de espiroqueta

para él conocida, procediendo a la inoculación de medios de cultivo, de los cuales obtuvo un aislado. Esto constituyó el primer caso de leptospirosis humana en México. Sin embargo, sus observaciones lo llevaron a concluir que este brote era de fiebre amarilla y no de leptospirosis, por lo que no aplicó sus biológicos y se limitó a dar una conferencia sobre leptospirosis y a fines de enero de 1920 se retiró del país. Posteriormente, realizaría estudios para evaluar la antigenicidad e inmunogenicidad de la cepa aislada en México.¹⁰

El primer brote epidémico de leptospirosis reconocido en México, ocurrió en la Península de Yucatán en las comunidades de Kinchil y Tetz en 1958 y a partir de este hallazgo, el interés por esta enfermedad fue incrementándose de manera paulatina, lo cual se vio reflejado en un importante número de estudios sobre leptospirosis en animales y humanos que han sido realizados a la fecha, en diferentes estados de la República Mexicana (Cuadros 2 al 8).

En México, se observan casos de leptospirosis durante todo el año, aunque existe una mayor tendencia a que se incrementen en los meses lluviosos (junio, julio, agosto y septiembre), que es cuando la morbilidad aumenta, debido a que se favorece la supervivencia de *Leptospira* en el ambiente húmedo.¹¹

La presencia de la enfermedad en los diferentes estados de la República Mexicana, se asocia con la interrelación existente entre la población humana y los animales portadores que rodean a la misma, los factores climatológicos, geográficos, el nivel de urbanización y el estatus socioeconómico y cultural entre otros. La densidad de población y su interrelación con el hábitat de animales silvestres que los rodean así como el tipo de animales que se encuentran en sus

domicilios (bovinos, porcinos, caninos, felinos domésticos y ratas), determinará la serovariedad de *Leptospira* infectante.

En México, el riesgo a inundaciones es elevado en la costa del Pacífico, Península de Yucatán y Golfo de México; sin embargo, todos los estados del país tienen riesgo de inundación, lo cual favorece las condiciones que se requieren para que se presente la leptospirosis.^a

Taxonomía y nomenclatura

El género *Leptospira* forma parte de la familia *Leptospiraceae*. Esta familia incluye también a los géneros *Turneria* y *Leptonema* y junto con las familias *Spirochaetaceae* y *Serpulinaceae* conforman el orden de los Spirochaetales.^{12, 13, 14, 15}

El género fue definido como *Leptospira* por Noguchi en 1917, la especie tipo es *Leptospira interrogans*⁵ y la serovariedad tipo Icterohaemorrhagiae, cepa Ictero No.1 (ATCC 43782). Sin embargo, la taxonomía de este género ha sido confusa y polémica. Originalmente el género incluyó sólo dos especies, *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*.¹³ Durante el período de 1915 a 1950, se logró el aislamiento de diversas cepas de *Leptospira* a partir de muestras clínicas de humanos y de una amplia variedad de especies animales. Aunque se encontró una clara diferencia con respecto a la epidemiología de la enfermedad, la mayoría de las cepas eran morfológicamente idénticas y al no haber otros marcadores fenotípicos disponibles que las diferencias antigénicas del lipopolisacárido (LPS), las reacciones de aglutinación microscópica (AM) fueron utilizadas como base para la identificación y

^a www.ccvvm.org.mx

clasificación del género. La serovariedad se convirtió entonces en el taxón básico fundamentando así la clasificación antigénica.¹³ Entonces, las serovariedades relacionadas antigénicamente se colocaron en un mismo grupo al que se denominó serogrupo (Cuadro 1).^{3,16}

Cuadro 1
Serogrupos y sus serovariedades representativas de especies patógenas de *Leptospira*

Especie	Serogrupo	Serovariedad
<i>L. alexanderi</i>	Manhao	Manhao
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum, Aroborea
<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica
<i>L. borgpetersenii</i>	Mini	Mini, Georgia
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Sejroe, Saxkoebing, Hardjo
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi
<i>L. fainei</i>	Hurstbridge	Hurstbridge
<i>L. inadai</i>	Manhao	Lincang, Lichuan
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis, Bratislava, Lora
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis, Fortbragg, Bim, Weerasinghe
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola
<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis, Jules, Kremastos
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Lai, Zimbabwe
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa, Canalzonae, Ratnapura
<i>L. noguchii</i>	Louisiana	Louisiana, Lanka
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama, Mangus
<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani
<i>L. weillii</i>	Celledoni	Celledoni
<i>L. weillii</i>	Ranarum	Ranarum
<i>L. weillii</i>	Sarmin	Sarmin

Modificado de: Faine *et al.* (1999) y Levett, (2001).

Desde un punto de vista taxonómico, el esquema serológico era claramente incorrecto y fue reemplazado por uno, en el cual, todas las leptospiras patógenas se agruparon dentro de una sola especie a la que se le denominó *L. interrogans* (complejo *interrogans*), seguido por el nombre de la serovariedad. Todas las serovariedades saprófitas se agruparon en la especie *L. biflexa* (complejo *biflexa*).^{3, 13}

Sin embargo, la más reciente aplicación de métodos moleculares basados en reacciones de hibridación de ADN, ha mejorado el estado taxonómico del género, para una inscripción completa de las más de 250 serovariedades patógenas y más de 60 apatógenas actualmente reconocidas. De esta forma, la actual clasificación genética comprende 12 especies de *Leptospira*, 9 patógenas: *L. alexanderi*, *L. borgpetersenii*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* y *L. weilii* y tres no patógenas: *L. biflexa*, *L. meyeri* y *L. wolbachii*.^{3,17,18} Un resultado relevante de la clasificación genética es que, tanto las serovariedades relacionadas antigénicamente, como los subtipos de una misma serovariedad, pueden pertenecer a diferentes especies. Por ejemplo, los subtipos serológicamente indistinguibles de la serovariedad Hardjo, Hardjobovis y Hardjoprajitno, pertenecen a dos especies genéticamente diferentes *L. borgpetersenii* y *L. interrogans* respectivamente.¹⁹

Características morfológicas y estructurales de *Leptospira*

Las espiroquetas del género *Leptospira* son microorganismos delgados, helicoidales, con uno o ambos extremos en forma de gancho, con una longitud de 6

a 20 μm y un diámetro de 0.1 a 0.2 μm . Por ser microorganismos tan delgados, el microscopio de campo oscuro, de contraste de fases o el microscopio electrónico son requeridos para visualizar su morfología.^{3, 20, 21} La organización estructural de la pared de estas espiroquetas es muy semejante al de las bacterias Gram negativas, ya que poseen una membrana citoplasmática (MC), una delgada capa de peptidoglicano (PG), un espacio periplásmico (EP) y una membrana externa (ME).^{22, 23} Poseen una movilidad característica con tres formas de movimientos bien definidos, rotatorio sobre su eje, de traslación y de contorsión.²⁴ Cada *Leptospira* posee dos endoflagelos, los cuales se insertan en el complejo de la MC-PG, quedando localizados en el espacio periplásmico, entre la capa de PG y la ME, en forma longitudinal. El número de endoflagelos (uno en cada polo), su ubicación y el hecho de que estos no atraviesan la región central del eje longitudinal, constituyen características distintivas y únicas del género *Leptospira*^{25, 26} (Figura 1).

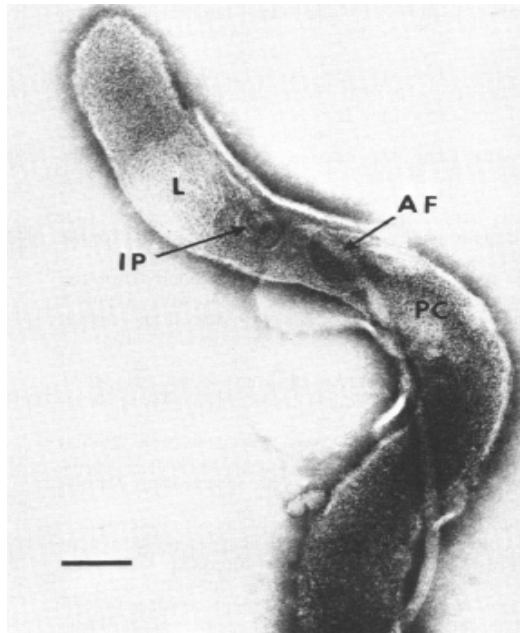


Figura 1. Microfotografía electrónica del endoflagelo de *Leptospira interrogans* cepa B16. Esta cepa fue desprovista de la membrana externa a través de una serie de lavados con una solución de fosfato 0.01M pH 7.3. Posteriormente, fueron teñidas con ácido fosfotúngstico.

AF - Filamento axial; **IP** - Punto de inserción del flagelo; **L** - Estructura laminar; **PC** - Cilindro protoplásmico. Tomada de: Nauman *et al.* (1969)

Los flagelos son similares en su estructura general al flagelo de otras bacterias Gram negativas, con un gancho en el extremo proximal y un cuerpo basal constituido por varias estructuras proteicas en forma de anillo.²¹ La región del centro se constituye de subunidades de flagelina, una proteína denominada FlaB. El gen *flaB* puede existir en múltiples copias en algunas especies.²⁷ La ubicación periplasmática del flagelo de *Leptospira*, su contribución a la movilidad característica y la adopción de la morfología helicoidal han sido un tema de controversia durante varios años.²⁸ Sin embargo, la inactivación de *flaB* en *L. biflexa* mediante ensayos de mutagénesis dirigida, demostró de manera contundente la participación del flagelo en la movilidad de *Leptospira*, no así para su morfología helicoidal²⁹ (Figura 2).

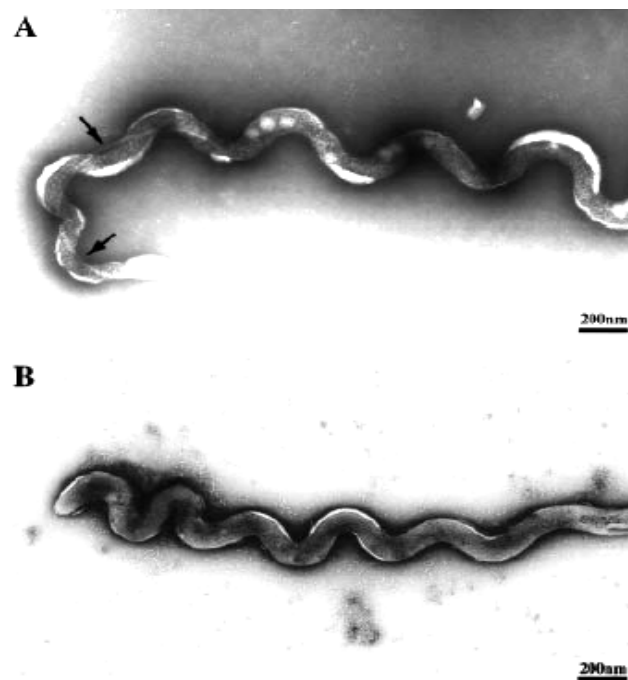


Figura 2. Comparación de la morfología helicoidal entre *L. biflexa* serovariedad Patoc y *L. biflexa* serovariedad Patoc mutada en *flaB*.
A - Microfotografía electrónica de *L. biflexa* cepa silvestre.
B - Microfotografía electrónica de la cepa mutante en *flaB*.
Tomada de: Picardeau *et al.* (2001).

La ME de *Leptospira* posee proteínas del tipo de las porinas (OmpL1), lípidos (fosfolípidos, principalmente fosfatidil etanolamina, fosfatidil glicerol, difosfatidil glicerol y lisofosfatidil etanolamina), lipoproteínas (LipL21, LipL32, LipL36, LipL41 y LipL48) y LPS. Si bien la concentración de proteínas de la membrana externa es menor a lo observado en bacterias como *E. coli*, en contraste con otras bacterias, la ME de *Leptospira* posee un número abundante de lipoproteínas, algunas de las cuales se encuentran expuestas en la superficie de esta estructura por lo que se consideran potencialmente relevantes para su patogenicidad y para la inducción de una respuesta inmune del huésped.^{30, 31, 32}

La capa de PG de *Leptospira* es similar a la de las bacterias Gram negativas típicas, pero con una asociación más íntima a la MC. Una función que se ha asignado al PG, es la inducción en macrófagos de la fagocitosis y además estimula en monocitos la producción de citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).^{33, 34} Proteínas fijadoras de penicilina (PFP) han sido detectadas en el complejo MC-PG.³⁵

El LPS es el principal componente antigénico de *Leptospira* hacia el cual se dirigen los anticuerpos aglutinantes del tipo IgM. La cadena de polisacáridos del LPS contiene ramnosa y los genes que codifican para la síntesis de este azúcar (*rmIC*, *D*, *B* y *A*) fueron caracterizados por Mitchison *et al.*³⁶ El efecto de la respuesta inmune hacia el LPS conduce a la destrucción de la cubierta externa y la pérdida de la integridad del microorganismo.³⁷

La Figura 3 muestra una representación esquemática de la pared celular de especies patógenas de *Leptospira*, mostrando la localización de los principales componentes estructurales y antigénicos (proteínas y LPS).³⁸

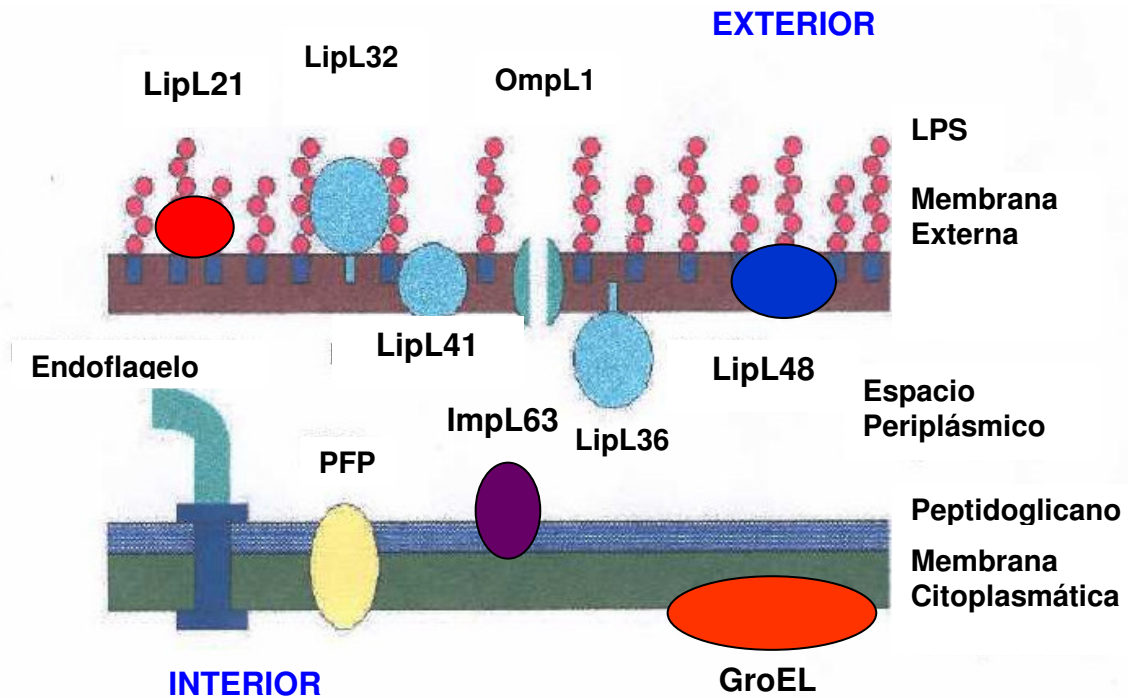


Figura 3 Representación esquemática de la pared celular de serovariedades patógenas de *Leptospira*. LipL32 – lipoproteína más abundante de la ME; LipL21 – lipoproteína, segunda en abundancia en la ME; LipL41 – lipoproteína expuesta en la superficie de la ME; LipL48 – lipoproteína ubicada en la ME; LipL36 – lipoproteína ubicada en la porción periplásmica de la ME; LPS – lipopolisacárido; PFP – proteínas fijadoras de penicilina ubicadas en el complejo MC - PG; ImpL63 proteína estructural localizada en la MC; GroEL – proteína ubicada en la porción citoplásmica de la MC.

Modificado de: Zuerner *et al.* (2000).³⁸

Nutrición y metabolismo

Los requerimientos nutricionales de *Leptospira* son simples e incluyen una mezcla de sales inorgánicas y una fuente de energía como son los ácidos grasos de 12 a 18 átomos de carbono (palmítico, esteárico y mirístico), los cuales son metabolizados mediante β -oxidación, generando un número importante de intermediarios metabólicos que producen un alto rendimiento de energía.³⁹ No

fermentan azúcares y no los pueden usar como fuentes de carbono. Mientras que *L. biflexa* requiere ácidos grasos saturados, *L. interrogans* requiere ácidos grasos insaturados.⁴⁰ Los ácidos grasos esenciales requeridos para su nutrición, en altas concentraciones se vuelven tóxicos, razón por la cual deben presentarse en combinación con un agente destoxicante que los adsorba del medio. El compuesto que se utiliza para lograr este efecto es la albúmina sérica bovina. Adicionalmente, los ácidos grasos pueden ser presentados en una forma no tóxica al combinarlos con ésteres de sorbitán de polioxietileno (Tween, los diferentes Tween, son químicos industriales los cuales también aportan ácidos grasos no esterificados), compuesto al cual se le da un número de acuerdo a sus propiedades físicas como 20, 40 y 80.⁴¹ El glicerol (200 mg/l) incrementa el desarrollo de algunas leptospiras, mientras que el piruvato ayuda al desarrollo de algunas cepas de las serovariedades Hardjo y Ballum. Los iones de amonio, obtenidos por desaminación de aminoácidos, son la única fuente reconocida de nitrógeno. La cianocobalamina (vitamina B12), tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B6) y la biotina son requeridas para el metabolismo de la bacteria. El fosfato es esencial, así como el calcio, el magnesio⁴² y el hierro.⁴³

Cultivo

Temperatura. Leptospiras, tanto patógenas como no patógenas se desarrollan *in vitro* de forma óptima a una temperatura de 28 a 30°C, sin embargo, *L. biflexa* se diferencia de *L. interrogans* porque la primera tiene la capacidad de desarrollar a temperaturas de 13°C, mientras que la

segunda se inhibe a ésta temperatura. Este comportamiento a 13°C, ha constituido una prueba de laboratorio fenotípica, para diferenciar especies de *Leptospira*.^{16, 44, 45}

Potencial de Hidrógeno (pH). *Leptospira* desarrolla favorablemente a un pH de 7.2 a 7.6 y muere en condiciones ácidas con valores de pH menores a 6.5; tolera mucho mejor la alcalinidad y desarrolla sin ningún problema a un pH de 8.4.⁴⁵

Salinidad. Muchos de los medios para el cultivo de leptospiras contienen una molaridad final de 0.05 M. Leptospiras halófilas requieren concentraciones del ión sodio de 0.22 a 0.44 M para desarrollarse y pueden tolerar concentraciones por arriba de 0.65 a 0.75 M.⁴⁵

Potencial de óxido reducción. Espiroquetas del género *Leptospira*, son bacterias aerobias a microaerófilas que no toleran condiciones de anaerobiosis. Potenciales de óxido-reducción menores de 0.250 mV a un pH de 7.2 las afectan.⁴⁵

Fuentes de nitrógeno, purinas y pirimidinas. El amonio es un nutrimento esencial para *Leptospira*. Algunas serovariedades metabolizan aminoácidos, probablemente produciendo amonio por desaminación.⁴⁶ Todas las cepas de *L. biflexa* pueden sintetizar sus propias purinas y pirimidinas. En general, todas las cepas de las genoespecies *L. borgpetersenii*, *L. santarosai* y algunas serovariedades de *L. interrogans*,

sintetizan purinas ya que únicamente éstas, son requeridas para su metabolismo (no sintetizan, ni incorporan pirimidinas disponibles en el medio). Mientras que las bacterias Gram negativas y Gram positivas comúnmente sí requieren pirimidinas. Con base en lo anterior, el 5-FU (agente mutágeno análogo de bases pirimidínicas), es utilizado en cultivos de *Leptospira*, para inhibir bacterias contaminantes.^{17, 46, 47, 48}

Factores de virulencia

Los mecanismos específicos mediante los cuales las leptospiras causan daño a los diferentes tejidos del hospedador y conducen a la aparición de manifestaciones clínicas no han sido plenamente estudiados. Ha sido demostrada la adherencia de leptospiras virulentas a células del epitelio tubular renal de ratón *in vitro* o a monoestratos de fibroblastos.^{49, 50} Sin embargo, en ningún caso se identificaron las adhesinas responsables. Se ha postulado a proteínas de unión a la fibronectina como uno de los componentes de *Leptospira* que median la unión con las células del huésped, dado que la fibronectina posee una amplia distribución en el organismo.⁵¹

Células mononucleares de sangre periférica liberaron TNF- α al ser estimuladas con una preparación de peptidoglicano de la serovariedad Copenhageni.^{34,52} Por otra parte, en la fase aguda de la enfermedad, se detectaron niveles elevados de TNF- α y esta condición se ha relacionado con la severidad del daño en humanos.^{53,54}

Ha sido propuesto que una glicoproteína (GLP) identificada en la serovariedad Copenhageni induce efectos tóxicos a través de su porción lipídica, resultando en

una perforación de la membrana citoplasmática con la salida de componentes celulares y finalmente muerte celular.²³ Se ha observado que en células epiteliales de los túbulos renales de conejo, la GLP inhibe la actividad de la ATPasa que participa en la bomba de sodio y potasio de una manera dosis-dependiente.⁵⁵ Así mismo, en un modelo experimental con cobayos infectados con leptospiras patógenas, la GLP fue detectada adherida a células endoteliales de los tejidos dañados y a la membrana de células epiteliales junto con otros antígenos, posterior a la destrucción de *Leptospira* por parte de elementos del sistema inmune.⁵⁶ La activación celular inducida por la GLP derivó en un incremento significativo de los niveles de TNF- α e IL10. Esta inducción también dio lugar a la expresión de receptores diversos en la superficie de linfocitos y macrófagos, pero este efecto únicamente se presentó con la GLP de *L. interrogans* y no se presentó cuando se utilizó a *L. biflexa*.⁵⁷ Dicha actividad se atribuyó a la presencia de largas cadenas de ácidos grasos en la molécula.⁵⁸

Se ha demostrado *in vitro* que únicamente serovariedades patógenas muestran quimiotaxis hacia hemoglobina, lo cual pudiera estar asociado con virulencia, sin embargo, se desconoce el mecanismo que regula este efecto.⁵⁹ Leptospiras virulentas pueden resistir la acción bactericida del complemento y de los neutrófilos,^{60,61} sin embargo, son rápidamente eliminadas en presencia de anticuerpos específicos.^{62, 63, 64} No hay evidencia de algún tipo de toxina secretada por *Leptospira*, en contraste, el daño endotelial que se presenta ha sido asociado con la presencia misma de *Leptospira* en tejido renal de cobayos infectados experimentalmente.⁶⁵ Se han encontrado evidencias de la capacidad de

Leptospira para invadir células Vero e inducir apoptosis en macrófagos, pero sin definir el determinante de virulencia específico. Ambas propiedades se perdieron significativamente después de un subcultivo *in vitro*.⁶⁶ A pesar de que *Leptospira* no se considera un patógeno intracelular, leptospiras virulentas fueron capaces de penetrar monoestratos de células de riñón canino Madin-Darby polarizadas (MDCK:Madin-Darby canine kidney cells), más eficientemente que leptospiras avirulentas.⁶⁷ Resulta interesante que esto se logró sin ninguna alteración del citoesqueleto.

Una proteína de unión a fibronectina con un peso molecular de 36 kDa fue identificada únicamente en una cepa virulenta de la serovariedad Icterohaemorrhagiae.⁵¹

La actividad hemolítica se ha demostrado en varias serovariedades de *Leptospira* y por consiguiente, ha resultado de interés caracterizar los genes que codifican para este tipo de proteínas (hemolisinas). Una esfingomielinasa C codificada por el gen *sphA* fue identificada en la serovariedad Hardjo, subtipo Hardjobovis.⁶⁸ Secuencias similares han sido encontradas en todas las cepas patógenas probadas y la actividad de la esfingomielinasa ha sido reportada en serovariedades como Canicola y Pomona.⁶⁸ Con base en ensayos de hibridación y experimentos de clonación, por lo menos otros siete genes similares a *sphA* han sido identificados en algunas especies patógenas de *Leptospira*. Se ha postulado que la esfingomielinasa SphH reportada en la serovariedad Lai, pertenece a la familia de hemolisinas formadoras de poro.⁶⁹

El LPS de *Leptospira* constituye el antígeno principal de superficie hacia el cual se dirige la respuesta inmune con anticuerpos de tipo aglutinante (IgM) y contribuye a

la patología de la enfermedad. Su estructura exacta no ha sido establecida, sin embargo, el análisis químico de éste reveló la presencia de hexosas comunes, aminohexosas, pentosas y azúcares como xilosa y arabinosa raramente encontradas como constituyentes del LPS en otras bacterias. Así mismo, el descubrimiento del ácido ceto-deoxioctanoico (KDO) en el LPS de las serovariedades Copenhageni y Hardjo, indica una composición similar al LPS de bacterias Gram negativas.^{23,70} Azúcares metilados y acetilados también han sido reportados.⁷¹ A pesar de la similitud estructural, bioquímica e inmunológica del LPS de *Leptospira* con el LPS de bacterias Gram negativas, éste es por lo menos 10 veces menos tóxico para animales y células que el de otras bacterias, característica también observada en el LPS de otros patógenos como *Brucella* en donde su actividad tóxica es inferior al LPS de otras bacterias como *E. coli*.^{72,73} No obstante, puede activar macrófagos y actuar como un mitógeno para células B.^{74,75} Dicha activación de macrófagos ocurre a través de los receptores CD14 y TLR2, en lugar de la vía que se sigue mediante la interacción de receptores TLR4 con el LPS de otras bacterias Gram negativas.⁷⁶ Resulta interesante considerar que el TLR2 es el receptor con el que interactúan las bacterias Gram positivas y otros componentes microbianos diferentes al LPS.⁷⁶

Descripción de la enfermedad

La leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa, de distribución mundial, causada por serovariedades patógenas del género *Leptospira*.⁷⁷ Las especies patógenas del género *Leptospira* pueden infectar a una amplia variedad de

especies animales tanto silvestres como domésticas. Las infecciones con leptospiras patógenas se han descrito prácticamente en todos los tipos de vertebrados; la leptospirosis en los humanos corresponde con la descripción de la enfermedad de Weil, enfermedad febril aguda caracterizada por ictericia, hemorragias, daño pulmonar, esplenomegalia, nefritis, mialgias, artralgias, cefalea y muerte.^{78,79} La leptospirosis puede tener una presentación aguda o crónica y cursar con una amplia variedad de signos clínicos como fiebre, infertilidad, abortos, signos asociados a insuficiencia hepática o renal, neumonía y meningitis. Los animales infectados pueden eliminar al microorganismo a través de la orina como resultado de la invasión a los túbulos contorneados del riñón, que es uno de los órganos blanco para *Leptospira*. La infección en diversas especies animales puede persistir de por vida.⁸⁰

La leptospirosis es considerada como una de las zoonosis más difundidas en el mundo, aunque por lo regular se manifiesta como una infección endémica en animales y esporádica en humanos. Se plantea la hipótesis de que, todas las especies de marsupiales, roedores y mamíferos podrían comportarse como portadores y excretores de este microorganismo.^{3,15} La forma aguda de leptospirosis en todas las especies animales se caracteriza por un cuadro clínico que incluye: apatía, pérdida del apetito, fiebre, congestión ocular, hemoglobinuria e ictericia y en ocasiones diarrea. Dependiendo de la especie animal puede también presentarse infertilidad y abortos. Los productos del aborto pueden presentar hemorragias, ictericia y contener gran número de leptospiras, constituyendo una fuente de infección para otros animales y el humano (trabajadores de las unidades de producción pecuaria). Los animales enfermos

manifiestan un arqueamiento característico de la región lumbo-sacra, asociado con la inflamación renal. Así mismo, animales enfermos que se recuperan de la forma aguda de leptospirosis, pueden convertirse en portadores asintomáticos de leptospiras patógenas, las cuales persisten en los túbulos renales de estos animales, durante semanas, años (caninos y porcinos) y en algunos casos durante toda la vida (particularmente en los roedores). Los animales pueden excretar leptospiras intermitentemente o regularmente. Por ejemplo, las tasas de excreción en bovinos varían de un animal a otro pero pueden alcanzar cuentas de 10^8 leptospiras/ml de orina, constituyéndo una importante fuente de contaminación e infección dentro de la unidad de producción.^{19,78,81,82} Las infecciones con dosis bajas de leptospiras concuerdan con una presentación asintomática, la cual es frecuente en muchas especies animales. Dentro del organismo, leptospiras patógenas puede persistir en otros sitios privilegiados, como el tracto genital, cerebro y cámara anterior del ojo. Este estado de persistencia crónica de leptospiras en los animales constituye el punto central en el proceso de infección, ya que ésta es la forma en la que se perpetúa la infección a nuevos huéspedes susceptibles.^{3,83,84} La signología puede ser altamente variable y con una intensidad que dependerá del estado inmunológico del huésped al momento de la infección. En todo caso, la enfermedad en los animales representa un riesgo para la salud pública.^{3,85}

Muchos animales silvestres actúan como reservorios de *Leptospira* y las formas clínicas de leptospirosis en estos animales son raramente observadas. Cuando se presenta, la forma clínica más común de leptospirosis en los mamíferos silvestres es el aborto. Brotes de aborto han sido reportados en leones marinos⁸⁶ y títulos de

anticuerpos también han sido detectados en animales sanos en diferentes partes del mundo.^{87,88} Algunos casos, aislados de leptospirosis en rinocerontes en cautiverio han sido también identificados.⁸⁹

Fuentes de infección y de contaminación

Leptospira es indiscutiblemente uno de los géneros bacterianos más ampliamente distribuido en el mundo, tanto por área geográfica como por especie animal. Indudablemente, el aspecto más importante en la epidemiología y epizootiología de la leptospirosis es el estado de portador renal asintomático, que se presenta en las diferentes especies animales. Esta condición que conlleva a la eliminación de la bacteria en la orina, representa por un lado, una fuente de infección directa para diferentes especies animales y al humano, así como la principal fuente de contaminación de otras diferentes fuentes de infección indirectas como el agua, forraje y vegetación que son de acceso al humano y a diferentes especies animales.^{3,90} Las infecciones en especies animales con serovariedades no específicas para éstas, dan lugar a cuadros de leptospirosis aguda, por ejemplo bovinos infectados con la serovariedad Pomona o los humanos infectados con cualquier serovariedad. Sin embargo, esta condición no es absoluta y bajo ciertas circunstancias la mayoría de las serovariedades pueden infectar a las diferentes especies animales. Especies animales portadoras de leptospiras patógenas por largos periodos (normalmente asintomáticas), forman lo que se consideran huéspedes de mantenimiento para algunas serovariedades específicas por ejemplo, roedores para la serovariedad Icterohaemorrhagiae, bovinos para la

serovariedad Hardjo y caninos para la serovariedad Canicola.^{3,91} En realidad, casi todas las infecciones en humanos son directamente o indirectamente adquiridas por contacto con roedores o con animales domésticos (bovinos, porcinos y caninos).¹⁶

Resistencia y medio ambiente

En estudios realizados con roedores, se ha visto que la rata negra y el ratón común son los huéspedes de mantenimiento (reservorios naturales) para el serogrupo Ballum de *L. interrogans*, mientras que la rata noruega se comporta como huésped de mantenimiento para el serogrupo Icterohaemorrhagiae, mismo serogrupo que es comúnmente detectado en el hombre. Los reservorios eliminan leptospiras patógenas a través de la orina. Una vez excretadas en la orina, las leptospiras pueden sobrevivir por días o semanas si las condiciones en el ambiente son favorables. Tales condiciones incluyen humedad, suelo moderadamente alcalino y temperatura alrededor de 25 °C.^{3,92,93} En las aguas de las cañerías, leptospiras patógenas permanecen con vida hasta por 30 días y en aguas estancadas y áreas húmedas desde una hasta varias semanas. *Leptospira* es sensible a la presencia de diferentes factores físicos como la desecación y la luz. Estando expuestas a temperaturas de 56 °C por más de 30 minutos y a 60 °C pasando cinco minutos las leptospiras mueren pero, sobreviven a temperaturas de hasta -30 °C y soportan la congelación hasta por 45 días.³ Algunas sustancias químicas destruyen rápidamente a las leptospiras, por ejemplo: Fenol al 5%, formol desde 0.5%, ácido clorhídrico al 2%, sosa cáustica al

2%, solución de ácido sulfúrico al 0.05%, emulsión de creolina al 5%. El jugo gástrico y la bilis actúan como leptospiricidas, también resultan ser sensibles a la solución hipertónica de sal común al 2.8%. En contacto con la saliva sobreviven de dos a doce horas y en el jugo pancreático e intestinal sólo dos horas.⁹⁴ La sobrevivencia de leptospiras patógenas en diferentes nichos acuáticos ha constituido una fuente de infección indirecta para cosechadores de arroz,⁹⁵ trabajadores del cultivo de plátano⁹⁶ y atletas de deportes acuáticos y extremos.^{97,98} Brotes de leptospirosis en humanos y animales están comúnmente relacionados con la presentación de inundaciones.^{99,100,101}

Patogenia de la leptospirosis

Leptospiras patógenas penetran usualmente a través de abrasiones en la piel o de las superficies mucosas del huésped. De esta forma, las leptospiras alcanzan rápidamente el torrente sanguíneo en donde, en caso de no existir anticuerpos específicos se replican en sangre, la leptospiremia puede durar aproximadamente 10 días, después del inicio de la infección. La movilidad de estas espiroquetas probablemente facilita su diseminación hacia diferentes tejidos (sitios privilegiados). Como resultado de la infección se produce una vasculitis de pequeños vasos sanguíneos, lo cual da origen a hemorragias severas, que representan una de las lesiones comunes en la leptospirosis.¹⁰² Las lesiones en los tejidos renal, hepático y pulmonar son caracterizadas por la presencia de daño celular mayor con la presencia de leptospiras, lo cual sugiere la participación de componentes tóxicos ya sea de *Leptospira* o del huésped.¹⁰²

Las lesiones microscópicas y las manifestaciones clínicas aparecen tres a diez días después de la infección experimental de cuyes o hámsteres. Nefritis crónica y uremia son secuelas de la infección en algunas especies animales.^{78,103}

Leptospirosis en animales domésticos

Leptospirosis bovina

La leptospirosis bovina se presenta mundialmente, siendo más frecuente la infección con las serovariedades Hardjo (subtipos Hardjobovis y Hardjoprajitno) que cursa con cuadros subclínicos. En caso de que se presenten signos clínicos, los más frecuentes son infertilidad y falla reproductiva. La infección con las serovariedades Pomona, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae ocasiona aborto, infertilidad, ictericia, hemoglobinuria, congestión pulmonar, ocasionalmente meningitis, agalactia y nacimientos prematuros. Otras serovariedades detectadas serológicamente en esta especie aunque con una menor frecuencia, incluyen a Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Hebdomadis, Kremastos, Tarassovi, Autumnalis, Australis, Sejroe, Canicola, Bataviae, Zanoni, Saxkoebing y Pyrogenes.^{104,105,106,107,108,109}

La severidad de la enfermedad depende de la edad, estado de inmunidad del animal al momento de la infección, la virulencia de la serovariedad y la dosis infectante.³

En hembras en plena etapa de producción láctea, se observa agalactia con presencia de pequeñas cantidades de sangre en la leche con una recuperación prolongada. Así mismo, el síndrome clínico más comúnmente asociado con leptospirosis aguda ocurre en bovinos productores de leche y se caracteriza por

un estado de fiebre transitoria con un descenso repentino en la producción de leche (síndrome del descenso de la leche) que dura de dos a tres días.^{110,111} En estos casos, la leche adquiere una coloración amarillenta, tiene consistencia de calostro, presenta pequeños coágulos y tiene un alto contenido de células somáticas, éstas condiciones pueden ser diferenciadas de otras formas de mastitis de origen infeccioso, por que en este caso la glándula mamaria completa adquiere una consistencia demasiado blanda (ubre pulposa). Esta condición ocurre más comúnmente en infecciones con la serovariedad Hardjo subtipo Hardjoprajitno, aunque se han reportado casos causados por el subtipo Hardjobovis y otras serovariedades.^{112,113} La forma crónica de leptospirosis bovina está asociada a las serovariedades Hardjo y Pomona. Se ha reportado infección fetal en hembras gestantes lo cual ocasiona abortos, mortinatos, nacimientos de becerros prematuros y débiles.^{19,78,81,114,115,116,117,118,119,120,121} La retención de membranas fetales posterior al aborto ocasionada por la serovariedad Hardjo ha sido reportada, becerros infectados congénitamente pueden presentar degeneración de hígado, riñón o ambos, lo cual los predispone a infecciones secundarias de desenlace fatal. Animales que sobreviven se convierten en portadores crónicos.^{15,91} El subtipo Hardjoprajitno parece ser más virulento que Hardjobovis, aunque infecciones con el subtipo Hardjobovis asociadas a fallas reproductivas han sido reportadas en varias partes del mundo.

Lesiones en bovinos

Las lesiones más constantes a la necropsia son necrosis de las células de la corteza del hígado, acumulación de bilis e infiltración de linfocitos y los conductos biliares quedan bloqueados. En riñones puede haber petequias y hemorragias equimóticas, especialmente en el glomérulo en la zona correspondiente a los túbulos renales proximales. En casos crónicos los riñones desarrollan cicatrices superficiales. Microscópicamente hay atrofia glomerular, infiltración de células plasmáticas en el intersticio, con presencia de linfocitos y fibroblastos que ocasionan una atrofia tubular. La extensión y severidad de las lesiones depende de la serovariedad y la edad del animal.^{122,123} Las lesiones en el pulmón son inaparentes en casos de infección natural. Después del aborto o mortinatos la placenta está edematosa y hay necrosis en algunos cotiledones. Hay disminución de la producción láctea y una decoloración de la leche atribuida a la infección por la serovariedad Hardjo.^{114,122,123,124,125,126}

Reportes serológicos de leptospirosis bovina en México

Diferentes trabajos realizados en bovinos de México han evidenciado la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* mediante la prueba de AM. Las serovariedades más frecuentes, considerando estos estudios incluyen a Hardjo, Wolffi, Pomona, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa y Sejroe (Cuadro 2).

CUADRO 2
ALGUNOS ESTUDIOS EN LOS QUE SE EMPLEO LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA, EN BOVINOS DE MEXICO

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIETADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
1	Zaiz Z.J. ¹²⁷	1962	Estado de México	Pomona, Icterohaemorrhagiae y Canicola	630	31.40
2	Dickken Hans. ¹²⁸	1967	Diferentes regiones de México	Tarassovi, Wolffi Hardjo y Medanensis	485	20.00
3	Rodríguez y HG. ¹²⁹	1969	Distrito Federal y Estado de México	Javanica, Medanensis, Pomona, Hardjo, Hebdomadis y Tarassovi	160	20.00
4	González DO. ¹³⁰	1972	Diferentes regiones de México	Wolffi, Pomona, Sejroe, Hardjo, Ballum y Hebdomadis	2,293	22.15
5	Melgarejo VLG. ¹³¹	1974	Veracruz y Oaxaca	Canicola, Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa	170	71.10
6	León LL. ¹³²	1976	Diferentes regiones de México	Wolffi, Pomona, Sejroe, Tarassovi, Hebdomadis, Ballum y Hardjo	1,452	20.70
7	Bobadilla ZJL. ¹³³	1978	Sinaloa	Wolffi, Tarassovi, Pomona, Ballum, Hebdomadis y Bataviae	135	27.00
8	Álvarez VY. ¹³⁴	1985	Distrito Federal, Estado de México, Michoacán	Hardjo, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi y Grippotyphosa	100	10.00
9	Dorantes LA. ¹³⁵	1986	Tizayuca, Hidalgo	Hardjo, Pomona, Hebdomadis, Wolffi y Sejroe	2,225	47.11
10	Vázquez CHJC. ¹³⁶	1986	Guerrero	Hardjo, Pomona, Australis y Canicola	312	45.19

Continuación del cuadro 2

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
					1400	
11	Sánchez BH. ¹³⁷	1987	Querétaro	Pomona, Hardjo, Sejroe,	297	14.43
			Edo. México	Australis, Canicola,	205	12.29
			Guerrero	Hebdomadis,	329	10.43
			Veracruz	Icterohaemorrhagiae,	163	6.86
			Guanajuato	Tarassovi, Wolffi,	76	4.79
			Hidalgo	Pyrogenes, Grippotyphosa,	92	4.29
			Jalisco	Autumnalis, Shermani,	99	3.86
			D.F.	Bratislava, Bataviae y	37	2.21
			Sonora	Ballum	66	1.93
			Durango		26	1.07
			Morelos		4	0.14
			Nuevo León		3	0.14
			Tlaxcala		1	0.07
			Puebla		2	0.00
12	Mendoza LA. ¹³⁸	1987	Cuautitlan estado de México	Pomona, Hardjo, Australis, Bataviae y Sejroe	100	42.00
13	González OF. ¹³⁹	1990	Chiapas	Cintalapa: Wolffi, Hardjo, Pyrogenes, Australis, Hebdomadis y Pomona	30	46.67
				Pichicalco: Hardjo, Wolffi, Worsfoldi, Ballum, Pomona, Szwajizak y Bataviae	69	44.93
14	Arteaga TG. ¹⁴⁰	1991	Tizayuca Hidalgo	Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, Tarassovi, Wolffi, Hebdomadis y Pyrogenes	5,186	41.70
15	Banda RV <i>et al.</i> ¹⁴¹	1992	19 estados de la Rep. Mexicana	Wolffi, Hardjo y Tarassovi	3,293	47.40
16	Fernández LJJ. ¹⁴²	1993	Atlixco, Puebla	Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Pomona, Canicola y Celledoni	116	84.48
17	Rojas SN <i>et al.</i> ¹⁴³	1994	Diferentes regiones de México	Wolffi, Tarassovi, Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes	4,413	34.00

Continuación del cuadro 2

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
18	Torres AF. ¹⁴⁴	1995	Ixtapaluca, Edo. De México	Wolffi y Hardjo	60	86.00
19	Orduña G <i>et al.</i> ¹⁴⁵	1996	San Mateo Atenco Estado de México	Bratislava, Panama, Hardjo (cepa H-89), Tarassovi, Pomona y Hardjo	138	54.00
20	De la Peña MA <i>et al.</i> ¹⁴⁶	1997	Martínez de la Torre Veracruz	Wolffi, Tarassovi, Autumnalis y Hardjo	58	50.00
21	Hernández GE <i>et al.</i> ¹⁴⁷	1997	Diferentes regiones de México	Icterohaemorrhagiae, Bataviae, Ballum, Hardjo, Sejroe, Pyrogenes, Cynopteri y Wolffi	523	47.60
22	Solís LC <i>et al.</i> ¹⁴⁸	1997	Tabasco	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi y Panama	300	84.60
23	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁴⁹	1997	Guanajuato Jalisco Aguascalientes Tamaulipas y Durango	Hardjo, Wolffi y Panama	1,968	59.80
24	Esparza VJC. ¹⁵⁰	1998	Xochimilco, D.F.	Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Hebdomadis, Pyrogenes, Pomona, Tarassovi, Canicola, Bratislava y Grippotyphosa	83	26.50
25	García MAR <i>et al.</i> , ¹⁵¹	1998	Veracruz	Wolffi, Tarassovi y Hardjo	309	38.18
26	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁵²	1999	Zona central de México	Hardjo, Pomona Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae	448	79.20
27	Pérez LM <i>et al.</i> ¹⁵³	1999	Tizayuca, Hidalgo	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Portland-Vere (cepa ACR) y Pyrogenes	179	71.88

Continuación del cuadro 2

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
28	Torres BJI <i>et al.</i> ¹⁵⁴	1999a	Querétaro	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi, Icterohaemorrhagiae y Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR)	498	31.50
29	Córdova LD <i>et al.</i> ¹⁵⁵	2000a	Istmo de Tehuantepec	Wolffi, Hardjo y Tarassovi	201	54.23
30	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁵⁶	2000a	Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Jalisco y Tamaulipas	Hardjo, Wolffi, Tarassovi, Panama, Icterohaemorrhagiae y Pomona	1,968	59.80
31	Moles CLP y Torres BJI. ¹⁵⁷	2000b	Sonora	Hardjo (cepa H-89), Wolffi, Hardjo, Tarassovi e Icterohaemorrhagiae	S/D	47.20
32	Córdova LD <i>et al.</i> ¹⁵⁸	2000b	Guanajuato	Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Icterohaemorrhagiae (cepa RGA), Bratislava, Pyrogenes, Grippotyphosa, Canicola, Pomona, Portland Vere (cepa Sinaloa), Panama, Hardjo (cepa UAM-X), Wolffi y Tarassovi	300	10.37 a 22.00
33	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁵⁹	2000c	Sonora	Hardjo (cepa H-89), Wolffi, Hardjo, Tarassovi e Icterohaemorrhagiae y Canicola	190	7 Ranchos (66 a 100) 5 Ranchos (33 a 65) 5 Ranchos (0 a 32)
34	Romero RP <i>et al.</i> ¹⁶⁰	2000	Chiapas	Hardjo (cepa H-89), Wolffi, Tarassovi, Hardjo, Grippotyphosa Icterohaemorrhagiae y Pomona	294	29.30

Continuación del cuadro 2

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
35	Torres BJI <i>et al.</i> ¹⁶¹	2000	Chiapas	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi y Pomona	428	35.00
36	Córdova LD <i>et al.</i> ¹⁶²	2001	Guanajuato	Hardjo (cepa H-89), Icterohaemorrhagiae, Tarassovi e Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto)	923	16.00
37	Torres BJI <i>et al.</i> ¹⁶³	2001	Chiapas	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi y Tarassovi	3,454	31.70
38	Gutiérrez CHAJ. ¹⁶⁴	2001	Tehuixtla, Morelos	Wolffi, Hardjo, Hardjo (cepa H-89), Canicola, Tarassovi y Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR)	154	42.00
39	Córdova IA <i>et al.</i> ¹⁶⁵	2002	Campeche	Hardjo, (cepa H-89), Wolffi y Hardjo	203	75.50
40	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁶⁶	2002a	Sonora	Hardjo, (cepa H-89), Wolffi y Hardjo	317	30.50
41	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁶⁷	2002b	Sonora	Hardjo, (cepa H-89), Hardjo, Wolffi, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto) y Tarassovi	145	59.30
42	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁶⁸	2003a	Campeche, Chiapas y Tabasco	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae RGA, Grippytyphosa, Pyrogenes y Pomona	S/D	36 al 100
43	Robles GJJ. ¹⁶⁹	2003	Diferentes regiones de México	Hardjo	21,922	29.40 (Con un rango de 4.6 a 57)

Continuación del cuadro 2

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIETADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
44	Luna AMA <i>et al.</i> ¹⁷⁰	2003	Estado de México	Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Canicola y Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR). Icterohaemorrhagiae RGA, Pomona, Canicola y Pyrogenes	71	12.67
45	Carmona GCA <i>et al.</i> ¹⁷¹	2003	Estado de México	Hardjo, Wolffi, Pomona, Tarassovi, Pyrogenes, Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola y Shermani	117	29.05
46	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁷²	2003b	Tabasco	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi, Tarassovi, Bratislava, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Canicola y Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR)	105	76.10
47	Escamilla HP. ¹⁷³	2004	Querétaro	Hardjo	99	90.90
48	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁷⁴	2004	Tizayuca, Hidalgo	Grippotyphosa, Hardjo (cepa H-89), Wolffi, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Canicola y Pyrogenes	83	15.60
49	Luna AMA <i>et al.</i> ¹⁷⁵	2004	Región Árida y Semiárida	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi y Tarassovi	448/1,202	37.80 (22.1 al 54.3%)
			Región Trópico Seco	Wolffi, Hardjo y Tarassovi	839/1,828	45.90 (27 al 72%)
			Región Trópico Húmedo	Hardjo (cepa H-89), Hardjo, Wolffi y Tarassovi	10,796/ 16,926	63.80 (31.7 al 84.6%)

Continuación del cuadro 2

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIETADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
			Región Templada	Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Portland-Vere (cepa Sinaloa), Bratislava, Pyrogenes, Pomona, Cepa H-89 (Hardjo), Hardjo, Wolffi y Tarassovi	6,031/ 15,313	39.40 (22.10 al 54.30%)
50	Córdova IA <i>et al.</i> ¹⁷⁶	2005	Campeche	Hardjo (cepa H-89), Wolffi y Hardjo	203	75.50
51	Carmona GCA <i>et al.</i> ¹⁷⁷	2005	Estado de México	Hardjo, Canicola, Grippotyphosa, Pomona, Pyrogenes e Icterohaemorrhagiae	289	78.80
52	Torres BJI <i>et al.</i> ¹⁷⁸	2005	17 estados de México	Hardjo y Wolffi	2,228	41.50
53	Melgarejo GE <i>et al.</i> ¹⁷⁹	2005	Tizayuca, Hidalgo	Tarassovi, Hardjo (cepa H-89), Wolffi, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Bratislava, Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Pyrogenes, Hebdomadis, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto)	251	63.20

S/D – sin dato

Leptospirosis porcina

La leptospirosis porcina es causa de falla reproductiva y ha sido reportada en unidades de producción de todas partes del mundo. El cerdo actúa como hospedero de mantenimiento de las serovariedades de los serogrupos Pomona, Australis y Tarassovi de *Leptospira interrogans*. Así mismo, se le ha identificado como hospedero accidental de los serogrupos Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa y Sejroe. Es una enfermedad que suele pasar clínicamente inadvertida, pero son pocas las serovariedades que pueden ser endémicas en algunos países o regiones en particular. Sin embargo, al introducirse por primera vez en una piara de reproductores susceptibles a *Leptospira* ocasionan una considerable disminución en la producción de carne, debido a que provoca abortos, momificaciones, nacimiento de camadas débiles e infertilidad.^{3,180} Abortos y mortinatos son los signos más comunes como resultado de la infección.^{181,182,183,184}

Lesiones en porcinos

En la infección aguda, los animales adultos presentan hemorragias en riñón, como resultado de una nefritis, daño tubular y glomerular con degeneración. Usualmente se ven afectados los cerdos adultos que están confinados, los cuales presentan lesiones crónicas en riñón y órganos reproductivos. Es común la muerte fetal, mortinatos y fetos macerados. Algunos tejidos y órganos están edematosos con grados variables de ictericia y hemorrágicos. Los órganos más lesionados (hígado y riñón), presentan necrosis focal, centrolobulillar y nefritis intersticial respectivamente. Se ha reportado meningoencefalitis en la infección experimental de lechones.^{115,122,185,186}

Reportes serológicos de leptospirosis Porcina en México

Los resultados reportados por diferentes autores en México, referentes a la presencia de anticuerpos contra diferentes serovariedades de *Leptospira*, son de utilidad para conocer el perfil serológico relacionado a la leptospirosis porcina, lo cual puede orientar al establecimiento de programas de control para esta enfermedad en las diferentes granjas de producción porcina en el país (Cuadro 3).

CUADRO 3
ALGUNOS ESTUDIOS EN LOS QUE SE EMPLEO LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA, EN PORCINOS DE MÉXICO

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
1	Delgado A. ¹⁸⁷	1959	Guerrero	* <i>L. interrogans</i> (aglutinación en placa)	70	10.00
2	Varela G y Zavala J. ¹⁸⁸	1961	Diferentes estados de México	* <i>L. interrogans</i> (aglutinación en placa)	S/D	28.78
3	Huerta FA. ¹⁸⁹	1965	Distrito Federal	* Pomona (aglutinación en tubo capilar)	100	63.00
4	Amescua HJA. ¹⁹⁰	1968	Guadalajara y Michoacán	* <i>L. interrogans</i> (aglutinación en placa)		
				Guadalajara, Jalisco	146	51.00
				Yurécuaro, Michoacán	125	26.00
				La Piedad Michoacán	249	24.90
5	González GD, Ortega LM. ¹⁹¹	1973	Diferentes estados de México	Bratislava, Icterohaemorrhagiae	1968-184	14.00
				Bratislava, Ballum y Sejroe	1969-303	33.00
				Bratislava, Ballum, Bataviae y Pomona	1970-95	17.00
6	Landeros CM. ¹⁹²	1974	Estado de México, Guanajuato, Jalisco, Michoacán y D.F.	* <i>L. interrogans</i> (aglutinación en placa)	S/D	25.60
7	Velásquez LR. ¹⁹³	1975	Culiacán, Sinaloa	* <i>L. interrogans</i> (aglutinación en placa)	110	53.60

Continuación del cuadro 3

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
8	Cervantes MA. ¹⁹⁴	1982	Distrito Federal, Puebla, Guanajuato y Querétaro	Shermani, Panama, Autumnalis, Orleans, Zanoni, Louisiana y Arborea	309	65.04
9	Jiménez GEA. ¹⁹⁵	1983	14 estados de México	Pomona, Shermani, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Pyrogenes y Wolffi	2,481	63.4
10	Rodríguez GL <i>et al.</i> ¹⁹⁶	1989	Distrito Federal	Pyrogenes, Shermani, Autumnalis, Australis, Canicola y Grippotyphosa	27	48.00
			Guanajuato	Wolffi, Canicola, Hardjo y Pomona	23	26.08
			Jalisco	Australis, Grippotyphosa y Pyrogenes	20	30.00
			Estado de México	Shermani, Australis, Hardjo, Pyrogenes y Wolffi	38	28.94
			Querétaro	Shermani	8	12.50
			Puebla:	Shermani, Australis, Grippotyphosa y Pomona	24	50.00
11	Ramírez NR <i>et al.</i> ¹⁹⁷	1991	Sinaloa	Canicola, Pomona, Pyrogenes e Icterohaemorrhagiae	1000	50.00 al 97.00
12	Rodríguez GL <i>et al.</i> ¹⁹⁸	1993	Distrito Federal	Pyrogenes, Shermani, Autumnalis, Australis, Grippotyphosa y Wolffi	191	21.00
			Estado de México	Shermani, Australis, Pyrogenes, Hardjo y Wolffi	-	17.00
			Puebla	Shermani, Grippotyphosa, Pomona, Pyrogenes e Icterohaemorrhagiae	-	20.00

Continuación del cuadro 3

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
			Guanajuato	Wolffi, Canicola, Hardjo y Shermani	-	19.20
			Jalisco	Shermani, Grippotyphosa y Pomona	-	25.00
			Querétaro	Shermani	-	18.00
13	Moles CLP <i>et al.</i> ¹⁹⁹	1994a	Diferentes regiones del país	Bratislava, Panama, Icterohaemorrhagiae y Canicola	2,097	35.00
14	Moles CLP <i>et al.</i> ²⁰⁰	1994b	Guanajuato	Cerdos de traspatio: Panama, Bratislava y Grippotyphosa	50	2.00 – 34.00
				Cerdos de granjas tecnificadas: Bratislava, Panama, Icterohaemorrhagiae, Wolffi, Hardjo, Pyrogenes y Hebdomadis	114	0.90 – 29.00
15	Cisneros PMA, Moles CLP. ²⁰¹	1996	Michoacán	Bratislava, Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Grippotyphosa, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Panama y Hadjo (cepa H-89)	116	58.82
16	Cisneros PMA <i>et al.</i> ²⁰²	1999a	Michoacán y Guanajuato	Guanajuato: Bratislava, Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Grippotyphosa y Tarassovi	161	29.40 al 71.10
				Michoacán: Bratislava, Panama, Grippotyphosa, Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR) e Icterohaemorrhagiae	117	12.00 al 53.30

Continuación del cuadro 3

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
17	Cisneros <i>et al.</i> ²⁰³	PMA 1999b	La Piedad, Michoacán	Bratislava, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Portland Vere (cepa Sinaloa ACR), Grippytyphosa, Tarassovi y Hardjo H89 (cepa UAM-X CIE)	430	57.90
18	Cadena LJJ <i>et al.</i> ²⁰⁴	1999	S/D	Panama, Portland Vere (cepa Sinaloa ACR), Hebdomadis, Hardjo (cepa H89), Shermani y Tarassovi	104	11.54
19	Ramos VML <i>et al.</i> ²⁰⁵	1999	Michoacán	Bratislava, Panama, Tarassovi, Portland Vere (cepa Sinaloa ACR) e Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto)	200	27.00
20	Moles CLP <i>et al.</i> ²⁰⁶	2000	Estado de México	Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto) y Portland Vere (cepa Sinaloa ACR)	205	11.20
21	Morales AM <i>et al.</i> ²⁰⁷	2000a	La Piedad, Michoacán	Bratislava, Shermani y Tarassovi	101	Total: 41.60
					57	Engord a: 15.70
					44	Reprod uctores: 75.00
				Icterohaemorrhagiae, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Hardjo, Grippytyphosa, Bratislava, Shermani, Panama, Pomona, Portland Vere (cepa Sinaloa ACR), Hardjo (cepa H89), Wolffi, Pyrogenes, Canicola y Tarassovi		

Continuación del cuadro 3

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
22	Cisneros PMA <i>et al.</i> ²⁰⁸	2000a	Diferentes regiones de México	Bratislava, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Hardjo (cepa H89), Tarassovi, Panama, Hardjo, Pomona, Wolffi, Shermani, Pyrogenes, Canicola y Hebdomadis	1,970	39.80
23	Cisneros PMA <i>et al.</i> ²⁰⁹	2000b	Estado de México	Hardjo (cepa H89) y Bratislava	34	21.42
24	Morales AM <i>et al.</i> ²¹⁰	2000b	Sonora	Panama, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Bratislava, Pomona, Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Hardjo (cepa H89), Pyrogenes y Tarassovi	114	31.60
25	Vargas AAD <i>et al.</i> ²¹¹	2000	Irapuato, Guanajuato	Granja A: Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Pomona, Hardjo (cepa H89), Grippotyphosa, Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Canicola, Hardjo, Tarassovi y Wolffi	90	31.10
				Granja B: Grippotyphosa, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Wolffi, Hardjo e Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto)	90	14.40

Continuación del cuadro 3

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
26	Cisneros PMA <i>et al.</i> ²¹²	2000c	Sinaloa	Portland-Vere, Canicola, Pomona, Pyrogenes, Panama, Icterohaemorrhagiae, Shermani, Hardjo, Tarassovi, Autumnalis, Australis y Hebdomadis	178	69.70
27	Cisneros PMA <i>et al.</i> ²¹³	2000d	Guanajuato, Jalisco y Michoacán	Bratislava, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Grippytyphosa, Tarassovi y Hardjo (cepa H89 UAM-X CIE)	430	57.90
28	Vado SI <i>et al.</i> ²¹⁴	2002	Yucatán	Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Panama, Wolffi y Grippytyphosa	120	25.00 a 29.80
29	Ramírez OJM <i>et al.</i> ²¹⁵	2004	Estado de Morelos	Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippytyphosa, Hardjo, Pomona, Tarassovi, Wolffi y Pyrogenes	179	77.09

Leptospirosis canina

A pesar de que en el ámbito mundial se reconoce a las serovariedades patógenas Canicola e Icterohaemorrhagiae como la etiología de la leptospirosis canina, se ha demostrado que otras serovariedades de *L. interrogans* causan enfermedad en esta especie, como son: Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Grippytyphosa,

Hardjo y Pomona entre otras.^{83,216,217,218,219} Las frecuencias en la detección de las diferentes serovariedades patógenas de *L. interrogans* varían ampliamente de una región a otra, de tal forma que, las serovariedades presentes en un lugar pueden no corresponder con las serovariedades presentes en otra región e incluso, pueden llegar a detectarse serovariedades que normalmente no se detectan en una determinada especie. Por ejemplo, en Ontario, Canadá se detectaron en 1998 las serovariedades Grippotyphosa, Autumnalis y Pomona como frecuentes en esta especie y la serovariedad Bratislava que se detecta con mayor frecuencia en la especie porcina.²²⁰ Por otro lado, contrario a lo que sucede en otros países, en algunas zonas de los Estados Unidos se han detectando en los últimos años serovariedades como Pomona y Grippotyphosa con más frecuencia, que las serovariedades Canicola e icterohaemorrhagiae, consideradas a nivel internacional como las más comunes en ésta especie. Esto ha dado lugar a la elaboración de bacterinas que incluyen estas dos serovariedades con la finalidad de controlar la enfermedad.^{221,222} Los trabajos realizados en la especie canina, coinciden en que muchas de las serovariedades detectadas mediante serología en esta especie, no siempre son incluidas en los inmunógenos comerciales.

En caninos, se han reconocido cuatro síndromes: Urémico, icterico, hemorrágico y reproductivo. Estos síndromes comparten una amplia variedad de signos clínicos, sin embargo, a la vez se diferencian mediante signos clínicos muy específicos en cada uno.

Síndrome urémico (Enfermedad de Stuttgart): La especie canina es considerada como huésped definitivo de la serovariedad Canicola. Debido a la colonización del

tejido renal por ésta serovariedad se le atribuye el daño ocasionado a este órgano (nefritis intersticial y deposición de complejos inmunes), que se manifiesta como falla renal, lo cual conlleva a la aparición de un cuadro de uremia con úlceras en tracto gastrointestinal, halitosis, congestión de mucosas, vómito e incluso signos nerviosos y la muerte.

Se ha reportado que la enfermedad causada por la serovariedad Canicola se puede manifestar de los dos meses hasta los dos años de edad, aunque se ha reportado más frecuentemente en animales adultos.^{223,224} Las manifestaciones clínicas observadas incluyen fiebre (41°C), o bien un estado febril pasajero para posteriormente presentar una disminución marcada de la temperatura, de dos a tres días de evolución. Los signos que se observan son: decaimiento, anorexia, pérdida de peso, deshidratación, polidipsia compensatoria, congestión episcleral marcada, vómito que se incrementa en frecuencia, úlceras gingivales, la halitosis se va haciendo más evidente cada vez y pudiera presentarse ictericia en mucosas, aunque esta última, cuando se presenta no es tan marcada como en el caso de la infección con la serovariedad Icterohaemorrhagiae. El cuadro clínico puede cursar con estreñimiento o con evacuaciones acuosas de olor fétido y variable en su coloración (desde color café a un color rojizo por la presencia de sangre), el dolor abdominal es acentuado. El perro presenta dificultad para levantarse, hay debilidad en el tren posterior, dolor dorso-lumbar y ocasionalmente podría presentarse una paresia de uno de los miembros posteriores. Como consecuencia de congestión pulmonar hay disnea. La postración se acompaña de somnolencia, taquicardia, evolución al estado de coma y muerte.²²⁵

Síndrome icterico: El papel que juega la fauna nociva (ratones y ratas) en las zonas urbanas como transmisora y diseminadora de leptospirosis, es de gran importancia en la propagación de la enfermedad. La rata negra (*Rattus rattus*), la rata noruega (*Rattus norvegicus*) y el ratón común (*Mus musculus*) debido a su condición de reservorio natural de *Leptospira*, pueden actuar como fuente de infección de leptospirosis patógenas para los caninos, otras especies animales y al mismo humano.^{224,226,227} La serovariedad Icterohaemorrhagiae, causa un cuadro icterico, agudo y normalmente grave en perros, similar al que se presenta en humanos. Ésta manifestación clínica suele presentarse con mayor frecuencia en animales menores de dos años, viéndose más severamente afectados animales de dos a tres meses de edad.²²³ El periodo de incubación es de 7 días, periodo en el que normalmente no hay manifestaciones clínicas ni anticuerpos específicos contra *L. interrogans*, en esta etapa es común un ligero incremento de la temperatura que se manifiesta con decaimiento y anorexia. En algunos casos, después de 24 horas de la infección comienzan las primeras manifestaciones clínicas como vómito y decaimiento. Las evacuaciones pueden no presentar alteraciones. Del segundo día en adelante, se hacen más evidentes las manifestaciones clínicas, se ha observado en algunos perros hipotermia, congestión ocular leve, faringitis, hemorragias petequiales en encías, pérdida de peso que podría llegar a ser hasta de un 40% y debilidad. Además, aparecen la hemoglobinuria, deshidratación, postración y se acentúa la ictericia con el paso de los días presentándose finalmente la muerte. En ocasiones, hay flujo nasal que pasa de transparente a verdoso, lo cual es una evidencia de una afección respiratoria. Con respecto a los resultados de la serología, ésta puede ser

variable, encontrándose títulos en la prueba de AM que van de 1:100 a 1:3,200. El aislamiento se ha logrado a partir de muestras de orina, sangre y riñón de perros con signología clínica y títulos mayores o iguales a 1:100, obteniendo un buen desarrollo en medio de Korthof o EMJH semisólidos en cuatro a trece días.^{223,224,228,229} Síndrome hemorrágico: La manifestación clínica que toma relevancia es la gastroenteritis hemorrágica, la cual se presenta en cachorros entre dos a ocho meses de edad y normalmente va acompañada también de anorexia, postración, debilidad general, fiebre y vómitos que conllevan a una deshidratación. No se ha demostrado una colonización de leptospiras, en la mucosa digestiva pero lo que sí es un hecho, es el daño que causan en endotelios dando lugar a hemorragias y vasculitis, que de manera indirecta afectan el funcionamiento de distintos órganos, entre los que se incluyen al hígado y el tracto gastrointestinal. Hartman *et al.*, (1986), demostraron la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* (IgM e IgG) en un grupo de 21 perros con un rango de edad, de nueve semanas a ocho años, los cuales presentaban en común depresión, anorexia, vómito y diarrea sanguinolenta, por lo que en algunos casos, el Médico Veterinario había establecido un diagnóstico presuntivo de parvovirus. Debido a que la signología y los hallazgos post-mortem resultaron en muchos casos inespecíficos, el diagnóstico clínico y post-mortem de leptospirosis tuvo que ser confirmado serológicamente. El ensayo inmunoenzimático fue capaz de confirmar la asociación de los cuadros de gastroenteritis hemorrágica y leptospirosis canina.²²³ Un estudio realizado en México a partir de 50 cachorros con signologías específicas de vómito y diarrea sanguinolenta, reveló que el 90% de ellos, presentaban formas similares a *Leptospira* en muestras de sangre obtenidas

durante los primeros días de la presentación de los signos. En el 12% de los casos, se encontró una asociación entre *Leptospira*, Parvovirus y *Ancylostoma*; mientras que en un 28% de los casos, la asociación detectada fue *Leptospira* y Parvovirus y en un 2% de los casos *Leptospira* y *Ancylostoma*. En el 47% de los casos el único agente detectado fue *Leptospira*, Parvovirus se detectó en el 42% del total de casos y *Ancylostoma* sólo en el 2% como único agente. Las tres serovariedades más frecuentes en este estudio fueron: Australis (18.3%), Tarassovi (13%) y Ballum (9.6%).²³⁰ De ahí que resulte de suma importancia la participación del laboratorio para establecer con mayor precisión el diagnóstico en casos de gastroenteritis hemorrágica, ya que la emisión de un diagnóstico definitivo establecido sólo con base en la signología clínica, puede llevar a errores de diagnóstico. Así mismo, es importante considerar las asociaciones etiológicas en un mismo cuadro clínico, ya que esto define el pronóstico del paciente y el tratamiento a seguir.

Síndrome reproductivo: Hay poca información con respecto a manifestaciones reproductivas por causa de la infección con leptospiros patógenas en caninos. Se menciona que en esta especie, las hembras gestantes pueden presentar aborto, mortinatos o nacimientos de cachorros débiles que mueren a los pocos días. Es importante señalar que dichas manifestaciones reproductivas, no se presentan con la misma frecuencia e intensidad como sucede en otras especies (bovinos y cerdos).³ Luna AMA,²²⁴ reportó el caso de una hembra gestante de cinco años de edad de la raza Doberman, la cual presentó una distocia y por este motivo se le realizó una cesárea y se encontraron cinco productos muertos: dos a término con buen desarrollo, dos de menor tamaño con lesiones degenerativas post mortem y

un producto momificado. De esta paciente, se obtuvo una muestra de sangre y al realizar la prueba de AM, el resultado obtenido fue un título de 1:100 contra la serovariedad Icterohaemorrhagiae. A pesar de que no se logró el aislamiento de leptospiras a partir de esta hembra, si se logró aislar a la serovariedad Icterohaemorrhagiae a partir de ratas de su entorno. Se ha mencionado también un cuadro de leptospirosis en una hembra de la raza Samoyedo gestante que llegó a término. La hembra murió a los 10 días post parto con fiebre, vómito e ictericia. Posterior a la necropsia, se estableció un diagnóstico de leptospirosis como la causa de muerte, mediante la evaluación histopatológica de cortes de hígado y riñón, procesados con tinciones argénticas. Cuatro de los seis cachorros que nacieron, murieron con diarrea como manifestación clínica principal. Los dos sobrevivientes (una hembra y un macho), desarrollaron hematuria a las siete semanas de edad, a la que únicamente sobrevivió el macho. En la prueba de AM se detectaron títulos de anticuerpos contra *Leptospira* \geq 1:200. La revisión de la anamnesis reveló que la madre estuvo expuesta a material extraído de un alcantarillado. Considerado éste como la más posible fuente de infección en este caso clínico.^b La principal importancia de la infección con leptospiras patógenas en caninos radica en que esta especie comúnmente alcanza un estado de portador asintomático y por lo tanto diseminador de leptospiras patógenas que es muy frecuente y que desafortunadamente no puede ser detectado clínicamente. Esto representa un riesgo para la salud del ser humano y otros huéspedes susceptibles. En un estudio reciente, Castillo *et al.* (2005), reportaron el aislamiento de cuatro cepas de *Leptospira* virulentas para hámsteres a partir de

^b De la Peña MA. Comunicación personal.

muestras de orina o riñones de cuatro perros (4/58) sin signología de leptospirosis, destinados a la eutanasia en el Centro de Control Canino Luis Pasteur de Aragón, Cd. de México. Todos los perros de donde se obtuvieron los aislados mostraron títulos de anticuerpos tan altos como 1:3,200 contra las serovariedades Canicola, Grippytyphosa y Pyrogenes.²²⁹

Lesiones en caninos

El cuadro típico incluye deshidratación, uremia, ictericia, petequias distribuidas por todo el peritoneo, en la pleura y diversas mucosas, presentando además congestión hepática. Nodos linfáticos, bazo, pulmones y otros órganos están edematosos y hemorrágicos. Los riñones se encuentran aumentados de tamaño, observándose un engrosamiento de la cápsula de color grisáceo, con la presencia de petequias. Histológicamente hay tejido fibroso, una infiltración de células inflamatorias en el intersticio y glomérulo (nefritis intersticial), con pérdida de la morfología estructural de este último. Se ha llegado a encontrar, células mononucleares infiltradas en cortes de tejido cerebral.^{231,104,107}

Reportes serológicos de leptospirosis canina en México

En el examen serológico mediante AM se detectan anticuerpos después de la primera semana de haber adquirido la infección y alcanza los títulos máximos alrededor de la tercera o cuarta semana. Posterior a la infección, pueden persistir títulos bajos de aglutininas durante meses e incluso años. Por esta razón, es necesario examinar muestras pareadas siempre que sea posible; una durante la

fase aguda de la enfermedad y otra a la segunda o tercera semana post-infección, para detectar un aumento en los títulos de anticuerpos de cuatro veces, lo cual sería indicativo de una infección activa. Las frecuencias de las serovariedades de *Leptospira* reportadas en diferentes estudios serológicos realizados en caninos de México mediante la prueba de AM, varían desde 2.8 hasta 81%, encontrando en orden de frecuencia a las serovariedades Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Grippotyphosa y Tarassovi (Cuadro 4).

CUADRO 4

ALGUNOS ESTUDIOS EN LOS QUE SE EMPLEO LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA, EN CANINOS DE MEXICO

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
1	Varela G. ²³²	1959	Varios estados de México	Canicola e Icterohaemorrhagiae	S/D	37.30
2	Varela G, Zavala J. ¹⁸⁸	1961	Varios estados de México	Icterohaemorrhagiae Pomona y Canicola	S/D	2.80
3	Arroyo SV. ²³³	1966	Distrito Federal	Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pomona	100	11.00
4	Palacios AJM. ²³⁴	1983	Distrito Federal	Canicola, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae Ballum, Pyrogenes, Sejroe, Hardjo, Grippytyphosa, Autumnalis, Australis, Hebdomadis y Bataviae	158	29.10
5	Butrón GHD. ²³⁰	1991	Distrito Federal	Australis, Tarassovi, Ballum, Hebdomadis, Autumnalis, Pomona, Hardjo, Icterohaemorrhagiae Pyrogenes, Celledoni, Canicola, Cynopteri, Grippytyphosa y Sejroe	50	66.00
6	Sánchez MP. ²³⁵	1992	Distrito Federal	Perros sin antecedentes de vacunación: Canicola, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae Pomona, Bataviae, Grippytyphosa, Wolffi, Sejroe y Hardjo	100	68.00

Continuación del cuadro 4

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIETADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
			Distrito Federal	Perros con antecedentes de vacunación: Canicola, Pomona, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Wolffii, Grippotyphosa y Bataviae	78	60.25
7	García SCM <i>et al.</i> ²³⁶	1992	Toluca, Estado de México Distrito Federal	Pomona, Canicola, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Grippotyphosa, Panama, UAM-X, Wolffii, Hardjo y Autumnalis	200	41.70
8	Luna AMA. ²³⁷	1993	Naucalpan, Estado de México	Canicola, Pyrogenes, Pomona, Hebdomadis e Icterohaemorrhagiae	485	48.40
9	Rodríguez REA y Suárez GF. ²³⁸	1994	Diferentes regiones de México	Icterohaemorrhagiae, Ballum, Canicola, Pyrogenes, Autumnalis, Australis, Cynopteri, Pomona, Szwajizak, Hardjo y Grippotyphosa	61	72.13
10	Mondragón VRL. ²³⁹	1994	Distrito Federal	Canicola, Pyrogenes, Ballum Castellonis y Pomona	100	67.00
11	Rojas SN <i>et al.</i> ¹⁴³	1994	Diferentes regiones de México	Canicola, Pomona, Pyrogenes, Hebdomadis e Icterohaemorrhagiae	1,420	30.00

Continuación del cuadro 4

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIETADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
12	Caballero A y Romero J. ²⁴⁰	1994	Diferentes regiones de México	Canicola, Tarassovi, Pomona, Icterohaemorrhagiae Wolffii y Grippotyphosa	1,320	72.00
13	Hernández GE <i>et al.</i> ²⁴¹	1997	Diferentes regiones de México	Icterohaemorrhagiae Canicola, Pyrogenes, Autumnalis, Ballum, Szwajizak, Wolfii, Pomona, Grippotyphosa, Australis, Hardjo, Sejroe, Tarassovi, Celledoni, Bataviae, Paidjan, Cynopteri y Hebdomadis	201	28.30
14	Rivera FA. ²⁴²	1999	Distrito Federal	Ballum, Pyrogenes, Canicola, Icterohaemorrhagiae Pomona, Australis, Grippotyphosa, Hardjo y Sejroe	135	38.51
15	Luna AMA <i>et al.</i> ²⁴³	2000	Distrito Federal	Icterohaemorrhagiae (cepa RGA), Icterohaemorrhagiae cepa Palo Alto, Canicola (cepa Hond Utrecht IV) y Portland-Vere (cepa Lissa)	335	41.20 a 53.40
16	Vado SI <i>et al.</i> ²¹⁴	2002	Yucatán	Grippotyphosa, Pomona, Canicola y Pyrogenes	192	19.00

Continuación del cuadro 4

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
17	Luna AMA <i>et al.</i> ²⁴⁴	2004	Diferentes regiones de México	Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Portland-Vere y Tarassovi	4,952	31.30 (16.70 a 81.00)
18	Moles CLP <i>et al.</i> ²⁴⁵	2004	Distrito Federal	Perros callejeros: Bratislava, Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto), Pomona y Pyrogenes	100	22
				Perros domiciliados: Portland-Vere (cepa Sinaloa ACR), Bratislava, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto) y Pomona	100	14

Leptospirosis equina

La presentación común de leptospirosis en esta especie es de una fiebre muy ligera, acompañada de anorexia. En la forma severa puede aparecer sufusión conjuntival, hemorragias petequiales en la mucosa conjuntival, hemoglobinuria, anemia e ictericia, depresión, debilidad general de intensidad variable, con una duración de 8-15 días.^{246,247} Las yeguas preñadas pueden abortar, como consecuencia de la infección y algunas leptospiras pueden ser encontradas en tejidos fetales, placentas y orina.^{248,249,250} De dos a ocho meses después de la

infección inicial algunos equinos (alrededor de 45%) pueden desarrollar oftalmia periódica o iridociclitis recurrente, una uveítis también conocida como “ceguera de media luna”.^{105,251,252} *Leptospiras* patógenas han sido aisladas del humor acuoso de equinos con uveítis recurrente. Así mismo, la amplificación de fragmentos específicos de ADN de *Leptospira* a partir del humor acuoso de equinos que padecían uveítis recurrente mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), confirmó la presencia de *Leptospira* hasta en un 70% de los casos de uveítis recurrente.²⁵³

Lesiones en equinos

La iridociclitis en caballos es una secuela común causada por leptospirosis. Su desarrollo se debe a la presencia de anticuerpos específicos en el humor vítreo y acuoso y la persistencia de leptospiras en la cámara anterior. Otra hipótesis es la similitud antigénica entre proteínas de la serovariedad Pomona y proteínas de la córnea, por lo que meses o años después de la infección con esta serovariedad se presenta una reacción de autoinmunidad con manifestaciones clínicas recurrentes que pueden llegar a ocasionar ceguera (ceguera de luna).^{104,251} La lesión característica en riñón es la nefritis intersticial, caracterizada por infiltración celular mixta constituida por linfocitos, monocitos, células plasmáticas y neutrófilos. La falla renal se manifiesta por oliguria y conlleva a un estado de uremia, lo cual produce lesiones generalizadas como úlceras en tracto digestivo. La ictericia puede aparecer clínicamente y también hemorragias en diferentes órganos que se

desarrollan rápidamente. El bazo e hígado pueden presentar un aumento de tamaño y también se pueden desarrollar miocarditis y meningitis.³

Reportes serológicos de leptospirosis equina en México

Han sido pocos los estudios serológicos sobre leptospirosis equina reportados en México. Las frecuencias de seropositividad detectadas en algunos de estos trabajos, varían del 8.5 al 70%, destacando las serovariedades, Pomona, Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Hardjo y Pyrogenes (Cuadro 5).

CUADRO 5

ALGUNOS ESTUDIOS EN LOS QUE SE EMPLEO LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA, EN EQUINOS DE MEXICO

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
1	Shimada MA. ²⁵⁴	1964	Distrito Federal	Pomona	100	70.00
2	Legorreta PJ. ²⁵⁵	1972	Distrito Federal	Bratislava, Pomona, Pyrogenes, Borincana, Bataviae, Ballum, Hardjo	200	8.50
3	López PM. ²⁵⁶	1997	Estado de México	Australis, Autumnalis, Pomona, Celledoni, Szwajizak e Icterohaemorrhagiae	106	89.30
4	Luna AMA <i>et al.</i> ²⁵⁷	1999	Baja California Norte	IcterohaemorrhagiaeP yrogenes, Grippytyphosa, Tarassovi, Canicola, Hardjo, Pomona, Wolffi, Hebdomadis y Bratislava	100	61.00
5	Córdova LD <i>et al.</i> ¹⁵⁵	2000a	Istmo de Tehuantepec	Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Pyrogenes, Hebdomadis, Canicola Grippytyphosa y Panama	11	80.00

Leptospirosis en pequeños rumiantes (ovinos y caprinos)

Aunque las manifestaciones clínicas de leptospirosis han sido descritas en ovinos y caprinos tanto la infección aguda como el estado de portador no son muy comúnmente reportados. Abortos y mortinatos tienen una baja incidencia de ahí que las pérdidas económicas en éstas especies no se comparen con las pérdidas reportadas en bovinos y cerdos. Diferentes reportes consideran a las

serovariedades Pomona, Grippotyphosa, Hardjo y Bratislava como las más frecuentes en estas especies.^{258,259,260,261,262,263,264}

El periodo de incubación en pequeños rumiantes tiene una duración de cuatro a seis días. La infección aguda se caracteriza por anorexia, depresión, jadeo y fiebre con un curso de cuatro a cinco días. El cuadro puede cursar con hemoglobinemia y hemoglobinuria, lo cual conduce a una disminución del hematocrito y de los niveles de hemoglobina. La anemia se manifiesta entre los 7 a 12 días post infección.^{265,266,267} Los animales que se recuperan de las manifestaciones clínicas de leptospirosis pueden llegar a ser portadores y excretores de leptospiras patógenas.^{105,259,261}

Lesiones en pequeños rumiantes

En los pequeños rumiantes que mueren como consecuencia de una leptospirosis aguda, los hallazgos a la necropsia incluyen ictericia en grados variables, hemorragias distribuidas ampliamente, exudados teñidos de sangre y hematuria. Los riñones se encuentran aumentados de tamaño, presentan hemorragias petequiales en la superficie. Infección congénita y puede ocurrir muerte fetal. Pueden encontrarse hemorragias en cerebro, vacuolización de las células de la superficie endometrial en útero, hay evidencias claras de infección genital y transmisión venérea, pero hay poca información acerca de los cambios patológicos en los tejidos afectados.^{266,267,268,269,259}

Reportes serológicos de leptospirosis en pequeños rumiantes

En México al igual que en otros países, los estudios sobre leptospirosis en pequeños rumiantes no son frecuentes. Los resultados de los estudios realizados en caprinos de México citados en este trabajo, muestran una seropositividad que va de 26.73 a 27%, destacando serovariedades Autumnalis, Panama, Shermani y Australis (Cuadro 6).

CUADRO 6

ALGUNOS ESTUDIOS EN LOS QUE SE EMPLEO LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA, EN PEQUEÑOS RUMIANTES DE MEXICO

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
1	Pérez PR. ²⁷⁰	1985	Rastro en D.F.	Caprinos:	100	27.00
			Coahuila	Autumnalis, Panama,	15	46.66
			Zacatecas	Shermani, Australis,	20	35.00
			Chihuahua	Orleans, Arborea,	16	25.00
			San Luis Potosí	Pyrogenes y Wolffi	29	20.68
		Aguascalientes		20	15.00	
2	Campos HR. ²⁷¹	1985	Querétaro, Hidalgo, Puebla y Estado de México	Caprinos: Autumnalis	187	26.73
3	Ortiz Villanueva A. ²⁷²	1987	Ajusco, D. F.	Ovinos criollos e importados	12/761	1.28
				Ovinos Criollos: Pyrogenes y Hebdomadis	11	91.66
				Ovinos importados: Bratislava	1	8.33
4	Veloz GE <i>et al.</i> ²⁷³	1994	Guanajuato	Caprinos: Autumnalis, Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Szwajizak y Grippytyphosa	120	7.50
5	Cabello FE y De la Peña MA. ²⁷⁴	1996	Querétaro	Caprinos: Autumnalis, Cynopteri, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae y Hardjo	34	97.05

Leptospirosis en felinos domésticos

La infección con serovariedades patógenas en felinos domésticos rara vez causa cuadros de enfermedad clínica, por lo que la forma más común del proceso de infección, tiende a ser un estado de infección subclínico.^{275,276} Los resultados obtenidos en la prueba de AM han revelado frecuencias de seropositividad bajas (7%, 9.2%, 6.8% y 5.6%), en comparación a las determinadas para otras especies animales.^{276,277,278,279} Entre las serovariedades que se han detectado en felinos domésticos en diferentes trabajos destacan: Shermani, Panama, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Ballum, Pomona, Balcanica, Bratislava, Hardjo, y Autumnalis.^{275,276,279,280} Reportes de infección en esta especie son poco comunes e inclusive, inoculación experimental de leptospiras patógenas en gatos no ha podido inducir una signología clínica significativa, salvo reducidas ocasiones.^{280,281,282} No son usualmente afectados con el mismo grado de lesión que se ha observado en otras especies, sin embargo, se han encontrado cicatrices renales, similares a las encontradas en nefritis crónica en otras especies de mamíferos domésticos.³ A partir de tejido renal y orina de esta especie se han obtenido aislados, correspondientes a las serovariedades Bratislava y Canicola entre otras.^{275,278}

Reportes serológicos de leptospirosis en felinos domésticos

En México, un estudio realizado por De la Peña (1992) mediante la prueba de AM, reveló una seropositividad de 33% en una muestra de 18 felinos domésticos, las serovariedades detectadas fueron: Canicola, Szwajizak, Grippotyphosa, Pomona,

Ballum y Cynopteri (Cuadro7). Las serovariedades Canicola y Szwajizak, presentaron los títulos más altos (1:400 y 1:200 respectivamente). El porcentaje de seropositividad encontrado en este estudio, difiere ampliamente con los porcentajes detectados en otros estudios, lo cual podría explicarse debido al ambiente en el que se encontraban estos gatos, en el que convivían con perros y presencia de roedores en la zona.²⁸³ Por otro lado, en un estudio serológico (AM) realizado por Estrada *et al.* (2003) en 70 gatos de la Ciudad de México se detectó una seropositividad del 7.7% siendo las serovariedades Panama, Budapest, Canicola e Icterohaemorrhagiae las más frecuentes, con un título no mayor a 1:50 y un suero que reaccionó con la serovariedad Javanica con un título de 1:100 (Cuadro7). Cuando los autores compararon los resultados de la serología con el cuadro clínico de los felinos al momento del muestreo, no se encontró relación alguna sugerente de leptospirosis.²⁸⁴ De ahí que, el papel que tienen los gatos como portadores y diseminadores de leptospiras patógenas no esté definido plenamente en la actualidad.

CUADRO 7

ALGUNOS ESTUDIOS EN LOS QUE SE EMPLEO LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA, EN FELINOS DOMÉSTICOS DE MEXICO

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	SEROVARIEDADES MÁS FRECIENTES	SEROPOSITIVOS	
					n	%
1	De la Peña MA. ²⁸³	1992	Distrito Federal	Canicola, Szwajizak, Grippotyphosa, Pomona, Ballum y Cynopteri	18	33
2	Estrada CIA <i>et al.</i> ²⁸⁴	2003	Distrito Federal	Patoc, Panama, Budapest, Canicola e Icterohaemorrhagiae	70	7.7

Leptospirosis en animales de laboratorio

El modelo animal para estudiar la leptospirosis son los cobayos y los hámsteres (hámster sirio), a partir de los cuales se describen las observaciones de leptospirosis aguda en el laboratorio.^{285,286} Ambas especies pueden morir debido a la infección con serovariedades virulentas de diferentes serogrupos. La infección del hámster con las serovariedades Pomona, Canicola y Grippotyphosa deriva en cuadros de leptospirosis aguda o crónica. Infecciones crónicas con estas serovariedades ocasionan pérdida de peso, retraso del desarrollo y afección renal. Hámsteres y cobayos pueden infectarse con la serovariedad Hardjo de cualquier genoespecie (*L. interrogans* y *L. borgpetersenii*) pero raramente desarrollan la enfermedad. Los animales jóvenes son más susceptibles a la infección que los

adultos.^{285,286,287} La ruta de infección experimental puede ser intraperitoneal o conjuntival. En los primeros cuatro días post infección, los hámsteres se observan con poca actividad, su pelo está erizado sin brillo, pierden el apetito como resultado de la fiebre, las orejas se observan hiperémicas y la mucosa conjuntival se observa congestionada y con presencia de secreción. Se detecta proteinuria y puede haber leptospiras tanto en líquido peritoneal como en la sangre. Hay pérdida de peso progresiva durante todo el curso de la enfermedad. Los animales, se muestran intolerantes al ruido y a la luz, manifiestan signología nerviosa como resultado de una meningitis y encefalitis. Puede haber diarrea y sangrado a través de la nariz, boca, ano y tracto genitourinario. Tienen movimientos torpes y algunos animales mantienen el lomo arqueado. A veces entre los tres y diez días después de la inoculación hay oliguria y la orina pierde su concentración característica y puede haber ictericia. Existe la posibilidad de recuperación usualmente después de cinco u ocho días de la inoculación. El animal recupera su apetito e ingesta de líquidos. Estos animales se comportan como portadores y algunos permanecen sin crecimiento, sobreviven por semanas o meses, pero con desorden del pelo y signología de insuficiencia renal (disminución de la densidad de la orina). La orina contiene una cantidad variable de leptospiras y a la necropsia, los riñones están atrofiados y palidos, con superficie granular; histopatológicamente hay células de cicatrización y los túbulos renales contorneados poseen abundantes leptospiras adheridas a las células del epitelio cúbico simple.^{288,289,290,291}

Lesiones en animales de laboratorio (hámster)

A la necropsia, se presentan lesiones muy severas, como petequias en varios tejidos. En algunos casos es evidente una extensa hemorragia que está acompañada por una coagulopatía intravascular diseminada. Es más notable la hemorragia que puede presentarse en el pulmón, páncreas, vejiga urinaria, miocardio, el músculo del abdomen y el lomo.^{288,289,290,291}

Leptospirosis en animales silvestres

Se reconoce a una amplia variedad de especies silvestres como portadoras de leptospiras patógenas y algunas de estas son consideradas reservorios naturales.^{292,293,294} Cirone *et al.*, detectaron anticuerpos contra leptospiras patógenas en el 75% de los animales silvestres de vida libre muestreados.²⁹⁵

Reportes serológicos de leptospirosis en animales silvestres

En los últimos años, se ha incrementado el interés por la fauna silvestre, dando como resultado, la realización de diferentes estudios sobre etología, nutrición, distribución geográfica y las enfermedades que se presentan más frecuentemente en éstas. Existen antecedentes de estudios serológicos sobre leptospirosis en animales en cautiverio. En el zoológico de Chapultepec de la ciudad de México, el cual, alberga una amplia variedad de especies silvestres, la gran variedad de especies animales seropositivas, sugiere que la leptospirosis debe ser considerada como una enfermedad de amplia distribución entre los animales del zoológico (Cuadro 8).

CUADRO 8
ALGUNOS REPORTES DE ESTUDIOS SEROLÓGICOS (AM) REALIZADOS EN ANIMALES SILVESTRES EN CAUTIVERIO DE MÉXICO.

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	ESPECIE	EROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVIDAD	
						n	%
1	García PA. ²⁹⁶	1990	Zoológico de Chapultepec	Venado cola blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	Autumnalis, Icterohaemorrhagiae y Pomona	27	85.1
2	Acoltzi GAC. ²⁹⁷	1992	Zoológico de Chapultepec	Pecaris de collar (<i>Tayassu tajacu</i>)	Bataviae, Cynopteri y Pyrogenes	22	95.4
3	Moles CLP <i>et al.</i> ²⁹⁸	1994	Zoológico de Chapultepec	Panda Gigante (<i>Ailuropoda melanoleuca</i>)	Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis, Pyrogenes, Canicola y Pomona	1	100
4	Erazo GR. ²⁹⁹	1994	Zoológico de Chapultepec	Pécaris de collar (<i>Tayassu tajacu</i>)	Pomona, Wolffii y Pyrogenes	39	84.6
5	Luna AMA <i>et al.</i> ³⁰⁰	1996	Zoológico de Chapultepec	Lobo canadiense (<i>Canis lupus hudsonicus</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Hebdomadis, Pomona y Grippotyphosa	3	66
				Panda (<i>Ailuropoda melanoleuca</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Hebdomadis y Pomona	5	100
				Pécaris de collar (<i>Tayassu tajacu</i>)	Icterohaemorrhagiae y Panama	2	100
				Venado cola blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Pomona y Autumnalis	10	10
				León africano (<i>Panthera leo</i>)	Hebdomadis	4	25

Continuación del cuadro 8

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	ESPECIE	SEROVARIETADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVIDAD	
						n	%
	Luna AMA <i>et al.</i> ³⁰⁰	1996	Zoológico de Chapultepec	Pantera (<i>Panthera pardus</i>)	Grippotyphosa	2	50
				Coyote (<i>Canis latrans</i>)	Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa	1	100
				Oso Polar (<i>Thalarctos maritimus</i>)	Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes y Hebdomadis	2	100
				Rinoceronte blanco (<i>Ceratotherium simum</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola y Hebdomadis	1	100
				León marino (<i>Zalophus californianus</i>)	Icterohaemorrhagiae	2	50
				Orangután (<i>Pongo pygmaeus</i>)	Canicola y Hebdomadis	3	66
				Lobo ártico (<i>Lupus tumdrarum</i>)	Icterohaemorrhagiae y Hebdomadis	1	100
				Cebra (<i>Equus burchelli</i>)	Pyrogenes y Grippotyphosa	2	100
				Rinoceronte Negro (<i>Diceros bicornis</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Hebdomadis y Grippotyphosa	2	100
				Tigre (<i>Panthera tigris</i>)	Pyrogenes	3	33

Continuación del cuadro 8

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	ESPECIE	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVIDAD	
						n	%
6	Godínez RC <i>et al.</i> ⁸⁷	1999	Golfo de California	León marino (<i>Zalophus californianus californianus</i>)	Hardjo, Cynopteri, Ballum, Szwajizak, Sejroe y Grippytyphosa	125	32
7	Urrutia VRM <i>et al.</i> ³⁰¹	2000	Sureste de México	Búfalo (<i>Bubalus bubalis</i>)	Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Pyrogenes, Portland-Vere (cepa ACR) e Icterohaemorrhagiae (cepa Palo Alto)	168	30
8	Olascoaga EA. ³⁰²	2004	Zoológico de Chapultepec	Orden Artiodactila Familia Bovidae			
				Antílope acuático (<i>Kobus ellipsiprimnus defassa</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Patoc, Hardjo y Wolffi	1	100
				Antílope Eland (<i>Taurotragus oryx</i>)	Canicola, Vecorisa, Patoc, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae y Wolffi	2	100
				Antílope Indio (<i>Antelope cervicapra</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hardjo, Patoc, Vecorisa y Pomona	8	100
				Antílope Nilgo (<i>Boselaphus tragocamelus</i>)	Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Hardjo, Pomona y Wolffi	3	100
				Antilope Oryx Cimitarra (<i>Oryx dammah</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hardjo, Patoc, Vecorisa y Pomona	2	100

Continuación del cuadro 8

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	ESPECIE	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVIDAD		
						n	%	
	Olascoaga EA. ³⁰²	2004	Zoológico de Chapultepec	Antílope Sable (<i>Hippotragus niger</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hardjo, Patoc, Vecorisa y Pomona	4	100	
				Borrego Cimarrón (<i>Ovis canadensis</i>)	Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Vecorisa, Patoc, Hardjo y Wolffi	3	100	
				Muflon Europeo (<i>Ovis musimon</i>)	Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Hardjo, Wolffi y Pomona	5	100	
				Yak (<i>Bos grunniens</i>)	Canicola, Patoc, Icterohaemorrhagiae y Hardjo	1	100	
				Familia <i>Camelidae</i>				
				Camello Bactriano (<i>Camelus Bactrianus</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Patoc, Hardjo, Wolffi y Ballum	1	100	
				Dromedario (<i>Camelus dromedarius</i>)	Patoc, Canicola, Hardjo y Wolffi	1	100	
				Guanaco (<i>Lama guanicoe</i>)	Pomona, Vecorisa, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Patoc, Wolffi y Ballum	1	100	
				Llama (<i>Lama glama</i>)	Icterohaemorrhagiae, Pomona, Canicola, Grippytyphosa, Hardjo, Wolffi y Patoc	7	100	

Continuación del cuadro 8

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	ESPECIE	SEROVARIETADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVIDAD n	%
	Olascoaga EA. ³⁰²	2004	Zoológico de Chapultepec	Familia <i>Cervidae</i>			
				Gamo (<i>Dama dama</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Patoc y Hardjo	3	100
				Venado cola blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	Patoc, Canicola, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Vecorisa y Ballum	5	100
				Venado sika (<i>Cervus nipon</i>)	Patoc, Canicola, Pomona, Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Vecorisa	4	100
				Venado Temazate (<i>Mazama americana</i>)	Patoc, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Vecorisa y Hardjo	3	100
				Wapiti (<i>Cervus canadensis</i>)	Icterohaemorrhagiae, Patoc, Canicola, Pomona y Vecorisa	2	100
				Familia <i>Giraffidae</i>			
				Jirafa (<i>Jirafa camelopardalis</i>)	Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Pomona y Hardjo	2	100
				Orden Perisodactyla			
				Familia <i>Equidae</i>			
				Cebra de Grant (<i>Equs burchelli boehmi</i>)	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Patoc, Pomona y Vecorisa	2	100

Continuación del cuadro 8

No.	AUTOR	AÑO	REGION O ESTADO	ESPECIE	SEROVARIEDADES MAS FRECUENTES	SEROPOSITIVIDAD	
						n	%
	Olascoaga EA. ³⁰²	2004	Zoológico de Chapultepec	Familia <i>Rhinocerotidae</i> Rinoceronte Negro (<i>Diceros bicornis</i>)	Icterohaemorrhagiae, Pomona, Vecorisa y Canicola	1	100
				Especies de vida libre, habitantes del lugar Ratón (<i>Mus musculus</i>)	Hardjo, Patoc, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Pomona	4	100
				Ardilla (<i>Sciurus sp.</i>)	Icterohaemorrhagiae y Patoc	1	100

Inmunidad y leptospirosis

Claramente, el LPS de *Leptospira* es un antígeno que induce la producción de anticuerpos protectores del tipo IgM serovariedad específicos.^{48,303} En presencia de anticuerpos del tipo IgM las leptospiras patógenas son opsonizadas y los macrófagos las fagocitan y migran a órganos del sistema retículo-endotelial (hígado, bazo y nodulos linfáticos) resultando en la eliminación de las leptospiras circulantes del torrente sanguíneo. Sin embargo, en ausencia de anticuerpos las leptospiras patógenas se replican en sangre (leptospiremia) y posteriormente se localizan en los sitios privilegiados en donde no hay acceso para los anticuerpos opsonizantes ni macrófagos, como son los túbulos contorneados del riñón, siendo eliminados por la orina (leptospiruria). De esta manera, logran escapar de una respuesta inmune específica por lo que se presentará un estado de persistencia en el huésped (estado de portador).⁷⁸

En condiciones normales, se producen anticuerpos específicos contra las leptospiras después de siete días del inicio de la infección y los títulos máximos de anticuerpos se alcanzan entre la segunda y tercera semana. La naturaleza de las inmunoglobulinas y su duración en la circulación difieren según la especie animal. Los epítopes que inducen una respuesta inmune protectora están representados por complejos de oligosacáridos incluyendo azúcares fosforilados y aminoazúcares que constituyen las cadenas principales del LPS.^{48,304} Los anticuerpos monoclonales contra estos epítopes de naturaleza polisacárida del LPS protegen a hámsteres y cobayos contra la leptospirosis.^{305,306} La respuesta inmune contra leptospiras es en gran parte mediada por células B, tanto en la

infección inicial como en la respuesta a la reinfección. Es común que ocurran infecciones subsecuentes con diferentes serovariedades.^{307,308} Se estima que anticuerpos del tipo IgG específico persisten después de un episodio de infección durante un periodo que va de 5 a 20 años.^{309,310} La inmunización experimental con proteínas recombinantes de la membrana externa (OmpL1 y LipL41), indujo una protección parcial (70%) en hámsteres desafiados con una cepa virulenta de *L. kirschneri* serovariedad Grippotyphosa, siendo este el primer reporte del uso de proteínas para inducir inmunoprotección contra leptospirosis.³¹¹ En bovinos, anticuerpos del tipo IgM son normalmente detectados en los primeros 10 días de la infección. Bovinos con títulos altos de anticuerpos dirigidos contra el LPS no son protegidos contra el desafío experimental. Esto sugiere que otros mecanismos inmunes o diferentes anticuerpos contra otros componentes de *Leptospira* son requeridos para desarrollar una respuesta inmune protectora en esta especie.^{312,313} Una vacuna inactivada contra la serovariedad Hardjo indujo fuertes respuestas antígeno-específicas por células mononucleares de sangre periférica del tipo CD4⁺ y T γ δ productoras de Interferón gamma (IFN- γ). Estos resultados indicaron que la vacuna inactivada contra Hardjo indujo en los bovinos vacunados, una respuesta celular del tipo Th1, a partir de linfocitos T CD4⁺. Estos resultados contrastan con el paradigma de que la inmunidad protectora contra leptospirosis es principalmente de tipo humoral.³¹³ Guerreiro *et al.* (2001) confirmaron que los anticuerpos dirigidos contra el LPS son predominantemente del tipo IgM, mientras que anticuerpos dirigidos contra las proteínas son principalmente IgG.⁸⁵

LipL32 es la lipoproteína inmunodominante de la membrana externa de leptospiras patógenas reconocida durante la infección natural en humanos.³¹⁴ Reactividad contra LipL32 en riñones de hámsteres infectados con la serovariedad Grippotyphosa fue detectada mediante inmunohistoquímica, lo cual es evidencia de la expresión *in vivo* de esta proteína.³¹

Antibioterapia

Las leptospiras son sensibles a muchos antibióticos excepto al cloranfenicol y la rifampicina. El uso de la penicilina en combinación con estreptomina son una excelente alternativa y ambos se eliminan en forma activa por la vía renal, eliminando el estado de portador, a pesar de ello, el uso de la estreptomina, está contraindicado en pacientes con falla renal debido a que es nefrotóxica. De ahí que, una evaluación de la función renal es necesaria antes de decidir utilizar este antibiótico.^{3,315} Para que el tratamiento sea efectivo, este debe ser instituido dentro de los primeros siete a diez días post-infección.³ Sin embargo, en un estudio de susceptibilidad a quimioterapéuticos *in vitro*, realizado con serovariedades representantes de 21 de los 25 serogrupos de *Leptospira*. Se observó que, serovariedades de los serogrupos Canicola e Icterohaemorrhagiae cultivadas en medios líquidos suplementados con suero de conejo e incubados a 30°C, fueron resistentes a la acción de penicilinas naturales.³¹⁶ Así mismo, en un estudio realizado con animales de laboratorio, se reportó que el uso de penicilina después de un corto período profiláctico no evitó la infección contra la serovariedad Icterohaemorrhagiae. A pesar de estos hallazgos desfavorables, la penicilina

continúa siendo uno de los antibióticos indicados para el tratamiento de la leptospirosis.

Ante la posibilidad de reacciones alérgicas a la penicilina, antibióticos alternativos incluyen a la eritromicina en dosis de 250 mg cada seis horas durante cinco días y a la doxiciclina en dosis de 100 mg por vía oral cada 12 horas. Esta última, mostró una reducción en la severidad y duración de la enfermedad.³¹⁸ En medicina veterinaria, la dihidroestreptomicina es el antibiótico de elección para el tratamiento de leptospirosis en diferentes especies de animales domésticos. La dosis recomendada es de 5 a 25 mg/kg de peso durante 7 a 14 días.^{319,320}

Diagnóstico

Uno de los aspectos que convierten a la leptospirosis en un reto para la salud pública y la medicina veterinaria, es su difícil diagnóstico. La diversidad de signologías y sintomatologías hacen necesario el apoyo de diversos métodos diagnósticos de laboratorio, tanto del laboratorio de análisis clínicos común, como del laboratorio especializado en el diagnóstico de leptospirosis para obtener así un diagnóstico integral.

Muchos de los trabajos sobre *Leptospira* y leptospirosis han sido realizados e impulsados no por médicos cirujanos o microbiólogos sino por médicos veterinarios zootecnistas, debido a las pérdidas económicas causadas por una disminución en la producción de alimentos de origen animal. De igual forma, una de las principales tareas que tienen los médicos veterinarios es salvaguardar la salud de las especies animales con las que el ser humano tiene contacto, principalmente si se trata de enfermedades que pueden ser transmitidas directa o

indirectamente de los animales al hombre (zoonosis) como sucede con la leptospirosis.

La prueba de aglutinación microscópica (AM) que utiliza antígenos vivos es la técnica de referencia empleada a nivel mundial y recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para confirmar los casos de leptospirosis.³²¹ La AM se emplea tanto en el diagnóstico como en la clasificación serológica de las cepas de *Leptospira*.

En México al igual que en resto del mundo, la prueba de AM es considerada la prueba de referencia para el diagnóstico de leptospirosis.^{3,320} Esta prueba serológica se fundamenta en la detección de anticuerpos aglutinantes (IgM) en el suero de animales sospechosos, al enfrentarlo a cultivos viables de diferentes serovariedades de *Leptospira* y que dan origen a aglutinaciones que sólo son detectadas mediante la observación en el microscopio de campo oscuro. El procedimiento descrito por Myers³²² para la realización de la prueba de AM, constituye uno de los métodos de referencia con una mayor difusión en Latinoamérica. Una nueva definición de la técnica esta siendo difundida a través del manual de laboratorio del Royal Tropical Institute de Holanda, con la aprobación de la International Leptospirosis Society (ILS), estableciendo los tiempos y temperaturas de incubación, la lectura, el título que representaría el punto de corte, la densidad y edad del cultivo.³²¹

A diferencia de otras técnicas diagnósticas, ésta prueba ofrece las siguientes ventajas:

a) Es cualitativa, determina contra cual de las diferentes serovariedades de referencia de *Leptospira* se ha montado una respuesta inmune.

b) Es cuantitativa, da a conocer el título de anticuerpos en el suero problema, lo cual ayuda a establecer, en conjunto con la historia clínica y el examen físico, la condición del paciente. Sin embargo, tiene las siguientes desventajas:

- 1.- Su interpretación es subjetiva y variable de observador a observador.
- 2.- Requiere cultivos viables de leptospiras patógenas que a pesar de no ser virulentas, no pueden descartarse como un riesgo biológico para el técnico.
- 3.- Su mantenimiento es costoso.
- 4.- No distingue entre anticuerpos vacunales o los originados de una verdadera infección previa o activa y por lo tanto, requiere de valoración de la reacción mediante la signología asociada al caso, así como a un segundo muestreo en 15 días después del primero.

A pesar de estas desventajas, la prueba de AM continúa siendo la prueba diagnóstica de referencia alrededor del mundo.³²³

La detección de anticuerpos mediante la prueba de AM, se logra después de la primer semana del inicio de la infección y los títulos máximos se detectan después de la tercera o cuarta semana. Posteriormente, pueden persistir títulos bajos de aglutininas durante meses e incluso años. Por esta razón, es conveniente examinar muestras pareadas siempre que sea posible, la primera durante la fase aguda de la enfermedad y la siguiente en la segunda o tercera semana post-infección. Un aumento de cuatro veces en los títulos de anticuerpos, entre la primera y segunda muestra de suero, es indicativo de una infección activa.^{321,322,324}

Alternativas para el diagnóstico de leptospirosis

La identificación y clasificación bacteriana es realizada mediante la evaluación de la morfología, requerimientos nutricionales, resistencia a antibióticos, actividades enzimáticas, sensibilidad a fagos y serología entre otras.^{325,326,327}

El surgimiento de técnicas para la manipulación de ácidos nucleicos ha traído consigo la oportunidad de implementar ensayos, para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, que ofrecen un alto grado de especificidad y sensibilidad, en particular para aquellas en las que el aislamiento del agente etiológico representa un reto difícil de superar como en el caso de *Leptospira*.³²⁸

Diferentes técnicas para el aislamiento de ADN cromosomal de *Leptospira* y su caracterización, han permitido realizar análisis taxonómicos y desarrollar herramientas diagnósticas.^{329,330,331,332,333,334,335} Métodos basados en el estudio del ADN como, la hibridación de ADN^{328,336} y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR),^{337,338} ofrecen una alternativa sensible y específica para el diagnóstico de este tipo de enfermedades.

Un método simple, rápido y que puede ser aplicado a cualquier microorganismo, es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que consiste en amplificar un fragmento específico de ADN cromosomal a partir de un microorganismo utilizando dos iniciadores que se unirán (en dirección 5' a 3') cada uno a una cadena de ADN y mediante una serie repetida de ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión en presencia de la enzima Taq polimerasa, genera una cantidad suficiente del fragmento contenido entre los dos iniciadores, para proceder a su purificación, secuenciación, marcaje o digestión, según se requiera.

Una modalidad de esta técnica es la PCR iniciada arbitrariamente (Arbitrarily Primed PCR, AP-PCR), en este método, no se requiere información previa de la secuencia de nucleótidos, de esta forma, huellas de genomas complejos pueden ser generadas usando iniciadores escogidos arbitrariamente y utilizados en reacciones de PCR. Este método involucra dos ciclos de baja astringencia en la amplificación seguidos por PCR en condiciones de alta astringencia. De tal forma que, cepas de diversos microorganismos pueden ser distinguidas mediante la comparación del polimorfismo en las huellas genómicas.³³⁹

El Diagnóstico de leptospirosis en el Mel

Diagnóstico de leptospirosis en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (Mel, FMVZ-UNAM).


La sección de Diagnóstico del Mel, FMVZ-UNAM, re-implementó el diagnóstico de leptospirosis a partir del año de 1989, ofreciendo al público en general tres alternativas diagnósticas:

- 1.- Demostración. La observación de muestras clínicas (sangre y orina) en el microscopio de campo oscuro para determinar la presencia de formas similares a *Leptospira*.
- 2.- Serología. Para la detección de anticuerpos contra serovariedades patógenas de *Leptospira* mediante AM, siguiendo los criterios internacionales para la realización de la misma.

3.- Aislamiento. El cultivo de *Leptospira* a partir de muestras clínicas es difícil de lograr ya que este tipo de espiroquetas no desarrolla *in vitro* con la facilidad que lo hacen otras bacterias. El aislamiento requiere medios complejos en su composición, caros y de una incubación de seis meses o más a 30°C.

Al llegar una muestra clínica colectada de un animal con diagnóstico presuntivo de leptospirosis, la muestra es ingresada con un número de caso, previo llenado de una hoja de registro que consta de los siguientes datos: Fecha, número de caso, remitente, historia clínica, datos del animal o animales, examen solicitado, información de la muestra y un apartado para anotar los resultados. Dicha hoja de registro, forma parte del soporte documental del laboratorio (Figura 4).

Cualquier dato o resultado que se desee buscar en este resguardo de información, debe realizarse en forma manual primero localizando la carpeta del año de interés y posteriormente buscando hoja por hoja la información requerida. Esto hace que la búsqueda de información así como el análisis de la misma, sea laborioso y lento.



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
 DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA
 SECCIÓN DE DIAGNÓSTICO
LEPTOSPIROSIS
 Tel. 622-58-96
 9:00-15:00 y 17:00-19:00

Microbiología Diagnóstica
 Fecha: 11/sep/09 No. de Caso: B 00-450
 Pago \$ 200- No. Ext. _____
 Recibo No. 2932141

SE RECIBEN MUESTRAS Y SE DAN RESULTADOS PREVIA ENTREGA DEL RECIBO CORRESPONDIENTE O SOLICITUD FIRMADA POR EL JEFE DEL DEPTO. O INSTITUCIÓN QUE SOLICITA EL SERVICIO.

Remitente: Ruben Juárez Javilar LAB. Pfizer

Dirección: RANCHO FELIX MENDOZA / SC6 2-64-46 Tel: _____

Especie: _____ Raza: _____ Sexo: _____ Edad: _____

HISTORIA CLÍNICA PERTINENTE
Abortos y prob. reproductivos.

INMUNIZADO CONTRA: _____ FECHA: _____

EXAMEN SOLICITADO:

Aglutinación microscópica
 Observación en campo obscuro
 Aislamiento
 Hibridación ADN
 Serovariedades solicitadas _____

MUESTRA:

Suero Cantidad 8 (Hasta 8)
 Orina
 Sangre
 Otros
 Conservador: _____

RECIBIO: _____ TRABAJO: PF/DAV FECHA DE SALIDA: 10/SEP
 PRIMOCULTIVO: _____ MEDIO: _____ OBS. C.O.: _____
 HIBRIDACIÓN: _____

SEROVARIETADES

No. SUERO	1 <u>Aut</u>	2 <u>Bal</u>	3 <u>Bat</u>	4 <u>Can</u>	5 <u>Can</u>	6 <u>Hb</u>	7 <u>Id</u>	8 <u>Par</u>	9 <u>Py</u>	10 <u>Sy</u>	11 <u>Ta</u>	12 <u>W</u>
<u>0-125</u> A21					<u>+1:50</u>							
<u>3-14</u> B22				<u>+1:50</u>	<u>+1:50</u>				<u>+1:100</u>	<u>+1:400</u>	<u>+1:400</u>	
<u>4-69</u> C23				<u>+1:50</u>	<u>+1:50</u>				<u>+1:100</u>	<u>+1:200</u>	<u>+1:200</u>	
<u>5-22</u> D24					<u>+1:100</u>	<u>+1:50</u>						
<u>5-109</u> E25					<u>+1:50</u>	<u>+1:50</u>			<u>+1:50</u>	<u>+1:100</u>	<u>+1:200</u>	
<u>6-79</u> F26			<u>+1:50</u>	<u>+1:100</u>	<u>+1:50</u>	<u>+1:400</u>		<u>+1:50</u>		<u>+1:200</u>	<u>+1:400</u>	
<u>8-97</u> G27									<u>+1:200</u>	<u>+1:200</u>	<u>+1:200</u>	
<u>8-42</u> H28									<u>+1:200</u>	<u>+1:200</u>	<u>+1:100</u>	

Figura 4. Hoja de registro que constituyó hasta el año 2003, el soporte documental de la sección de Diagnóstico en Bacteriología del Mel FMVZ-UNAM. Tomada de: La sección de Diagnóstico en Bacteriología del Mel FMVZ-UNAM con la autorización de la Dra. Cristina Rodríguez Sánchez (Jefa de la sección).

JUSTIFICACIÓN

La importancia que tiene la leptospirosis en nuestro país se ve reflejada en el número importante de publicaciones en diferentes especies de animales (domésticos y silvestres) y el humano. El análisis de dichos estudios considerando las diferentes regiones del país, clima, tiempo y especies afectadas, permite conocer la situación de la enfermedad con fines epidemiológicos y a su vez orientan al clínico sobre las medidas de prevención y control que deben llevarse a cabo. Es por eso que, resulta de interés realizar un estudio retrospectivo de los casos de diagnóstico serológico para leptospirosis remitidos al Mel FMVZ-UNAM desde abril de 1989.

OBJETIVO GENERAL

Generar una base de datos electrónica con los resultados obtenidos del diagnóstico serológico, en la sección de Diagnóstico de Leptospirosis del Mel, FMVZ-UNAM de abril de 1989 a julio de 2004 para agilizar el análisis de la información generada.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Desarrollar un archivo electrónico utilizando el programa de computo Access® de Microsoft Office® para capturar toda la información contenida en cada una de las hojas de registro del Diagnóstico de Leptospirosis del Mel, FMVZ-UNAM en el periodo comprendido del año 1989 al año 2004.

2.- Realizar el ordenamiento del total de muestras remitidas al Mel, FMVZ-UNAM por especie animal, por año, por sexo y por edad para realizar el análisis de la información.

3.- Determinar la seropositividad, frecuencias y títulos de anticuerpos contra leptospiras patógenas en las muestras de suero remitidas al Mel, FMVZ-UNAM para conocer el grado de exposición de las diferentes especies animales.

4.- Comparar los resultados obtenidos con reportes serológicos de leptospirosis de la literatura a nivel nacional para su interpretación.

PROCEDIMIENTO

Creación de la hoja de registro electrónica

Con ayuda del programa Access® se creó una hoja electrónica para capturar toda la información contenida en las hojas de registro de la Sección de Diagnóstico de Leptospirosis del Mel, FMVZ-UNAM (Figura 5).

Captura de la información

Se capturó la información de las hojas de registro a partir del 7 de abril del año 1989, fecha en que re-inició el servicio de Diagnóstico de Leptospirosis hasta el 6 de julio del año 2004, fecha de corte para este estudio. La información de las hojas de registro fue capturada en las hojas electrónicas que incluye: Número de caso, fecha, nombre del propietario, dirección, número telefónico, localidad del remitente, historia clínica, tratamientos, inmunizaciones, especie animal, sexo, edad, raza, tipo de muestra, cantidad, condiciones de envío, hora de la toma de la misma, examen solicitado, serologías previas y tabla de resultados (Figura 5).

El análisis de la información se realizará a partir del conjunto de resultados obtenidos para cada muestra (suero problema).

Análisis de la información

Para el análisis descriptivo de los datos se dividieron las especies de acuerdo con la frecuencia de sus registros. Las que tuvieron 30 registros o menos se analizaron casuísticamente, mientras que especies con más de 30 registros se analizaron por frecuencias.

La base de datos generada en Access® fue exportada al programa Excel® para su análisis. Se elaboraron tablas de distribución de frecuencias por especie, mismas que se indican a continuación:

- a) Frecuencia de muestras recibidas por especie.
- b) Frecuencia de muestras recibidas por año.
- c) Distribución de frecuencia de serovariedades detectadas por especie.
- d) Títulos de anticuerpos detectados contra las diferentes serovariedades por especie.
- e) Distribución de frecuencia de seropositivos por sexo.
- f) Distribución de frecuencia de seropositivos por edades.



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Departamento de Microbiología e Inmunología
Sección de Leptospirosis

Caso No.:LEP Caso: B03- Fecha:

Región del País:

Región del D.F.:

Remitente: Tel.:

Especie: Raza:

Sexo: Edad:

Identificación: Muestra:

Signología:

Inmunización previa:

Resultados:	<input type="text" value="1:100"/>	<input type="text" value="Canicola"/>
	<input type="text" value="1:100"/>	<input type="text" value="Pomona"/>
	<input type="text" value="1:100"/>	<input type="text" value="Wolffi"/>

Serología previa, caso: B03-

Comentarios:

Figura 5. Hoja Electrónica diseñada en el programa Access®

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

De un total de 6,923 muestras procesadas remitidas al Departamento de Mel FMVZ-UNAM para el diagnóstico de leptospirosis del periodo comprendido entre abril de 1989 y julio de 2004. Únicamente, 6,810 muestras (98.38%) tienen el registro de la especie a la que pertenecen. Durante este periodo, se trabajaron muestras de 38 diferentes especies animales. Considerando como total 6,810 muestras, las especies animales que obtuvieron un mayor número de muestras procesadas fueron: Bovinos con 3,565 muestras (52.34%), caninos con 1,738 muestras (25.52%), porcinos con 945 muestras (13.87), equinos con 164 muestras (2.4%) y ciervo rojo con 160 muestras (2.3%), (Figura 6). En aquellas muestras en las que no se registró la especie de procedencia se les asignaron las leyendas varias (registros que se ingresaron con la leyenda varias especies, sin especificar cuales) y vacías (registros en los que se omitió la especie animal), dependiendo del número de muestras remitidas en un mismo número de caso (más de una y una respectivamente) (Cuadro 9).

La distribución de los casos considerando la característica sexo en especies con frecuencia \geq a 30 registros, reveló un mayor número de muestras remitidas de hembras para las especies: bovino, caprino, equino, porcino, ovino y ciervo rojo. Sin embargo, en la especie canina fue mayor el número de muestras remitidas a partir de machos (Cuadro 10 y Figura 7).

La distribución de casos por año se dio de la siguiente manera: para el año 1989 a partir del mes de abril la cantidad de muestras remitidas fue de 29, incrementándose para el siguiente año, con un total de 618 muestras remitidas;

durante los años de 1991 a 1998 el número de muestras remitidas en promedio fue de 312; para el año 1999 184 muestras y 279 en el año 2000 con registro de los meses de abril a diciembre debido a la huelga que se implantó la UNAM. En los años de 2002 y 2003 se observó un incremento considerable a 1,643 y 1,090 muestras respectivamente; un total de 220 muestras para el año 2004 en el que únicamente se registraron los meses de enero al 6 de julio, fecha de corte para este estudio. La leyenda vacías (10 muestras), corresponden a muestras en cuyo registro, no se anotó la fecha de ingreso (Cuadro 11 y Figura 8).

La relación de edad en años considerando a las especies productivas, reveló que la especie de los equinos fue en la que se obtuvo una mayor edad, con un promedio de 10.14 años seguida de los caninos con 4.95 años, bovinos con 3.49 años, caprinos con 2.90 años, ovinos 1.60 años, porcinos con 1.19 años y conejos 1 año. Es evidente que la edad en cada especie, tiene una relación directa con el fin zootécnico, de tal forma que, sería impreciso hacer una comparación entre las especies animales de acuerdo a este criterio (Cuadro 12 y Figura 9).

Entre las especies con frecuencia de registros \leq a 30, las muestras de dos antílopes reaccionaron con un título mayor hacia las serovariedades Grippotyphosa y Wolffi (1:400 respectivamente), seguido de las serovariedades Icterohaemorrhagiae y Pomona (1:100 respectivamente). En una de las dos muestras remitidas de canguro, se detectaron anticuerpos contra las serovariedades Bratislava (1:400) y Hardjo (1:100). En las cuatro muestras de cebra se detectaron anticuerpos contra las serovariedades Grippotyphosa, Hardjo y Wolffi (1:800 respectivamente), Bratislava (1:200), Hardjo, Pomona y Pyrogenes (1:100 respectivamente). En las tres muestras de cobayo se detectaron

anticuerpos contra las serovariedades *Canicola*, *Hardjo*, *Tarassovi* y *Sejroe* (todas con títulos de 1:200). Solamente una muestra de las cinco remitidas de felino doméstico, reaccionó contra las serovariedades de *Pyrogenes* (1:200) y *Canicola* (1:100). De igual forma, únicamente en una de las seis muestras de jaguar se detectaron anticuerpos contra las serovariedades *Canicola* (1:400) y *Hardjo* (1:1,600). De las 7 muestras remitidas de leopardo, únicamente cuatro mostraron anticuerpos contra las serovariedades *Bataviae* (1:200), *Grippotyphosa* (1:200), *Canicola* y *Pomona* (1:100 en ambas). En las cuatro muestras remitidas de lobo gris mexicano se detectaron anticuerpos contra las serovariedades *Canicola* (1:800, 1:400), *Ballum* (1:400), *Bataviae* (1:200), *Icterohaemorrhagiae* (1:200, 1:100) y *Pyrogenes* (1:100). En una de tres muestras de lobo marino se detectaron anticuerpos contra la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* (1:100). Una de cinco muestras de murciélago reaccionó contra la serovariedad *Hardjo* (1:200). La única muestra enviada de oso hormiguero reaccionó a la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* (1:100). De las tres muestras de panda gigante, únicamente una mostró anticuerpos contra la serovariedad *Canicola* (1:100). De cinco muestras remitidas de puma, solo una presentó anticuerpos contra la serovariedad *Pomona* (1:1,600). Las dos muestras remitidas de rinoceronte presentaron anticuerpos contra las serovariedades *Ballum* (1:400), *Grippotyphosa* (1:400) y *Tarassovi* (1:100). De las siete muestras remitidas de rumiantes silvestres, únicamente tres mostraron anticuerpos contra las serovariedades *Autumnalis* (1:100 y 1:200), *Ballum* (1:200), *Bataviae* (1:200) y *Pomona* (1:100). De cinco muestras de tapir, solo dos presentaron anticuerpos contra las serovariedades *Sejroe* (1:200), *Wolffi* (1:200), *Tarassovi* (1:100) y *Grippotyphosa* (1:100). En las

dos muestras remitidas de venado cola blanca se detectaron anticuerpos contra las serovariedades Canicola (1:100) y Hardjo (1:100) (Cuadro 13). La relación de seropositividad y sexo fue determinada, sin embargo, debido a que el número de muestras remitidas al Mel de las diferentes especies silvestres y felinos domésticos fue muy bajo, deben tomarse con cautela los resultados obtenidos para este análisis (Cuadro 14).

Las muestras remitidas al Laboratorio de Diagnóstico de Leptospirosis del Mel, FMVZ-UNAM fueron: suero para la realización del estudio serológico, sangre sin anticoagulante y orina para la realización del estudio microscópico y sangre sin anticoagulante, orina y riñón para el aislamiento (Figura 10).

La seropositividad obtenida en el presente análisis para especies animales con una frecuencia \geq a 30 fue: En bovinos (55%), caninos (44%), porcinos (39%), equinos (53%), ovinos (43%) y caprinos (68%) (Cuadro 15 y Figura 11).

Con base en el número de reacciones positivas (IgM-*Leptospira*) detectadas, los bovinos fueron la especie que ocupó el primer lugar con el 70.35% (4,355 reacciones), seguidos de los caninos con el 15.46% (961 reacciones), en tercer lugar los porcinos con el 9.78% (605 reacciones), en cuarto lugar los equinos con el 2.46% (152 reacciones), los caprinos en quinto lugar con el 1.19% (74 reacciones) y en sexto lugar los ovinos con el 0.7% (45 reacciones) (Cuadro 16).

La relación de seropositividad a una o más serovariedades de *Leptospira* entre machos y hembras de acuerdo a la especie fue: en bovinos, 31 machos (0.93%), 1,798 hembras (54.07%) y bovinos sin registro del sexo 1,496 (45.00%); en caninos, 352 machos (21.71%), 270 hembras (16.67%) y caninos sin registro del sexo 999 (61.62%); en porcinos, la relación fue 12 machos (1.69%), 258 hembras

(36.13%) y 444 (62.18%) porcinos sin registro el sexo; en equinos, 26 machos (19.12%), 56 hembras (41.18%) y 54 (39.70) equinos en los que no se registro el sexo; en ovinos, 8 machos (12.31%), 14 hembras (21.54%) y ovinos sin registro del sexo 43 (66.15%); en caprinos la relación fue 3 machos (4.84%), 36 hembras (58.06%) y caprinos sin registro del sexo 23 (37.10%) (Cuadro 17).

Las serovariedades más comúnmente detectadas en las especies con frecuencias de registros ≥ 30 fueron: en bovinos, Hardjo (806 reacciones), Tarassovi (647 reacciones), Wolffi (489 reacciones), Icterohaemorrhagiae (445 reacciones), Canicola (338 reacciones) y Grippytyphosa (323 reacciones) (Cuadro 18). El 52.10% de las reacciones (2,269) correspondió a títulos de 1:100 y el 0.18% (8) correspondió a títulos de 1:3,200, que fue el título máximo para algunos sueros, siendo las serovariedades Hardjo y Wolffi con las que se alcanzó este título (Cuadro 19 y Figura 12).

En los caninos, Canicola (373 reacciones), Icterohaemorrhagiae (166 reacciones), Pyrogenes (81 reacciones), Autumnalis (71 reacciones), Pomona (64 reacciones) y Grippytyphosa (38 reacciones) (Cuadro 18). El 91.64% de las reacciones (878), mostraron títulos de 1:100 a 1:400. Dos sueros reaccionaron con títulos de 1:3,200 con las serovariedades Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes respectivamente, que fue el título máximo alcanzado. Aunque para la serovariedad Canicola el título máximo fue 1:1,600 (6 reacciones), hacia ésta serovariedad se obtuvo el mayor número de reacciones (Cuadro 20 y Figura 12).

En los porcinos Icterohaemorrhagiae (124 reacciones), Autumnalis (77 reacciones), Canicola (56 reacciones), Tarassovi (43 reacciones) y Pomona (41 reacciones) (Cuadro 18). El 74.38% de las reacciones (450), mostraron títulos de

1:100 a 1:200 en donde destacaron las serovariedades Icterohaemorrhagiae, Autumnalis y Canicola. 14 sueros reaccionaron con títulos de 1:1,600 con las serovariedades Hebdomadis, Australis, Ballum, Canicola, Celledoni, Grippotyphosa, Hardjo e Icterohaemorrhagiae, siendo éste el título máximo alcanzado (Cuadro 21 y Figura 12).

En equinos, Pyrogenes (45 reacciones), Canicola (35 reacciones), Bratislava (32 reacciones), Autumnalis (22 reacciones) y Grippotyphosa (3 reacciones) (Cuadro 18). El 87.5% de las reacciones (133), mostraron títulos de 1:100 a 1:400 en donde se destacaron las serovariedades Pyrogenes, Bratislava y Canicola. Un suero reaccionó, alcanzando un título de 1:3,200 (título máximo) con la serovariedad Pyrogenes (Cuadro 22 y Figura 13).

En ovinos, Pomona (10 reacciones), Ballum (7 reacciones), Icterohaemorrhagiae (6 reacciones), Autumnalis (5 reacciones), Pyrogenes (3 reacciones) y Canicola (3 reacciones), Cuadro 18. El 80% de las reacciones (36), mostraron títulos de 1:100 a 1:200. Un suero reaccionó, alcanzando un título de 1:3,200 (título máximo) con la serovariedad Autumnalis (Cuadro 23 y Figura 13).

En caprinos, Pomona (24 reacciones), Icterohaemorrhagiae (12 reacciones), Autumnalis (8 reacciones), Pyrogenes (8 reacciones) y Canicola (5 reacciones) (Cuadro 18). El 94.60% de las reacciones (70), mostraron títulos de 1:100 a 1:200. Dos sueros reaccionaron alcanzando títulos de 1:800 (título máximo) con las serovariedades Pomona y Hardjo (Cuadro 24 y Figura 13).

De 5 muestras de suero de felinos domésticos remitidas a la sección de diagnóstico de Leptospirosis del Mel, resultó positiva 1 (20%), detectándose títulos de anticuerpos contra 2 serovariedades del cepario de prueba. Las serovariedades

Pyrogenes y Canicola fueron las serovariedades hacia las que hubo reacciones de aglutinación en la prueba de AM, mostrando títulos de 1:200 y 1:100 respectivamente, siendo el primero, el título máximo (Cuadro 25 y Figura 13).

Por otra parte, al analizar el uso de las diferentes cepas incluidas en la batería de trabajo para la prueba de AM durante los 15 años analizados en este estudio, se determinó que las serovariedades Autumnalis, Bataviae, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffi, independientemente de su origen, se mantuvieron constantes en el cepario de prueba. En el caso de la serovariedad Sejroe (2004), se suspendió su uso en el cepario de prueba. La serovariedad Australis se utilizó de 1989 a 1998, la serovariedad Ballum se utilizó de 1989 a 2002. La serovariedad Celledoni se usó de 1989 a 1996 (origen del CEPANZOO); al comenzar a utilizar el cepario del Instituto Pasteur, debido a que la serovariedad Celledoni no fue incluida en el cepario que se importó de Paris, se dejó de utilizar de 1997 a 2002. Con la importación por parte de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM de un nuevo cepario procedente del Centro Colaborador OMS/FAO de Referencia e Investigación sobre Leptospirosis,^c la serovariedad Celledoni se incluyó nuevamente en el cepario de trabajo para la prueba de AM a partir de 2003. La serovariedad Cynopteri se utilizó de 1989 a 1996 y después únicamente en el año 1998. La serovariedades Hebdomadis y Paidjan se utilizaron de 1989 a 1996, mientras que la serovariedad Szwajizak únicamente se utilizó de 1992 a

^c Laboratory of Microbiology and Pathology. Department of Health 63-79 George street. Brisbane, Queensland 4000 Australia.

1997. Para fines del análisis se debe considerar que la serovariedad Bratislava fue la única que se incluyó a partir del año 2003 (Cuadro 26).

Con relación al análisis de acuerdo a la edad (meses) para animales seropositivos con número de registros ≥ 30 , en la especie bovina, las edades en las que se obtuvo una mayor frecuencia fueron: 4-5 años (128 muestras), mientras que los animales seropositivos con mayor edad se ubicaron en el rango de 9 a 10 años (una muestra). De un total de 1,957 muestras seropositivas de bovinos, únicamente se reportó la edad en 432 muestras (22.07%). Para detalles ver Cuadros 15 y 27.

Para la especie canina, la edad en la que se obtuvo una mayor frecuencia fue: 4-5 años (82 muestras), mientras que los animales seropositivos con mayor edad se ubicaron en el rango de 15 a 16 años (5 muestras). De las especies de animales domésticos, en la especie canina se obtuvo los registros de edad más altos: 12-13 años (9 muestras), 13-14 años (8 muestras), 14-15 años (4 muestras) y como ya se había indicado, 15-16 años (5 muestras). De un total de 662 muestras seropositivas de caninos, únicamente se reportó la edad en 552 muestras (83.38%). Para ver detalles Cuadro 27.

En la especie porcina, animales entre 0-1 año de edad (27 muestras) fueron los que obtuvieron un mayor número de registros (87.09%), mientras que los animales seropositivos con mayor edad se ubicaron en el rango de tres a cuatro años (una muestra). De un total de 367 muestras seropositivas de porcinos, únicamente se reportó la edad en 31 muestras (8.44%). Para ver detalles Cuadro 27.

En la especie equina, únicamente se reportó la edad en una muestra (1.16%) de un total de 86 registradas correspondiendo al rango de edad de 11-12 años.

En la especie ovina, la edad en las que se obtuvo una mayor frecuencia fue: 1-2 años (8 muestras). Los animales seropositivos con mayor edad se ubicaron en el rango de 3 a 4 años (1 muestra). De un total de 32 muestras seropositivas de ovinos, únicamente se reportó la edad en 10 muestras (31.25%). Para ver detalles Cuadro 27.

En la especie caprina la edad en las que se obtuvo una mayor frecuencia fue: 1-2 años (2 muestras). Los animales seropositivos con mayor edad se ubicaron en el rango de 3 a 4 años (1 muestra). De un total de 45 muestras seropositivas de caprinos, únicamente se reportó la edad en 4 muestras (8.8%). Para ver detalles Cuadro 27.

En el Cuadro número 28 encontramos la frecuencia de edades en los animales con frecuencia de casos reportados ≤ 30 . Felino doméstico (gato), cebra, felino salvaje (puma), jaguar, panda gigante 1 muestra de cada uno con las siguientes edades 12 meses (1 año), 108 meses (9 años), 168 meses (14 años), 180 meses (15 años), 216 meses (18 años) respectivamente y por último 4 muestras de leopardo con 240 meses (20 años).

DISCUSIÓN

La leptospirosis es un problema de salud animal y también de salud pública en México y considerada la zoonosis más difundida en el mundo. Los primeros reportes de leptospirosis en México aparecen en 1919 en el estado de Yucatán y a través del tiempo se han publicado los resultados obtenidos en estudios serológicos realizados en diferentes estados de la República Mexicana, habiéndose logrado además, el aislamiento de diferentes serovariedades patógenas de *Leptospira* a partir de muestras de humanos, bovinos, porcinos y caninos.^{10,143,212,224,229,171,341}

Si bien la detección de anticuerpos contra diferentes serovariedades patógenas de *Leptospira* sugiere exposiciones previas en un determinado huésped, cuando dicha detección de anticuerpos resulta positiva (títulos $\geq 1:800$) con signología sugerente de leptospirosis o en muestras pareadas hay una seroconversión con incremento del título de cuatro veces con respecto al título inicial, en presencia de signología clínica significativa, los resultados de la serología toman relevancia. Más aún, cuando existen antecedentes de la enfermedad en la región y hay o han habido otros animales con signologías sugerentes de leptospirosis, se convierten en un posible indicador de una infección activa. La prueba de AM es reconocida como la prueba de referencia a nivel internacional, ya que es la única que permite establecer contra que serovariedad o serovariedades de *Leptospira* se ha montado una respuesta inmune específica, lo que infiere su presencia en el medio y en el huésped. De ahí que, el conocimiento acumulado de estudios serológicos en los animales y el humano sea fundamental para poder estructurar reportes

epidemiológicos, que orienten al clínico y a las autoridades sanitarias, sobre las serovariedades que por su mayor frecuencia de detección, pudieran ser causantes de enfermedad en las especies de la región en donde se detectaron. De igual forma, esta información puede orientar a los laboratorios productores de biológicos, sobre las serovariedades de *Leptospira* que deberían incluir en los inmunógenos comerciales de acuerdo a la especie animal y área geográfica del país.

El presente estudio es un análisis retrospectivo de la información sobre el diagnóstico serológico de leptospirosis realizado de abril de 1989 hasta julio de 2004 en la sección de Diagnóstico del Mel. Los resultados presentados no pretenden dar una interpretación de la realidad nacional, pero si, dar a conocer el patrón de detección de serovariedades y títulos por especie, raza, sexo y año en 6,810 muestras de un total de 6,923 remitidas durante 15 años de trabajo.

En el año de 1989 la cantidad de muestras que fueron remitidas fue muy pequeña, debido al reinicio del servicio de diagnóstico de leptospirosis, mediante la prueba de AM y la observación microscópica en CO en el Departamento de Mel. El servicio diagnóstico ya establecido, generó un incremento en el número de muestras remitidas de 1990 a 1998. Durante los años 1999 y 2000 únicamente se remitieron muestras al laboratorio del mes de enero al mes de abril, debido a la suspensión de las actividades a consecuencia de la huelga implantada por el CGH en todas las Facultades e Institutos de la Universidad Nacional Autónoma de México, con una duración de casi un año. Una vez normalizada la actividad del laboratorio en un 100%, para los años de 2002 y 2003 se registró un incremento considerable debido al establecimiento de convenios que se firmaron con algunos

laboratorios y ranchos particulares. Para el año 2004, año de corte para este estudio, únicamente se consideraron las muestras remitidas de los meses de enero a julio.

De un total de 38 especies de las que se remitieron muestras para el diagnóstico de leptospirosis, los bovinos fueron la especie más representativa con el 52.34% (3,565 muestras), seguidos de los caninos con 25.52% (1,738 muestras), los porcinos con 13.87% (945 muestras) y los equinos con el 2.4% (164 muestras). En el caso de los bovinos este hallazgo es consistente con el hecho de que el diagnóstico serológico de leptospirosis bovina es un diagnóstico de hato, por lo que el número de muestras que se remite a un laboratorio, siempre es de un grupo de animales representativo de la población a evaluar e incluso en ocasiones, de toda la población. Esta misma condición aplica para ovinos, caprinos y cerdos. Para los porcinos, los casos de leptospirosis son probablemente tan frecuentes como en los bovinos, a pesar de ello, esta condición no se vio reflejada en este estudio, debido que la mayor parte de las muestras de esta especie, son remitidas para su procesamiento al Departamento de Producción Animal Cerdos de la misma Facultad.

La leptospirosis equina en México, ha sido poco estudiada e inclusive, puede pasar desapercibida. Generalmente tiene una presentación subclínica y tiende a la cronicidad, en donde la oftalmia periódica es una secuela de la infección.

La especie canina ocupó el segundo lugar en cuanto a cantidad de muestras remitidas. La interacción tan estrecha con el humano, presupone riesgos importantes de salud, si no se lleva un adecuado control sanitario y medio ambiental de esta especie. Luna AMA,²²⁸ Mondragón VRL,²³⁹ Rojas SN,¹⁴³

Caballero A²⁴⁰ y Luna AMA²⁴⁴ reportan porcentajes de seropositividad que van del 16 al 100%, reportando en común a la serovariedad Canicola como la más frecuente en sus respectivos estudios. Más recientemente, Castillo SLO²²⁹ encontró una seropositividad de 61% en 59 perros del Centro de Control Canino “Luis Pasteur”, Aragón, Ciudad de México, donde las serovariedades Canicola (38.90%), Bratislava (38.80%) y Pyrogenes (32.20%) fueron las más comunes, mostrando títulos de hasta 1:6,400. Cinco aislados fueron obtenidos en muestras de riñón y orina de estos mismos animales.²²⁹

En 1997, López PM²⁵⁶ reportó un 89.30% de seroreactores positivos en un grupo de 106 equinos dedicados a la producción de sueros hiperinmunes, donde las serovariedades más comúnmente detectadas fueron: Australis, Autumnalis, Pomona, Celledoni, Szwajizak e Icterohaemorrhagiae.

Del total de muestras remitidas (6,923), únicamente 6,810 contaban con datos de la especie de animales domésticos, en 6,015 se reportó el sexo del animal del cual provenían (88.32%). 4,874 muestras (81.03%) procedía de hembras y 1,141 (18.97%) procedía de machos. Esta condición se cumplió para los bovinos, porcinos, caprinos, equinos y ovinos, excepto en los caninos, en los que de 1,621 muestras remitidas (en las que se reportó el sexo de los animales), 945 (58%) provenían de machos y 676 (42%) de hembras. En el caso de las especies productivas y los equinos, esta condición es natural, si consideramos que el número de hembras que se tienen en las unidades de producción es mayor al de los machos (sementales). En el caso de los caninos, esta condición podría explicarse debido a que los propietarios de esta especie prefieren a los machos sobre las hembras, a fin de evitar la inquietud conductual, atracción de perros

machos de origen desconocido, la extravasación de sangre, que se presentan durante la etapa del proestro que forma parte del ciclo reproductivo de las hembras y fecundaciones no deseadas.³⁴²

La especie bovina fue la especie animal en la que se encontró un mayor grado de exposición hacia leptospiras patógenas de las que se remitieron muestras para el diagnóstico serológico de leptospirosis, al Mel (Cuadros 15 y 18).

En las muestras de bovinos remitidas al Mel, se detectaron anticuerpos contra las 19 serovariedades del cepario de prueba, siendo las serovariedades Hardjo, Tarassovi, Wolffi, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippytyphosa y Pomona en las que se obtuvo una mayor frecuencia de detección. Las serovariedades Hardjo, Wolffi y Tarassovi, destacaron como las más frecuentes y podrían considerarse como las de mayor importancia, como se ha destacado en estudios realizados en México.^{128,141,144,151,152,153,157,160,170,171,172,176,178,179} Al igual que en este estudio, el 88% de los trabajos aquí citados, referentes a estudios serológicos en bovinos, se detectó a la serovariedad Hardjoprajitno entre las serovariedades predominantes y en el 52% de éstos fue la más frecuente. De acuerdo al análisis de la frecuencia de serovariedades detectadas, se determinó que existe concordancia entre los resultados obtenidos en diferentes trabajos realizados en México y los resultados obtenidos en el presente estudio, en donde las serovariedades Hardjo, Wolffi, Pomona, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Grippytyphosa, fueron las más frecuentes en bovinos en ese orden de importancia. Se debe considerar, sin embargo, que Hardjo y Wolffi son serovariedades del mismo serogrupo (Sejroe) entre las que existe cierta identidad antigénica que resulta en reacciones cruzadas con anticuerpos aglutinantes.¹⁹

Debido a la similitud antigénica entre las serovariedades Hardjo y Wolffi, se ha planteado la hipótesis de que las reacciones hacia ésta última, son sólo un reflejo de la exposición con la serovariedad Hardjo, lo cual daría lugar a un incremento en la frecuencia de reactores hacia dicha serovariedad. En este estudio, de un total de 3,556 muestras se observaron 806 reactores positivos a Hardjo (22.66%) de los cuales 489 (13.75%) reaccionaron también contra la serovariedad Wolffi, sin embargo, todos los sueros que reaccionaron contra Wolffi, reaccionaron también contra la serovariedad Hardjo (Cuadro 18).

Debido a que la leptospirosis es considerada una enfermedad de hato en los bovinos, la presencia de animales seropositivos detectados a través de la prueba de AM, es un indicativo de una exposición previa con serovariedades patógenas de *Leptospira*, situación que pudo haber dado origen a un estado de infección y por lo tanto un riesgo potencial de eliminación de leptospiras a través de la orina, con la subsecuente repercusión para la salud humana y animal. En caso de un cuadro clínico sugestivo de leptospirosis (cuadro abortivo), siempre que sea posible, se deben realizar muestreos pareados con dos a tres semanas de diferencia con respecto al primero, ya que la seroconversión en los títulos de los animales que cursan con una infección activa, permitirá establecer con mayor precisión la situación real del hato. Así mismo, es conveniente realizar monitoreos serológicos periódicos, que permitan evaluar el estado de salud del hato. El análisis de los resultados de 3,556 muestras de suero remitidas al Mel a partir de bovinos, reveló una seropositividad en 1,957 muestras (55%), la cual se encuentra por arriba del promedio obtenido a partir de los datos de seropositividad previamente reportada en estudios serológicos (AM) de bovinos en México,

citados en este estudio (39.52%). Las reacciones de aglutinación alcanzaron títulos de 1:100 a 1:3,200 (Cuadro 19). Determinar la seroprevalencia de leptospirosis por regiones o estados, es de gran importancia para definir a las serovariedades que deben estar incluidas en los inmunógenos comerciales, destinados a la prevención y control de los bovinos que habitan en una región con antecedentes de leptospirosis endémica. En los diferentes estados de la República Mexicana existen variaciones en las frecuencias de detección para las distintas serovariedades de *Leptospira*, lo cual es un indicativo del mantenimiento regional de esta espiroqueta y sugiere a su vez, el establecimiento de programas de prevención y control específicos, adecuados a las diferentes regiones geográficas del país.

De un total de 1,513 muestras de suero de caninos remitidas a la sección de diagnóstico de Leptospirosis del Mel, 662 (44%) resultaron positivas, detectándose títulos de anticuerpos contra las 19 serovariedades del cepario de prueba. Sin embargo, las serovariedades con una mayor frecuencia de detección fueron: Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Autumnalis, Pomona y Grippotyphosa. La mayoría de las reacciones en la prueba de AM, mostraron títulos entre 1:100 y 1:400, alcanzando en dos casos el título máximo que fue de 1:3,200 (Cuadro 20). La serovariedad Canicola ocupa el primer lugar en frecuencia en el 50% de los estudios realizados en México (citados en este estudio). Las serovariedades Canicola e Icterohaemorrhagiae que ocuparon el primero y segundo lugar en importancia, en las muestras remitidas al Mel respectivamente, han encabezando la lista de serovariedades detectadas en el 30% de los estudios realizados en México, citados en este trabajo.^{232,233,241} La serovariedad Pyrogenes que se ubicó

en el tercer lugar en importancia en las muestras de caninos remitidas al Mel, ha sido detectada en el 60% de los estudios realizados en México (citados en este estudio). La serovariedad Autumnalis, se detectó en cuarto lugar en las muestras remitidas al Mel, mientras que fue detectada únicamente en el 25% de los trabajos citados. Las serovariedades Pomona y Grippotyphosa que se detectaron en las muestras remitidas al Mel, ocupando los lugares quinto y sexto en importancia, han sido reportados en el 75% y en el 50% de los estudios serológicos respectivamente (citados en este estudio). Tanto en los resultados obtenidos, en las muestras de caninos remitidas al Laboratorio de Diagnóstico de Leptospirosis del Mel, de la FMVZ-UNAM, como en diferentes estudios realizados en México, las serovariedades Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes y Grippotyphosa, se detectaron en común, aunque con diferente orden, dentro de las seis más importantes en caninos. Como ya se ha mencionado, las serovariedades Canicola e Icterohaemorrhagiae son las serovariedades más comúnmente asociadas con el perro, destacando que la mayoría de los casos cursan en forma subclínica, siendo mayor el número de perros que no manifiestan signología clínica y presentan títulos positivos contra *Leptospira*, que el número de perros que son diagnosticados clínica y serológicamente con la enfermedad. Por otro lado, la signología de la enfermedad varía ampliamente, llegando a ser en ocasiones inespecífica, razón por la cual es difícil establecer un diagnóstico definitivo desde un punto de vista clínico.^{225,235,237,343} La trascendencia de la infección con leptospiros patógenas en los caninos, radica en el estado de portadores asintomáticos y diseminadores de leptospiros, que es muy frecuente y desafortunadamente, no puede ser detectado clínicamente. Estos portadores

asintomáticos, constituyen un factor de riesgo para la salud de otros huéspedes susceptibles (animales y humanos). Dicha situación, toma relevancia si se considera que en humanos, la serovariedad Canicola destaca como la serovariedad más importante, asociada a cuadros de enfermedad, sin descartar a otras como Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa y Pomona.^{344,345} Datos actualizados confirman que en México la leptospirosis en humanos ha sido documentada mediante estudios serológicos en los que las serovariedades Shermani, Canicola, Pyrogenes, Pomona e Icterohaemorrhagiae han sido detectadas.^{79,346} Es necesario hacer énfasis en que las serovariedades Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona y Pyrogenes que han sido detectadas frecuentemente en humanos, son de las serovariedades que frecuentemente se detectan en caninos. A pesar de que los caninos no son una especie productiva, el ser una especie de compañía, la convierte en la especie animal que tiene una mayor convivencia con el humano y en una de sus principales fuentes de infección. Los resultados obtenidos en las muestras de caninos remitidas al Mel sugieren, que la exposición de esta especie con leptospiras patógenas, es más frecuente de lo que se cree, en donde los portadores asintomáticos que actúan como transmisores y diseminadores de esta espiroqueta en el ambiente, tienen una participación fundamental. La interacción entre perros con dueño pero, que pasan gran parte del día fuera de su domicilio y perros sin dueño que deambulan libremente por las calles, constituye una de las causas más comunes de infección para las mascotas, que en estas circunstancias, al eliminar leptospiras patógenas, las transmiten a sus propietarios. En zonas marginadas, los factores ambientales (regiones de clima húmedo,

templado o cálido en época de lluvias) favorecen la supervivencia de leptospiras en nichos que permiten mantener la humedad, fuentes naturales de agua y asentamientos temporales de agua por las características del terreno. Por otro lado, una infraestructura sanitaria deficiente (falta de drenaje, de alcantarillado, de servicio de agua potable permanente, ubicación cercana de tiraderos de basura y alta prevalencia de roedores en la zona), así como una considerable población de perros sin dueño, aumentan el riesgo potencial de exposición del humano a leptospiras patógenas.

Es necesario que los propietarios de mascotas y la población en general, estén conscientes del riesgo potencial que implica convivir con animales que no han tenido una evaluación médica y no han sido oportunamente vacunados ni desparasitados, lo cual perpetúa el ciclo epidemiológico de diferentes zoonosis. Son necesarias acciones encaminadas a reforzar la educación para la salud, promover la importancia del uso de los servicios médicos veterinarios para lograr en conjunto, prevenir zoonosis como la leptospirosis y en su caso dar atención oportuna a los animales con evidencias de infección confirmadas por laboratorios de diagnóstico especializados, en beneficio de la salud animal y humana. Por lo anterior, una realización periódica de estudios serológicos, para aquellos caninos que tengan una convivencia muy estrecha con sus propietarios, es aconsejable.

En México se han realizado estudios serológicos en la especie porcina que demuestran, la presencia de anticuerpos contra diferentes serovariedades de *Leptospira*, prácticamente en todo el país.

De 942 muestras de suero de porcinos remitidas a la sección de diagnóstico de Leptospirosis del Mel, 367 (39%) resultaron positivas. La seropositividad obtenida

en este trabajo coincide con lo reportado en el año 2000 por Cisneros *et al.*, quienes realizaron un análisis de resultados de leptospirosis porcina en México y obtuvieron una seropositividad de 39.80% (784 seropositivos de 1970 porcinos),²⁰⁸ pero, se encuentra por encima del valor de seropositividad promedio, obtenido a partir de los reportes en la literatura citados en este trabajo (35.08%). En los 367 sueros positivos detectaron títulos de anticuerpos contra las 19 serovariedades del cepario de prueba. Sin embargo, las serovariedades con una mayor frecuencia de detección fueron: Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Canicola, Tarassovi, Pomona y Ballum. La mayoría de las reacciones en la prueba de AM, mostraron títulos entre 1:100 y 1:200, mientras que el título máximo alcanzado fue de 1:1,600 (Cuadro 21). De los 29 trabajos aquí citados referentes a estudios serológicos realizados en porcinos de México, en 25 (86.20%) se reportaron anticuerpos contra algunas de las serovariedades detectadas en este estudio.^{191,194,195,196,197,198,199,200,143,201,202,203,204,205,206,207,210,208,212,213,211,214,215}

Al igual que en este análisis, el estudio serológico realizado por Vargas y colaboradores²¹¹ detectó a la serovariedad Icterohaemorrhagiae como la más frecuente en porcinos de Irapuato. De los 29 trabajos aquí citados, en 16 (55.17%), la serovariedad Icterohaemorrhagiae se ubicó entre las tres más frecuentes.^{143,191,199,200,201,202,203,206,207, 208,209,210,211,212,214}

Debe puntualizarse, que en el laboratorio de diagnóstico de leptospirosis del Mel de la FMVZ-UNAM, no se contaba con las serovariedades Bratislava, Panama ni Shermani en el cepario de referencia, razón por la cual no se incluyeron en el diagnóstico durante muchos años, convirtiéndose en una desventaja para la detección de éstas serovariedades que han sido frecuentemente reportadas en los

cerdos. De éstas, la serovariedad Bratislava se ubica como la más frecuentemente detectada en la especie porcina, como lo demuestran diferentes estudios realizados por AM en México, en granjas con problemas reproductivos.^{202,203,205, 206,207,208,213,214,215}

La presencia de anticuerpos contra la serovariedad Icterohaemorrhagiae (más frecuente en el presente análisis), pudiera estar asociada con la presencia de ratas (reservorios naturales para dicha serovariedad),³ las cuales hacen su aparición en las corraletas durante la noche, atraídas por el alimento.

De un total de 161 muestras de suero de equinos remitidas a la sección de diagnóstico de Leptospirosis del Mel, resultaron positivas 86 (53%), lo cual se ubica por debajo del promedio de seropositividad obtenido de los estudios citados en este trabajo (61.76%). Se detectaron títulos de anticuerpos contra 15 de las serovariedades utilizadas en el cepario de prueba, siendo Pyrogenes, Canicola, Bratislava, Autumnalis, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae las más frecuentes. La mayoría de las reacciones en la prueba de AM, presentó títulos entre 1:100 y 1:400, mientras que un suero reaccionó, alcanzando un título de 1:3,200 que fue el título máximo (Cuadro 22). Dichas serovariedades han sido detectadas en diferentes estudios realizados en México, pero con diferentes frecuencias.^{254,255,256,257} No se detectaron anticuerpos contra las serovariedades Celledoni, Paidjan, Sejroe ni Wolffi. Un análisis de las serovariedades detectadas en equinos de México (considerando los estudios aquí citados), reveló que las serovariedades Pomona, Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes y Hardjo fueron las más frecuentes en equinos de México, mostrando una concordancia con las serovariedades detectadas en el laboratorio de diagnóstico de

leptospirosis del Mel de la FMVZ-UNAM, aunque con diferente orden de frecuencia.

Es evidente que el número de trabajos realizados en la especie equina en nuestro país resulta bajo, en comparación con lo realizado en otras especies, debido en parte a que la enfermedad no ha sido estudiada con detalle en esta especie, ya que la severidad de los signos clínicos es menor que en otras especies. Se han asociado la oftalmia periódica, fiebre y anorexia con la infección por *Leptospira*, aunque en casos graves se puede presentar aborto, ictericia, hemoglobinuria y la muerte de potrillos.

De 75 muestras de suero de ovinos remitidas a la sección de diagnóstico de Leptospirosis del Mel, resultaron positivas 32 (43%), detectándose títulos de anticuerpos contra 13 serovariedades del cepario de prueba. Las serovariedades Pomona, Ballum, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Canicola y Pyrogenes fueron las que obtuvieron una mayor frecuencia de detección (Cuadro 18). La mayoría de las reacciones en la prueba de AM, mostraron títulos entre 1:100 y 1:200, mientras que un suero reaccionó, alcanzando un título de 1:3,200 que fue el título máximo (Cuadro 23). No se detectaron anticuerpos contra las serovariedades Australis, Bratislava, Grippotyphosa, Hebdomadis, Sejroe ni Wolffi. Un estudio realizado en México reportó una seropositividad del 1.28%, destacando a las serovariedades Pyrogenes y Hebdomadis en ovinos criollos y Bratislava en ovinos importados de Estados Unidos.²⁷² En el caso de los caprinos, de un total de 68 muestras serológicas remitidas a la sección de diagnóstico de Leptospirosis del Mel, resultaron positivas 45 (68%), detectándose títulos de anticuerpos contra 14 serovariedades del cepario de prueba. Las serovariedades con una mayor

frecuencia fueron: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Pyrogenes, Canicola y Hardjo (Cuadro 18). La mayoría de las reacciones en la prueba de AM, mostraron títulos entre 1:100 y 1:200, mientras que el título máximo alcanzado fue de 1:800 (Cuadro 24). La seropositividad obtenida en las muestras de pequeños rumiantes remitidas al Mel (43% para ovinos y 68% para caprinos), se encontró por encima del promedio de seropositividad reportado en la literatura citada en este trabajo (1.28% y 30.62% respectivamente). Cabello y De la Peña reportaron los resultados obtenidos en un estudio serológico de un hato de 58 caprinos que mostraron aborto, partos prematuros y mortinatos en el estado de Querétaro, en donde la seropositividad fue de 97.05% y las serovariedades más frecuentes fueron Autumnalis, Cynopteri, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae y Hardjo.²⁷⁴ A pesar, de que las manifestaciones clínicas de leptospirosis han sido descritas en ovinos y caprinos de México, no se comparan en número con los reportes existentes en bovinos y cerdos. La realización de estudios bajo diferentes condiciones, orientados a detectar la exposición en los pequeños rumiantes y a confirmar la infección con leptospiras patógenas en las diferentes regiones ecológicas del país, permitirá conocer de una manera más precisa, la epidemiología de la leptospirosis en pequeños rumiantes.

La sección de diagnóstico de Leptospirosis del Mel, recibió tan solo 5 muestras de suero de felinos domésticos, de las que se obtuvo una seropositividad del 20% (1/5), no obstante, esta seropositividad debe tomarse con reserva, debido a que el número de muestras es pequeño. Los títulos de anticuerpos fueron 1:100 y 1:200 hacia las serovariedades Canicola y Pyrogenes respectivamente, siendo este último el título máximo (Cuadro 25). Los títulos de anticuerpos detectados en esta

especie hacia diferentes serovariedades de *Leptospira* corresponden en su mayoría a 1:50, alcanzando en algunos casos títulos de 1:100 a 1:400, sin embargo, no es común la asociación de estos últimos con signología clínica sugerente de leptospirosis.^{283,284} En felinos domésticos de México, todavía son pocos los estudios realizados a la fecha comparado con lo realizado en otras especies, incluyendo pequeños rumiantes. Las dificultades en el manejo de esta especie, conducen al uso de tranquilizantes para la toma de muestras clínicas, lo cual en muchos casos, no es permitido por los propietarios cuando no hay signos clínicos que lo justifiquen. La seropositividad reportada en estudios realizados en nuestro país va del 7.7% al 33%, diferencia que podría explicarse debido al ambiente en el que se encontraban los gatos. Se han detectado anticuerpos contra las serovariedades Canicola, Szwajizak, Grippotyphosa, Patoc, Panama, Budapest, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Ballum y Cynopteri. En contraste, Bryson and Ellis (1976), Everard et al., (1979) y Shophet (1979), reportaron las serovariedades Bratislava, Shermani, Panama, Copenhageni, Hardjo, Ballum, Pomona y Balcanica en estudios realizados en felinos de diferentes países.^{275,276,278,280} Considerando que en ambos estudios no se encontró relación alguna sugerente de leptospirosis al contrastar los resultados de la serología con el cuadro clínico de los felinos, resulta evidente que el papel del gato doméstico como portador y diseminador de leptospirosis patógenas no se ha definido plenamente en la actualidad.^{283,284}

Las muestras remitidas de diferentes especies de fauna silvestre, revelaron la presencia de anticuerpos contra diferentes serovariedades patógenas, con títulos que van desde 1:100 hasta 1:800. Este tipo de fauna incluye a una amplia

variedad de animales portadores asintomáticos, muchos de los cuales son considerados reservorios naturales de leptospiras patógenas^{292,294} Cirone *et al.*, encontraron que el 75% de los animales silvestres en estado libre que examinaron, presentaban anticuerpos contra *Leptospira*, siendo las serovariedades más frecuentes: Autumnalis, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae y Australis.²⁹⁵

Debido a que estas especies animales no presentaban antecedentes previos de inmunización contra *Leptospira*, podría considerarse que la presencia de anticuerpos específicos, es el resultado de la infección natural. Las muestras remitidas de herbívoros no rumiantes (canguro, cebra, panda, rinoceronte y tapir) presentaron anticuerpos contra las serovariedades Ballum, Bratislava, Canicola, Grippytyphosa, Hardjoprajitno, Pomona, Pyrogenes y Wolffi con un rango en los títulos de 1:100 a 1:800.

Las muestras de herbívoros rumiantes (antílope, rumiante y venado) presentaron anticuerpos contra las serovariedades Autumnalis, Ballum, Bataviae, Canicola, Grippytyphosa, Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Wolffi con un rango en los títulos de 1:100 a 1:400. La susceptibilidad de los herbívoros a diferentes serovariedades patógenas ha sido demostrada por diferentes autores.^{347,348} Entre las serovariedades de *Leptospira* patógenas que han sido detectadas en rumiantes silvestres (alce canadiense, venado cola blanca) en otros trabajos, se han reportado: Grippytyphosa, Pomona, Canicola, Australis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Tarassovi, Georgia, Ballum, Sejroe y Bataviae.^{296,349,350} El 70% de las serovariedades de *Leptospira* detectadas en las

muestras remitidas al Mel procedentes de herbívoros silvestres, coincide con las serovariedades que han sido reportadas por los autores anteriormente citados.

En las muestras remitidas (con número \leq a 30) de carnívoros (gato, jaguar, leopardo, lobo gris y puma) se detectaron anticuerpos contra las serovariedades Ballum, Bataviae, Canicola, Grippytyphosa, Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Pyrogenes con un rango en los títulos de 1:100 a 1:800. En un estudio realizado en el zoológico de Chapultepec las serovariedades detectadas en carnívoros (león africano, pantera, coyote, lobo ártico y tigre) fueron: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Hebdomadis, Pomona y Grippytyphosa.³⁰⁰ Esto revela que el 75% de las serovariedades de *Leptospira* detectadas en las muestras remitidas al Mel procedentes de carnívoros (con número \leq a 30), coincide con las serovariedades que han sido reportadas en estudios previos.

Un oso hormiguero presentó anticuerpos contra la serovariedad Icterohaemorrhagiae, con un título de 1:100. No existen reportes referentes a la infección de esta especie con leptospiras patógenas y su participación como reservorios de la bacteria en la epidemiología de la leptospirosis.

Un lobo marino presentó anticuerpos contra la serovariedad Icterohaemorrhagiae, con un título de 1:100. En el estudio realizado en el zoológico de Chapultepec, se procesó una muestra de león marino (*Zalophus californianus*), detectándose únicamente anticuerpos contra la serovariedad Icterohaemorrhagiae.³⁰⁰ En leones marinos de las costas del Pacífico se ha detectado predominantemente la serovariedad Pomona (1:100 a 1:6,400), como causante de aborto en esta especie,³⁵¹ mientras que en leones marinos jóvenes localizados en las islas del

Golfo de California, la serovariedad predominante fue Hardjoprajitno (1:320), sin presentar éstos signología clínica.⁸⁷

Estudios más recientes en lobos marinos de las Islas Galapagos, Ecuador, muestran una frecuencia del 45.45% para *Arctocephalus galapagoensis*, detectandose las serovariedades Australis, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi. Mientras que para *Zalophus californianus wollebaeki* se encontró una seropositividad del 57.60%, detectandose las serovariedades Australis, Patoc y Hebdomadis como las más frecuentes respectivamente.⁸⁸

Un murciélago presentó anticuerpos contra la serovariedad Hardjoprajitno, con un título de 1:200. No existen reportes con respecto al papel que tienen los murciélagos en la transmisión o diseminación de *Leptospira* ni el tipo de serovariedades con que pueden infectarse. La cepa 3522 C correspondiente a la serovariedad Cynopteri fue aislada en 1938 por Collier y Mochtar a partir de un riñón de un murciélago (*Cynopterus*), capturado en Jacarta (Batavia), Java, Indonesia. La cepa no resultó patógena para ratones o cuyes. Pruebas de aglutinación cruzada realizadas en el Instituto Eijkman Jacarta, mostraron que la cepa no estaba relacionada a ninguna de las serovariedades disponibles y por lo tanto ellos la consideraron una nueva serovariedad.³⁵² No obstante, considerando que la serovariedad Hardjoprajitno es albergada primordialmente por los bovinos y tomando en cuenta que las especies de murciélagos hematófagos con hábitos nocturnos, tienden a ponerse en contacto con los bovinos, a partir de los cuales obtienen sangre para alimentarse, es posible que de esta manera, adquieran leptospiras patógenas (como la serovariedad Hardjo) presentes en la sangre del

bovino, generando una respuesta inmune contra ésta, sin embargo, no existen reportes que confirmen este hallazgo.

Tres cobayos, presentaron anticuerpos contra las serovariedades Canicola, Hardjoprajitno, Sejroe y Tarassovi. Como ya se ha descrito, el modelo animal para el estudio de la leptospirosis utiliza cobayos y hámsteres, los cuales al ser infectados con leptospirosis patógenas manifiestan cuadros de leptospirosis aguda que permiten hacer seguimiento del desarrollo de la enfermedad y posterior a su muerte, hacer descripción de las lesiones en los diferentes órganos. Cobayos, hámsteres y gerbos pueden morir como resultado de la infección con cepas virulentas de *Leptospira*. Al igual que en otras especies animales, los más jóvenes son más susceptibles a la infección, aunque los adultos también se infectan y desarrollan la enfermedad. Se ha visto la recuperación de cobayos posterior a un cuadro de enfermedad leve, (usualmente, 5 a 8 días después de la infección), mejorando la apariencia del pelo, hay recuperación del apetito y de la condición corporal. Algunos de estos animales pueden permanecer como portadores y la orina contiene variable número de leptospirosis. A la necropsia los riñones se encuentran aumentados de tamaño, pálidos, con aspecto granular en su superficie y cortes histológicos revelan la presencia de abundantes leptospirosis en túbulo renales. Debido a que la leptospirosis es usualmente inducida en el laboratorio, la presencia de anticuerpos en estas especies, son indicativos de una infección adquirida de otro animal de experimentación o a partir de un animal externo, usualmente roedores.³ El diagnóstico serológico para éstas especies, no se solicita de rutina, a menos que se realicen monitoreos periódicos de la colonia para comprobar que no se han expuesto a *Leptospira*.

En animales de zoológico, se ha informado de casos de leptospirosis en rumiantes exóticos, en los que se sugiere que es autolimitante, ya que los animales se recuperan espontáneamente después de las primeras etapas de la enfermedad, para permanecer como portadores.³⁵³ En un estudio realizado en el zoológico de Chapultepec se determinó que títulos de anticuerpos contra *Leptospira* se encuentran ampliamente difundidos entre las especies animales que ahí habitan, en donde el tipo de serovariedades detectadas, así como la frecuencia de las mismas corresponde más al tipo de leptospiras de la localidad en donde se ubica el zoológico, que a las especies animales ahí alojadas. Podría ser importante la participación de la fauna nociva (ratas y ratones) que llegan al zoológico atraídos por la presencia de alimento *ad libitum* que se da a los animales en exhibición. Esta fauna nociva, se relaciona con la serovariedad Icterohaemorrhagiae, la cual fue la serovariedad más frecuente en la población de los animales del zoológico evaluados.³⁰⁰

A lo largo del tiempo, el origen de las cepas que se han utilizado en diferentes laboratorios de México que realizan la prueba de AM, ha sido diverso, lo cual ha generado, diferencias en los resultados para una misma muestra de suero enviada a dos laboratorios que tienen implementada la prueba de AM. Esto ha traído como consecuencia, confusión en los usuarios para la toma de decisiones en la bacterinización de los animales y desconfianza en el trabajo de los laboratorios. En el año 2003, la FMVZ-UNAM a través del líder del Grupo de Investigación en *Leptospira* y Leptospirosis^e realizó las gestiones necesarias para la importación de 29 cepas de referencia de *Leptospira* procedentes del Centro Colaborador

^e Comunicación personal. De la Peña-Moctezuma A

OMS/FAO de Referencia e Investigación sobre Leptospirosis,^c con la finalidad de constituir un cepario de referencia nacional y poner fin a las diferencias en los resultados emitidos entre laboratorios de diagnóstico especializado en leptospirosis. En el año 2003 se reunieron representantes del Centro Nacional de Sanidad Animal (CENASA), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP, Palo Alto) y de la Universidad Autónoma Metropolitana Plantel Xochimilco (UAM-X), aceptando la utilización y distribución de un cepario único a nivel nacional para la prueba de AM. La distribución y reposición de las cepas de referencia de *Leptospira*, entre las instituciones antes mencionadas y toda la red de Laboratorios de Diagnóstico, dependientes del sector salud, así como la impartición continua de un curso taller, para la unificación de los criterios de estandarización e interpretación de la prueba de AM, quedó bajo la responsabilidad del InDRE. Este hecho constituye uno de los logros más importantes en el diagnóstico de leptospirosis en México, que tiene como la finalidad, lograr un servicio diagnóstico unificado.

^c Laboratory of Microbiology and Pathology. Department of Health 63-79 George street. Brisbane, Queensland 4000 Australia.

CONCLUSIONES

La creación de la base de datos electrónica para el registro de los resultados de AM generados en el MeI FMVZ-UNAM permite de manera ágil, realizar el análisis de parámetros referentes a leptospirosis en animales tales como frecuencia de seropositivos por especie, raza, sexo y edad.

Para optimizar la utilidad de esta herramienta electrónica y obtener análisis de resultados más completos, se requiere que el llenado de las hojas de registro para muestras remitidas al MeI FMVZ-UNAM sea cubierto en su totalidad.

La implementación de sistemas electrónicos para el resguardo de la información generada en los laboratorios de servicios diagnósticos, permitirá la realización de análisis detallados de acuerdo al interés del laboratorio y su potencial publicación y difusión en foros científicos.

Las frecuencias de serovariedades de *Leptospira*, obtenidas a partir del análisis de los resultados de estudios serológicos realizados en el MeI, FMVZ-UNAM, confirman las serovariedades más frecuentemente reportadas en la literatura.

Las tres serovariedades más frecuentes en las diferentes especies domésticas fueron: en bovinos Hardjo, Tarassovi y Wolffi; en caninos Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pyrogenes; en porcinos Icterohaemorrhagiae, Autumnalis y

Canicola; en equinos Pyrogenes, Canicola y Bratislava; en ovinos Pomona, Ballum e Icterohaemorrhagiae; en caprinos Pomona, Icterohaemorrhagiae y Autumnalis; en felinos Canicola y Pyrogenes.

Los resultados obtenidos en el presente estudio contribuyen al conocimiento de la frecuencia de anticuerpos contra serovariedades patógenas de *Leptospira* en diferentes especies animales domésticas y silvestres de México, permitiendo además, el monitoreo de frecuencias a través del tiempo.

REFERENCIAS

1. Weil A. Ueber eine eigentumliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit. Deutsche Arch Klin Med 1886; 39:209.
2. Landouzy LTJ. Fie`vre bilieuse ou he´patique. Gaz. Hoˆpital 1883; 56:809.
3. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira and Leptospirosis*, 2nd. ed. Melbourne, Australia. MediSci. 1999.
4. Inada R, Ido Y, Hoki R, Kaneko R, Ito H. The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease. (Spirochaetosis icterohaemorrhagica). J Exp Med 1916; 23:377-402.
5. Stimson AM. Note on an organism found in yellow-fever tissue. Public Health Rep 1907; 22:541.
6. Ido Y, Hoki R, Ito H, Wani H. The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, the causative agent of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica). J Exp Med 1917; 26:341-353.
7. Uhlenhuth P, Fromme W. Experimentelle untersuchungen uber die infektionsmodus. Die epidemiologie und serumbehandlung der weilschen krankheit (icterus infectiosus). II Mitteilung. Zeitschrift fur immunitatsforschung und experimentelle Therapie. I, originale (1908-1923; 1-39-104). 1919; 28:1.
8. Klarenbeek A, Schuffner WAP. Het voorkomen van een afwijkend leptospira-ras in Nederland. Ned Tijdschr Geneesk 1933; 77:4271-4276.
9. Alston JM, Broom JC. Leptospirosis in man and animals. E & S Livingstone, Edinburgh, UK 1958.

10. Noguchi H, Kliger J. Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated from a case of yellow fever in Mérida, Yucatán. J Exp Med 1920; 32:627-637.
11. García SR. Leptospirosis en humanos, situación en México. Memorias del Simposio Internacional sobre *Leptospira* y Leptospirosis en las Americas, México 2004; 2004 febrero 2-4; México (Distrito Federal) México. México (DF): FMVZ-UNAM, UAM, InDRE-SA, CENID-MICROBIOLOGIA-INIFAP, SENACICA, SAGARPA, 2004: Memorias en formato electrónico.
12. Hovind-Hougen K. *Leptospiraceae*, a new Family to include *Leptospira* Noguchi 1917 and *Leptonema*, gen. nov. Int J Syst Bacteriol 1979; 29:245-251.
13. Krieg RN, Holt GJ. Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1 Williams & Wilkins Baltimor/London 1984.
14. Hookey JV, Bryden J, Gatehouse L. The use of 16S rDNA sequence analysis to investigate the phylogeny of *Leptospiraceae* and related spirochaetes. J Gen Microbiol 1993; 139:2585-2590.
15. Adler B and De la Peña M. *Leptospira*. In:Gyles LC, Prescott FJ, Songer GL, Thoen OC, editors. Pathogenesis of bacterial infections in animal. Ames Iowa USA: Blackwell Publishing, 2004:385-396.
16. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14:296-326.
17. Yasuda PH, Steigerwalt AG, Sulzer KR, Kaufmann AF, Rogers F, Brenner, DJ. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with proposals for seven new *Leptospira* species. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:407-415.

18. Ramadass P, Jarvis BDW, Corner RJ, Penny D, Marshall RB. Genetic characterizations of pathogenic *Leptospira* species by DNA hybridization. *Int J Syst Bacteriol* 1992; 42:215-219.
19. Ellis WA, Thiermann BA, Marshall BR. Genotypes of *Leptospira hardjo* and their role in clinical disease. *Proceedings of the 14th World Congress on Diseases of Cattle, Dublin Ireland* 1986:966-970.
20. Andersen B, Huogen HKA, Petersen BC. Electron microscopy of *Leptospira* strain Pomona. *Act Pthol Microbiol Scandinav* 1973; 81:665-676.
21. Holt S. Anatomy and chemistry of spirochetes. *Microbiol Rev* 1978; 42:114-160.
22. Yanagawa R, Faine S. Morphological and serological analysis of leptospiral structure. *Nature* 1966; 211:823-826.
23. Vinh T, Adler B, Faine S. Ultrastructure and chemical composition of lipopolysaccharide extracted from *Leptospira interrogans* serovar *copenhageni*. *J Gen Microbiol* 1986; 132:103-109.
24. Berg HC, Bromley BD, Charon WN. Leptospiral motility. In: Stanier YR, Rogers JH, Ward BJ editors. *Relations between structure and function in the prokaryotic cell*. 28th Symposium of the Society for General Microbiology. Cambridge University U.K. Press, 1978:285-294.
25. Nauman KR, Holt CS, Cox DC. Purification, ultrastructure, and composition of axial filaments from *Leptospira*. *J Bacteriol* 1969; 98:264-280.
26. Bromely BD, Charon WN. Axial filament involvement in the motility of *Leptospira interrogans*. *J Bacteriol* 1979; 137:1406-1412.

27. Woodward MJ, Redstone SJ. Deoxynucleotide sequence conservation of the endoflagellin subunit protein gene, *flaB*, within the genus *Leptospira*. *Vet Microbiol* 1994; 40:239-251.
28. Li C, Motaleb A, Sal M, Goldstein SF, Charon NW. Spirochete periplasmic flagella and motility. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2000; 2:345-354.
29. Picardeau M, Brenot A, Saint-Girons I. First evidence for gene replacement in *Leptospira spp.* Inactivation of *Leptospira biflexa flaB* results in non-motile mutants deficient in endoflagella. *Mol Microbiol* 2001; 40:189-199.
30. Haake DA, Walker EM, Blanco DR, Bolin C, Miller JN, Lovett MA. Changes in the surface of *Leptospira interrogans* serovar *grippityphosa* during in vitro cultivation. *Infect Immun* 1991; 59:1131-1140.
31. Haake DA. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiol* 2000; 146:1491-1504.
32. Cullen PA, Cordwell SJ, Bulach DM, Haake DA, Adler B. Global analysis of outer membrane proteins from *Leptospira interrogans* serovar Lai. *Infect Immun* 2002; 70:2311-2318.
33. Cinco M, Perticarari S, Presani G, Dobrina A, Liut F. Biological activity of a peptidoglycan extracted from *Leptospira interrogans* in vitro studies. *J Gen Microbiol* 1993; 139:2959-2964.
34. Cinco M, Vecile E, Murgia R, Dobrina P, Dobrina A. *Leptospira interrogans* and *Leptospira* peptidoglycans induce the release of tumor necrosis factor alpha from human monocytes. *FEMS Microbiol Lett* 1996; 138:211-214.
35. Brenot A, Trott D, Saint-Girons I, Zuerner R. Penicillin-binding proteins in *Leptospira interrogans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:870-877.

36. Mitchison M, Bulach MD, Vinh T, Rajakumar K, Faine S, Adler B. Cloning and analysis of the rhamnose biosynthesis genes of the *rfb* locus involved in LPS biosynthesis in *Leptospira interrogans* serovar *copenhageni*. J Bacteriol 1997; 179:1262-1267.
37. Jost BH, Adler B, Faine S. Reaction of monoclonal antibodies with species specific determinants in *Leptospira interrogans* outer envelope. J Med Microbiol 1988; 27:51-57.
38. Zuerner RL, Haake DA, Adler B, Segers R. Technological advances in the molecular biology of *Leptospira*. J Mol Bacteriol 2000; 2:455-462.
39. Khisamov GZ, Morozovka NK. Fatty acids as resource of carbon for leptospirae. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol 1988; 32:87-93.
40. Johnson RC, Harris GV, Wallbyn KJ. Characterization of leptospiras according to fatty acid requirements. J Gen Microbiol 1969; 55:399-407.
41. Schömberg A. Growth of 10 *Leptospira interrogans* serovars using polyvinylpyrrolidone (PVP)-treated tween in protein-free medium. Zentralbl Für Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene Abteilung 1983; 254:540-544.
42. Stalheim OHV, Wilson BJ. Cultivation of leptospirae. I. Nutrition of "*Leptospira canicola*" J Bacteriol 1964; 88:48-54.
43. Faine S. Iron as a growth requirement for pathogenic *Leptospira*. J Gen Microbiol 1959; 20:246-251.
44. Johnson RC, Harris GV. Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospirae. Growth at low temperatures. J Bacteriol 1967; 94:27-31.

45. Cinco M, Tamaro M, Cociancich. Taxonomical, cultural and metabolic characteristics of halophilic leptospirae. Zentralblatt fur Baktrriologie, Mikrobiologie und Hygiene Abteilung I. Originale Reihe A 1975; 233:400-405.
46. Johnson RC, Walby KJ. Metabolism of leptospirae. I. Utilization of amino acids and purine and pyrimidine bases. Arch Biochem Biophys 1964; 107:459-470.
47. Johnson RC, Rogers P. 5-fluoruracil as a selective agent for the growth of leptospirae. J Bacteriol 1964; 88:412-426.
48. Jost BH, Adler B, Faine S. Experimental immunisation of hamsters with lipopolysaccharide antigens of *Leptospira interrogans*. J Med Micro 1989; 29:115-120.
49. Vinh T, Faine S, Adler B. Adhesion of leptospirae to mouse fibroblasts (L929) and its enhancement by specific antibody. J Med Microbiol 1984; 18:73-85.
50. Ballard SA, Williams M, Adler B, Faine S. Interactions of virulent and avirulent leptospirae with primary cultures of renal epithelial cells. J Med Microbiol 1986; 21:59-67.
51. Merien F, Truccolo J, Baranton G, Perolat P. Identification of a 36-kDa fibronectin binding protein expressed by a virulent variant of *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae. FEMS Microbiol Lett 2000; 185:17-22.
52. Cinco M, Banfi E, Furlani A, Scarcia V. Cytotoxic activity of supernatant extracts of virulent and saprophytic leptospirae. Zentralblatt Bakteriologie, Mikrobiol Hyg Abteilung I. Originale A 1980; 248:260-267.
53. Estavoyer JM, Racadot E, Couetdic G, Leroy J, Groperrin L. Tumor necrosis factor in patients with leptospirosis. Rev Infect Dis 1991; 13:1245-1246.

54. Tajiki H, Salomao R. Association of plasma levels of tumor necrosis factor alpha with severity of disease and mortality among patients with leptospirosis. *Clin Infect Dis* 1996; 23:1177-1178.
55. Younes-Ibrahim M, Burth P, Faria MV, Buffin-Meyer B, Marsy S, Barlet-Bas C, Cheval L, Doucet A. Inhibition of Na, K-ATPase by an endotoxin extracted from *Leptospira interrogans*: a possible mechanism for the physiopathology of leptospirosis. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Serie III, Sciences de la Vie* 1995; 318:619-625.
56. Alves V, Gayotto LC, Yasuda PH, Wakamatsu A, Kanamura CT, de Brito T. Leptospiral antigens *L. interrogans* serogroup *icterohaemorrhagiae* in the kidney of experimentally infected guinea-pigs and their relation to the pathogenesis of renal injury. *Exp Pathol* 1991; 42:81-93.
57. Diament D, Brunialti MK, Romero E, Kallas EG, Salomao R. Peripheral blood mononuclear cell activation induced by *Leptospira interrogans* glycolipoprotein. *Infect Immun* 2002; 70:1677-1683.
58. Burth P, Younes-Ibrahim M, Goncalvez FH, Costa ER, Faria MV. Purification and characterization of a Na⁺, K⁺ ATPase inhibitor found in an endotoxin of *Leptospira interrogans*. *Infect Immun* 1997; 65:1557-1560.
59. Yuri K, Takamoto Y, Okada M, Hiramune T, Kikuchi N, Yanagawa R. Chemotaxis of leptospire to hemoglobin in relation to virulence. *Infect Immun* 1993; 61:2270-2272.
60. Cinco M, Banfi H. Interactions between human polymorphonuclear leukocytes and one strain of pathogenic *Leptospira* (*Leptospira interrogans*) and one of saprophytic *Leptospira* (*L. biflexa*). *FEMS Microbiol Lett* 1983; 19:51-54.

61. Wang B, Sullivan J, Sullivan GW, Mandell GL. Interaction of leptospire with human polymorphonuclear neutrophils. *Infect Immun* 1984; 44:459-464.
62. Anderson DL, Johnson RC. Electron microscopy of immune disruption of leptospire: action of complement and lysozyme. *J Bacteriol* 1968; 95:2293-2309.
63. Vinh T, Adler B, Faine S. The role of macrophages in the protection of mice against leptospirosis: *In vitro* and *in vivo* studies. *Pathol* 1982; 14:463-468.
64. Farrelly HE, Adler B, Faine S. Opsonic monoclonal antibodies against lipopolysaccharide antigens of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. *J Med Microbiol* 1987; 23:1-7.
65. de Brito T, Prado MJ, Negreiros VA, Nicastrí AL, Sakata EE, Yasuda PH, Santos RT, VA A. Detection of leptospiral antigen (*Leptospira interrogans* serovar *copenhageni* serogroup Icterohaemorrhagiae) by immunoelectron microscopy in the liver and kidney of experimentally infected guinea-pigs. *Int J Exp Pathol* 1992; 73:633-642.
66. Merien F, Baranton G, Perolat P. Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. *Infect Immun* 1997; 65:729-738.
67. Barocchi MA, Ko AI, Reis MG, McDonald KL, Riley LW. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but non intracellular pathogen. *Infect Immun* 2002; 70:6926-6932.
68. Segers RP, van Gestel JA, van Eys GJ, van der Zeijst BA, Gaastra W. Presence of putative sphingomyelinase genes among members of the family *Leptospiraceae*. *Infect Immun* 1992; 60:1707-1710.

69. Lee SH, Kim KA, Park YG, Seong IW, Kim MJ, Lee YJ. Identification and partial characterization of a novel hemolysin from *Leptospira interrogans* serovar *lai*. *Gene* 2000; 254:19-28.
70. Vinh T, Shi MH, Adler B, Faine S. Characterization and taxonomic significance of lipopolysaccharides of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. *J Gen Microbiol* 1989; 135:2663-2673.
71. Yanagihara Y, Kamisango K, Takeda K, Mifuchi I, Azuma I. Identification of 4-*o*-methylmannose in cell wall polysaccharide of *Leptospira*. *Microbiol Immunol* 1983; 27:711-715.
72. Sangari FJ, Agüero J. Molecular bases of *Brucella* pathogenicity: an update in: Molecular pathogenesis of bacterial infections. *Microbiología* 1996; 12:207-218.
73. Pizarro CJ, Méresse S, Parton RG, Van der Goot G, Sola LA, Lopez-Goñi I, Moreno E, Gorvel JP. *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. *Infect Immun* 1998; 66:5711-5724.
74. Isogai E, Isogai H, Fujii N, Oguma K. Biological effects of leptospiral lipopolysaccharide on mouse B, T and NK cells. *Jap J Vet Sci* 1990a; 52:923-930.
75. Isogai E, Isogai H, Fujii N, Oguma K. Macrophage activation by leptospiral lipopolysaccharide. *Zentralblatt für Bakteriologie* 1990b; 273:200-208.
76. Werts C, Tapping RI, Mathison JC, Chuang TH, Kravchenko V, Saint Girons, Haake DA, Godowski PJ, Hayashi F, Ozinsky A, Underhill DM, Kirschning C, Wagner H, Aderem A, Tobias PS, Ulevitch RJ. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nature Immunol* 2001; 2:346-352.

77. Songer JG, Thiermann AB. Leptospirosis. J Am Vet Assoc 1988; 193:1250-1254.
78. Faine S. Leptospirosis. In: Hausler W J Sussman M, editors. Microbiology and Microbial Infections. London, UK Topley and Wilson's, 1998; 42:849-869.
79. Flisser A, Velasco VA, Martínez CC, González DF, Briseño GB, García SR *et al.* Infectious Diseases in Mexico. A Survey from 1995-2000. Arch Med Res 2002; 33:343-350.
80. Ellis WA. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the Taxonomy of *Leptospira*. Minutes of the Meetings, 1 and 2 July 1994, Prague, Czech Republic. Int J Syst Bacteriol 1995; 45:872-874.
81. Thiermann A. Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the Hebdomadis serogroup. Am J Vet Res 1982; 43:780-784.
82. Waitkins SA. Leptospirosis as an occupational disease. British J Ind Med 1986; 43:721-725.
83. Hanson LE. Leptospirosis in domestic animals: The public health perspective. J Am Vet Med Assc 1982; 181:1505-1509.
84. Lucchesi PM, Parma AE, Arroyo GH. Serovar distribution of a DNA sequence involved in the antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. BMC Microbiol 2002; 2:2-3.
85. Guerreiro H, Croda J, Flannery B, Mazel M, Matsunaga J, Galvao Reis M, Levett PN, Ko AI, Haake DA. Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. Infect Immun 2001; 69:4958-4968.

86. Dierauf LA, Vandenbroek DJ, Roletto J, Koski M, Amaya L, Gage LJ. An epizootic of leptospirosis in Californian sea lions (*Zalophus californianus*). J Am Vet Med Assoc 1985; 187:1145-1148.
87. Godínez RC, Zelaya RB, Aureoles GD, Verdugo RA, Rodríguez REA, De la Peña MA. Antibodies against *Leptospira interrogans* in California sea lion pups from Gulf of California. J Wildlife Dis 1999; 35:108-111.
88. Simental RT. Detección de anticuerpos contra *Leptospira* en lobos marinos (*Arctocephalus galapagoensis* y *Zalophus californianus wollebaeki*) de las Islas Galápagos, Ecuador (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 2006.
89. Jessup AD, Miller RE, Bolin CA, Kock DM, Morkel P. Retrospective evaluation of leptospirosis in free-ranging and captive black rhinoceroses (*Diceros bicornis*) by microscopic agglutination titres and fluorescent antibody testing. J Zool Wildlife Med 1992; 23:401-408.
90. Karaseva EV, Chernukha GY, Piskunova AL. Results of studying the time of survival of pathogenic leptospira under natural conditions. J Hyg Epidemiol Microbiol Immun 1973; 17:339-345.
91. Prescott JF, Zuerner LR. *Leptospira*. In: Gyles CL, Thoen CO, editors. Pathogenesis of bacterial infections in animals. 2nd ed. Iowa State Univ Press, 1993:287-296.
92. Elder JK. The influence of environmental factors on the survival of zoonotic bacterial pathogens with special reference to leptospirae. Aust Microbiol 1986; 7:323-324.

93. Leonard F, Quinn PJ, Ellis WA. Possible effect of pH on the survival of leptospire in cattle urine. *Vet Rec* 1992; 131:53-54.
94. González GJA, Tamayo S, Machado A. Leptospirosis C.I.D.A. Cuba. 1990.
95. Padre LP, Watt G, Tuazon ML, Gray R, Laughlin LW. A serologic survey of rice-field leptospirosis in central Luzon, Philippines. *Southeast Asian. J Trop Med Public Health* 1988; 19:197-199.
96. Smythe L, Dohnt M, Norris M, Symonds M, Scott J. Review of leptospirosis notifications in Queensland 1985 to 1996. *Commun Dis Intel* 1997; 21:17-20.
97. Haake DA, Dundoo M, Cader R, Kubak BM, Hartskeerl RA, Sejvar JJ, Ashford DA. Leptospirosis, water sports, and chemoprophylaxis. *Clin Infec Dis* 2002; 34:40-43.
98. Morgan J, Bornstein SL, Karpati AM, Bruce M, Bolin CA, Austin CC, Woods CW, Lingappa J, Langkop C, Davis B, Graham D R, Proctor M, Ashford D A, Bajani M, Bragg S L, Shutt K, Perkins BA, Tappero JW. Outbreak of leptospirosis among triathlon participants and community residents in Springfield, Illinois, 1998. *Clin Infec Dis* 2002; 34:1593-1599.
99. Pereira MM, Andrade J. Human leptospirosis in a slum area in the city of Rio de Janeiro, Brazil. A serological and epidemiological study. *Memorias do Instituto Oswald Cruz* 1990; 85:47-52.
100. Kinde H, Hietala SK, Bolin CA, Dowe JT. Leptospiral abortion in horses following a flooding incident. *Equine Vet J* 1996; 28:327-330.
101. Trevejo RT, Rigau PRJG, Ashford DA, McClure EM, Jarquin GC, Amador JJ, De los Reyes JO, Gonzalez A, Zaki SR, Shieh WJ, McLean RG, Nasci RS, Weyant RS, Bolin CA, Bragg SL, Perkins BA, Spiegel RA. Epidemic leptospirosis

associated with pulmonary hemorrhage, Nicaragua 1995. J Infect Dis 1998; 178:1457-1463.

102. de Brito T, Böhm MG, Yasuda, HP. Vascular damage in acute experimental leptospirosis of the guinea pig. J Pathol 1979; 128:177-182.

103. Plank R, Dean D. Overview of the epidemiology, microbiology and pathogenesis of *Leptospira spp.* in humans. Microb Infect 2002; 2:1265-1276.

104. Torten M. Leptospirosis. In: Steele JH, editors. Bacterial, Rickettsial and Mycotic Diseases. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1979:363-421.

105. Faine, S. Guidelines for the control of leptospirosis. World Health Organization, Geneva. 1982.

106. McClintock CS, McGowan RM, Corney GB, Colley J, Smythe L, Dohnt M, Woodrow M. Isolation of *Leptospira interrogans* serovars *hardjo* and *zanoni* from a dairy herd in north Queensland. Aus Vet J 1993; 70:393-394.

107. Torten M, Marshall BR. Leptospirosis. In: Beran GW, editors. Handbook of Zoonoses, Section A: Bacterial, Rickettsial, Chlamydial and Mycotic Diseases. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994:245-264.

108. Feresu SB, Korver H, Riquelme N, Baranton G, Bolin AC. Two new leptospiral serovars in the Hebdomadis serogroup isolated from Zimbabwe cattle. Int J Syst Bacteriol 1996; 46:694-698.

109. Feresu SC, Bolin, Korver H. A new leptospiral serovar, ngavi, in the Tarassovi serogroup isolated from Zimbabwe oxen. Int J Syst Bacteriol 1998; 48:207-213.

110. Sullivan N, Callan D. Isolation of *Leptospira hardjo* from cows with mastitis. Aus Vet J 1970; 46:537-539.

111. Pearson J, Mackie D, Ellis W. Milk drop syndrome resulting from *Leptospira hardjo*. Vet Rec 1980; 106:135-136.
112. Desmecht M, Korver H, Terpstra WJ. Isolatie in België van *Leptospira interrogans* serotypen *saxkoebing*, *grippityphosa* en *copenhageni* uit muskratten (Isolation of *Leptospira interrogans* serovars *saxkoebing*, *grippotyphosa* and *copenhageni* from Muskrats en Belgium). Vlaams Diergeneeskunding Tijdschrift 1991; 60:59-63.
113. Dhaliwal GS, Murray RD, Dobson H, Montgomery J, Ellis WA. Effect of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* infection on milk yield in endemically infected dairy herds. Vet Rec 1996;139:319-320.
114. Higgins RJ, Harbourne JF, Little TWA, Stevens AE. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with *Leptospira* of the serotype *hardjo*. Vet Rec 1980; 107:307-310.
115. Ellis WA, MacParland PJ, Bryson DG, McNulty MS. Leptospirae in pig urogenital tract and fetuses. Vet Rec 1985; 117:66-67.
116. Carroll AG, Campbell R F. Reproductive and leptospiral studies on beef cattle in central Queensland. Aus Vet J 1987; 64:1-5.
117. Feresu SB. Serological survey of leptospiral antibodies in cattle in Zimbabwe. Trop Anim Heal Prod 1987; 19:209-214.
118. Prescott JF, Miller RB, Nicholson VM. Isolation of *Leptospira hardjo* from kidneys of Ontario cattle at slaughter. Can J Vet Res 1987; 51:229-231.
119. Bolin CA, Thiermann AB, Handsaker AL, Foley JW. Effect of vaccination with a pentavalent leptospiral vaccine on *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* type *Hardjobovis* infection of pregnant cattle. Am J Vet Res 1989; 50:161-165.

120. Kirkbride CA., Johnson MW. Serologic examination of aborted ovine and bovine fetal fluids for the diagnosis of border disease, bluetongue, bovine viral diarrhoea, and leptospiral infections. *J Vet Diagnost Invest* 1989; 1:132-138.
121. Ellis GR, Partington DL, Hindmarsh M, Barton MD. Seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* in merino stud rams in south Australia. *Aus Vet J* 1994a; 71:203-206.
122. Langham RF, Morse EV, Morter RL. Pathology of experimental bovine leptospirosis. *Leptospira pomona* infection. *J Infect Dis* 1958; 103:285-290.
123. Fennestad KL, Steen OT, Borgpetersen C. Haemorrhagic nephritis in experimental bovine *Leptospira bratislava*. *Act Pathol Microbiol Scand* 1967; 71:245-264.
124. Morter RL, Langham RF, Morse EV. Experimental leptospirosis. VI. Histopathology of the bovine placenta in *Leptospira pomona* infection. *Am J Vet Res* 1958; 19:785-7991.
125. Slee KJ, McOrist S, Skilbeck NW. Bovine abortion associated with *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* infection. *Aus Vet J* 1983; 60:204-206.
126. Skilbeck NW, Forsyth WM, Dohnt M. Bovine leptospirosis: microbiological and histological findings in cattle at slaughter (published erratum appears in *Aust Vet J* 1988 may; 65(5):164). *Aus Vet J* 1988; 65:73-75.
127. Zaiz ZJ. Contribución al estudio de la incidencia de leptospirosis en Ganado bovino (tesis de licenciatura). México (DF) México: Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1962.
128. Dikken H. Boletín técnico de leptospirosis. Dirección General de Sanidad Animal. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, 1967.

129. Rodríguez y HG. Exploración serológica de leptospirosis y brucelosis en ganado bovino y porcino con historia clínica de aborto (tesis de licenciatura). México (DF) México: Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1969.
130. González DO, Ortega LM. Estudio epizootológico de leptospirosis en México (1968-1970), Organó Informativo de la Dirección General de Sanidad Animal SAG. Época 1 No.1; jul-ago. 1972:29-33.
131. Melgarejo VLG. Encuesta serológica en bovinos para detectar anticuerpos aglutinantes contra diferentes serovariedades de *Leptospira* en los municipios de Minatitlan, Hidalgotitlan, Acayucan, Rodríguez Clara, Pajapan y Jesús Carranza, Veracruz. San Juan Mazatlán y San Juan Cotzocan, Oaxaca (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1974.
132. León LL. Estudio serológico por aglutinación microscópica de la leptospirosis en bovinos y cerdos en México. Sección de serología, Centro Nacional de Sanidad Animal SARH. México, 1976.
133. Bobadilla ZJL. Estudio serológico de la leptospirosis por la técnica de aglutinación microscópica en ganado bovino del norte de Sinaloa (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1978.
134. Álvarez VY. Estudio serológico para la detección de anticuerpos contra *L. interrogans* en ganado de lidia por medio de la prueba de aglutinación microscópica (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1985.

135. Dorantes LA. Estudio retrospectivo de la leptospirosis en el centro de recría de beceras de la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo de enero de 1977 a diciembre de 1983 (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1986.
136. Vázquez CJ. Diagnóstico de prevalencia de *Leptospira* en ganado bovino de la tierra caliente del estado de Guerrero para su prevención y control (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1986.
137. Sánchez BH. Estudio de la frecuencia de casos positivos a leptospirosis bovina de 14 estados de la República, a partir de 1400 sueros sospechosos (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1987.
138. Mendoza LA. Prevalencia de reactores positivos a *L. interrogans* en bovinos Holstein en el centro nacional para la enseñanza, investigación y extensión de la zootecnia (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1987.
139. González OF. Análisis de los resultados obtenidos por prueba de aglutinación microscópica con diferentes serovariedades de *Leptospira*, en sueros de bovinos cebú; en el estado de Chiapas (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
140. Arteaga TG. Leptospirosis bovina en el complejo agroindustrial Tizayuca, Hidalgo: Prevalencia y consideraciones epidemiológicas (tesis de maestría).

México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1991.

141. Banda RV, Luna AMA, Moles CLP, Torres BJI. Estudios retrospectivos de leptospirosis bovina. Diagnóstico serológico de 1987-1991. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1992 noviembre 3-6; Chihuahua (Chihuahua) México. México (DF): SARH, UNAM, PAIEPEME, UACZ, GOBIERNO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA, UGR, UAC, UAT, UJAT, ESA, 1992:275.

142. Fernández LJJ, Reyes VVA, De la Peña MA. Detección de anticuerpos contra *L. interrogans* en bovinos de hatos lecheros en el valle de Atlixco, Puebla, mediante la prueba de aglutinación microscópica. Vet Mex 1993; 24:47-49.

143. Rojas SN, Cisneros PMA, Moles CLP, Gavaldón RD, Luna AMA, Torres BJI. Situación actual de leptospirosis en México. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias, 1994:531-532.

144. Torres AF. Frecuencia de leptospirosis en bovinos productores de leche con problemas reproductivos en una explotación de Ixtapaluca, Estado de México (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1995.

145. Orduña G, Salazar GF, Flores TM, Moles CLP. Detección de anticuerpos anti-*Leptospira* en bovinos sacrificados en un rastro del Estado de México. Memorias del XX Congreso Nacional de Buiatría; 1996 agosto 14-16; Acapulco (Guerrero)

México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1996:37.

146. De la Peña MA, Aluja SA, Hernández GE, Rodríguez REA, Gómez BA, García MAR, Verdugo RA. Detección de *L. interrogans* en bovinos. Estudios serológico, microscópico, bacteriológico y molecular. Memorias del XXI Congreso Nacional de Buiatría; 1997 julio 9-12; Colima (Colima) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1997:20.

147. Hernández GE, Rodríguez REA, Jiménez FF, De la Peña MA. Perfil del serodiagnóstico de leptospirosis en bovinos de 1990 a 1996. Memorias del XXI Congreso Nacional de Buiatría; 1997 julio 9-12; Colima (Colima) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1997:53.

148 . Solís LC, Vázquez G, Cesar O, Ávila FD, Moles CLP, Álvarez LMA. Detección de anticuerpos contra *L. interrogans* en ganado bovino productor de carne de dos municipios del Estado de Tabasco. Memorias del XXI Congreso Nacional de Buiatría; 1997 julio 9-12; Colima (Colima) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1997:52.

149. Moles CLP, Aguirre EJ, Gavaldón RD, Torres BJI. Análisis de resultados de leptospirosis bovina en 5 estados de las zonas centro y norte de México. Memorias del XXI Congreso Nacional de Buiatría; 1997 julio 9-12; Colima (Colima) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1997:54.

150. Esparza VJC. Comparación de la seropositividad contra leptospirosis en humanos, bovinos y roedores de la cuenca de Xochimilco (tesis de licenciatura).

México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1998.

151. García MAR, Hernández GE, Rodríguez REA, Verdugo RA, Avila GJ, De la Peña MA. Comparación de tres técnicas moleculares para la detección de *Leptospira* en orina de bovinos serológicamente positivos. Memorias del XXII Congreso Nacional de Buiatría; 1998 julio 20-25; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Medicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1998:71-73.

152. Moles CLP, Aguirre EJ, Gavaldon RD, Cisneros PMA, Torres BJI. Serovariedades de *L. interrogans* importantes en bovinos de la zona central de México. Memorias del XXIII Congreso Nacional de Buiatría; 1999 Agosto 18-21; Aguascalientes (Aguascalientes) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1999:46-49.

153. Pérez LM, Romero RP, Sánchez CY, Torres BJI. Frecuencia de vacas lecheras seroreactivas a leptospirosis simultáneamente con Brucelosis. Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatría; 1999 Agosto 18-21; Aguascalientes (Aguascalientes) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1999:50.

154. Torres BJI, Arias IJ, Moles CLP, Gavaldón RB, Cisneros PMA. Evidencias serológicas de leptospirosis en ganado bovino del estado de Querétaro. Memorias del XXIII Congreso Nacional de Buiatría; 1999a Agosto 18-21; Aguascalientes (Aguascalientes) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1999a:51-53.

155. Córdova LD, Urrutia VRM, Sánchez RC, Banda RV, González SD, Moles CLP. Leptospirosis, situación epidemiológica de una explotación ubicada en la zona enzootica del Istmo de Tehuantepec. Memorias del Primer Congreso Internacional de Epidemiología; 2000a Enero 25-27; Toluca (Edo. Mex.) México. México (DF): Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria, AC 2000a:186-189.
156. Moles CLP, Gavaldón RD, Torres BJI, Cisneros PMA. Análisis de resultados de leptospirosis bovina en cinco estados de las zonas centro y norte de México. Memorias del Primer Congreso Internacional de Epidemiología; 2000a Enero 25-27; Toluca (Edo. Mex.) México. México (DF): Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria, AC 2000a:173-176.
157. Moles CLP, Torres BJI. Situación actual de la leptospirosis en el estado de Sonora y su repercusión en salud pública. Memorias de la XXXVI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2000b noviembre 7-10; Hermosillo (Sonora) México. México (DF): SARH, UNAM, PAIEPEME, UAM, GOBIERNO DEL ESTADO DE SONORA, CP, FUPRO, 2000b:1-8.
158. Córdova LD, Urrutia VRM, Moles CLP, López MJ, Zacariáz ML, Mojarro JJ. Datos preliminares de la prevalencia de leptospirosis bovina en la ganadería del estado de Guanajuato. Memorias de la XXXVI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2000b noviembre 7-10; Hermosillo (Sonora) México. México (DF): SARH, UNAM, PAIEPEME, UAM, GOBIERNO DEL ESTADO DE SONORA, CP, FUPRO, 2000b:51.
159. Moles CLP, Pedroza RD, Urrutia VRM, Luna AMA, Torres BJI. Identificación serológica de anticuerpos contra *L. interrogans*, en sementales bovinos de carne

en el estado de Sonora, México. Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatría; 2000c junio 15-17; Guadalajara (Jalisco) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2000c:125.

160. Romero RP, Gutiérrez RAJ, Morales AM, Cisneros PMA, Moles CLP, Torres BJI. Frecuencia de *Leptospira interrogans* en ganado bovino de la región de la Frailesca, comprendiendo cuatro municipios del estado de Chiapas, México. Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatría; 2000 junio 15-17; Guadalajara (Jalisco) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2000:141.

161. Torres BJI, Meléndez VP, Cisneros PMA, Gavaldón RD, Moles CLP. Serovariedades de *Leptospira interrogans* importantes en el municipio de Ocozocuatla, Chiapas, México. Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatría; 2000 junio 15-17; Guadalajara (Jalisco) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2000:143.

162. Córdova LD, Moles CLP, Velázquez URM, López MJ, Zacarías ML, Mojarro J. Prevalencia de leptospirosis en ganado bovino del estado de Guanajuato. Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatría; 2001 Agosto 16-18; Veracruz (Veracruz) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2001:116.

163. Torres BJI, Valdivieso LB, Romero RPI, Cisneros PMA, Moles CLP. Exploración serológica de leptospirosis en ganado bovino del estado de Chiapas. Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatría; 2001 Agosto 16-18; Veracruz (Veracruz) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2001:117.

164. Gutiérrez CHAJ. Evaluación de la calidad fisicoquímica y bacteriológica de la leche producida en una región tropical con ganado bovino, considerando prácticas de ordeño y salud animal. (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 2001.

165. Córdova IA, Cano MS, Rodríguez AG, Ávila GJ, Moles CLP, Cisneros PMA. *Leptospira spp.* en ganado bovino productor de carne en trópico húmedo. Memorias del XXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2002a julio 11-13; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2002a:182.

166. Moles CLP, Torres BJI, De Garrido-Melo FRM, Romero RP, Gavaldón RD, Cisneros PMA. Identificación de reactores a *L. interrogans* en ganado bovino lechero de Sonora que se importó de Australia. Memorias del XXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2002a julio 11-13; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2002a:184.

167. Moles CLP, Pedroza PD, Sapién SA, Urrutia VRM, Luna AMA, Torres BJI. Análisis preliminar de la serofrecuencia de leptospirosis en vacas del estado de Sonora. Memorias del XXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2002b julio 11-13; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2002b:185.

168. Moles CLP, Gil RJA, Gavaldón RD, Torres BJI, Luna AMA, Cisneros PMA. Serovariedades de *Leptospira interrogans* importantes en bovinos de la zona sur y sueste de México. Memorias del XXVII Congreso Nacional de Buiatría; 2003a junio

12-14; Villa Hermosa (Tabasco) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2003a:105.

169. Robles GJJ. Análisis de la información sobre estudios serológicos para *Leptospira interrogans* serovariedad Hardjo, por medio de la prueba de microaglutinación, en el Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal, México, de 1983 a 1992 (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 2003.

170. Luna AMA, Moles CLP, Zamora E JL, Castro MJ, Valladares CB, Valdés RB. Prevalencia de leptospirosis en una unidad de producción del Estado de México obtenida a través de la técnica diagnóstica de aglutinación microscópica. Memorias del III Congreso Internacional de Epidemiología; 2003 octubre 16-18; Oaxaca (Oaxaca) México. México (DF): Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria A.C., 2003:107-117.

171. Carmona GCA, Amado GO, León LL, Velásquez BLG, De la Peña MA. Prevalencia de *Leptospira spp.* en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Toluca. Memorias de la XXXIX Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2003 noviembre 12-14; México (DF) México. México (DF): SARH, UNAM, PAIEPEME, UAM, SAGARPA, CENID-MICROBIOLOGÍA INIFAP, CP, UACH, 2003:60.

172. Moles CLP, Báez RUA, Urrutia VRM, Luna AMA, Gavaldón RD. Análisis serológicos de leptospirosis en ranchos de ganado bovino de Tabasco, México. XXXIX Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2003b noviembre 12-14; México (DF) México. SARH, UNAM, PAIEPEME, UAM, SAGARPA, CENID-MICROBIOLOGÍA INIFAP, CP, UACH 2003b:34.

173. Escamilla HP. Frecuencia y causas de aborto de origen infeccioso en un hato de bovinos en el estado de Querétaro (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 2004.

174. Moles CLP, Hernández VJ, Gavaldón RD, Torres BJI, Rojas SN, Cadena LJG. Resultados preliminares del seroperfil de leptospirosis bovina realizado en el Centro de Recría en Tizayuca, Hidalgo. Memorias del XXVIII Congreso Nacional de Buiatría; 2004 agosto 12-14; Morelia (Michoacán) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2004:129.

175. Luna AMA, Salazar GF, Moles CLP, Nava VC. Influencia de los factores ecológicos en la presentación de la leptospirosis bovina en México. Memorias del XXVIII Congreso Nacional de Buiatría; 2004 agosto 12-14; Morelia (Michoacán) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2004:131.

176. Córdova IA, Cano MS, Moles CLP, Torres BJI, Rodríguez AG, Ávila GJ y Pérez GJF. Diagnóstico de leptospirosis en ganado bovino productor de carne. Memorias del XXIX Congreso Nacional de Buiatría; 2005 agosto 10-13; Puebla (Puebla) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2005:(Memorias electrónicas).

177. Carmona GCA, De la Peña MA. Frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira spp.* en una unidad de producción lechera del centro de México. Memorias del XXIX Congreso Nacional de Buiatría; 2005 agosto 10-13; Puebla (Puebla) México.

México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2005:(Memorias electrónicas).

178. Torres BJI, Moles CLP, Rojas SN, Benavides PL, Estrada CJD, Melgarejo GE. Importancia de un aislamiento nacional de *Leptospira interrogans* serovariedad Hardjo subtipo Hardjoprajitno en el diagnóstico de la leptospirosis bovina. Memorias del XXIX Congreso Nacional de Buiatría; 2005 agosto 10-13; Puebla (Puebla) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2005:(Memorias electrónicas).

179. Melgarejo GE, Torres BIJ, Moles CLP, Soto CR. Determinación de anticuerpos anti-*Leptospira* en fetos de bovino en el complejo agropecuario industrial de Tizayuca. Memorias del XXIX Congreso Nacional de Buiatría; 2005 agosto 10-13; Puebla (Puebla) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2005: (Memorias electrónicas).

180. Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ. Diseases of swine. 8TH ed, Ames: Iowa State University Press, 1999:483-493.

181. Chappel RJ, Adler B, Jones RT, Mead LJ, Millar BD, Prime RW. The prevalence of antileptospiral antibodies in the sera of pigs slaughtered at Victorian abattoirs. Aus Microbiol 1989; 10:347.

182. Paz-Soldan SV, Dianderas MT, Windsor RS. *Leptospira interrogans* serovar *canicola*: a causal agent of sow abortions in Arequipa, Peru. Trop Anim Heal Prod 1991; 23:233-240.

183. Van Til LD, Dohoo IR. A serological survey of leptospirosis in Prince Edward Island swine herds and its association with infertility. *Can J Vet Res* 1991; 55:352-355.
184. Potts AD, Lotter C, Robinson JT. Serological prevalence of leptospiral antibodies in pigs in South Africa. Onderstepoort. *J Vet Res* 1995; 62:281-284.
185. Morse EV, Bauer DC, Langham RF, Lang RW, Ullrey DE. Experimental leptospirosis. IV. Pathogenesis of porcine *Leptospira pomona* infections. *Am J Vet Res* 1958; 19:388-394.
186. Baker TF, McEwen SA, Prescott JF, Meek AH. The prevalence of leptospirosis and its association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. *Can J Vet Res* 1989; 53:290-294.
187. Delgado AJL. Existencia en México de la Leptospirosis en cerdos y métodos diagnósticos (tesis de licenciatura). México (DF) México: Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1959.
188. Varela G, Zavala J. Estudio serológico de leptospirosis en la República Mexicana. *Rev Inst Sal Enf Trop* 1961; 21:49-52.
189. Huerta FA. Incidencia de aglutininas contra *Leptospira pomona* en cerdos del Distrito Federal por medio del Método de tubos capilares (tesis de licenciatura). México (DF) México: Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1965.
190. Amescua HJA. 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 de licenciatura). México (DF) México:

Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1968.

191. González GD, Ortega LM. Estudio epizootiológico de leptospirosis en México 1968-1970. *Epoca* 1 No.1 1973: 24-33.

192. Landeros CM. Incidencia de cuatro diferentes cepas de *Leptospira* en la población porcícola del estado de México, Guanajuato, Jalisco, Michoacán y D. F. (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1974.

193. Velásquez LR. Pérdidas económicas debidas a la leptospirosis porcina producida por *Leptospira Pomona* en el municipio en el municipio de Culiacán, Sinaloa (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1975.

194. Cervantes MA. Relación de la leptospirosis entre humanos y cerdos en granjas porcinas (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1982.

195. Jiménez GEA. Estudio serológico de 2,400 casos sospechosos de leptospirosis porcina en México (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1983.

196. Rodríguez GL, Salomón A, Moles CLP. Determinación serológica de *Leptospira* en cerdos del rastro Milpa Alta. Memorias del XXIV Congreso Nacional AMVEC; 1989 julio; Morelia (Michoacán) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 1989:302-303.

197. Ramírez NR, Acevedo JM, Cisneros PMA, Moles CLP, Torres BJI, Rojas SN. Estudio clínico de un brote de leptospirosis porcina en el estado de Sinaloa. Memorias del XXVI Congreso Nacional AMVEC; 1991 Agosto; Mérida (Yucatán) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 1991:246-248.
198. Rodríguez GL, Salomón SA, Moles CLP. Determinación serológica de *Leptospira* en cerdos del rastro Milpa Alta. Memorias del XXIV Reunión AMPA; 1993 octubre; Chihuahua (Chihuahua) México. México (DF): AMPA, 1993.
199. Moles CLP, Gavaldón DR, Cisneros PMA, Torres BJI, Luna AMA. Aspectos relevantes que deben considerarse en el diagnóstico de la leptospirosis porcina. Memorias del Curso Teórico organizado por el Programa de Zoonosis de la Coordinación de Vigilancia Epidemiológica; 1994a julio 20-21; México (DF): Subsecretaría de Prevención y Control de Enfermedades, Secretaría de Salud, 1994a.
200. Moles CLP, Urrutia VRM, Diosdado F, Corona E, Salgado L, Luna AMA, Morilla GA. Estudio sobre la frecuencia de *Leptospira interrogans* en cerdos del estado de Guanajuato, México. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994b octubre 9-15; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias, 1994b:130.
201. Cisneros PMA, Moles CLP. Presencia de *L. portland vere* (cepa Sinaloa ACR) y *L. icterohaemorrhagiae* (cepa Palo Alto) en granjas de Michoacán. Memorias de la XXXII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1996 diciembre 2-4 Cuernavaca (Morelos) México. México (DF): SARH, UNAM,

PAIEPEME, UAM, GOBIERNO DEL ESTADO DE SONORA, CP, FUPRO, 1996:116.

202. Cisneros PMA, Moles CLP, Gavaldón DR, Torres BJI, López J. Análisis serológico comparativo de leptospirosis porcina en granjas de los estados de Michoacán y Guanajuato, México. *Acontecer Porcino* 1999a; 7:75-76.

203. Cisneros PMA, Moles CLP, Torres BJI, Gavaldón DR, López J. Perfil serológico de tres cepas Mexicanas de *L. interrogans* en cerdos reproductores de la Piedad Michoacán. *Acontecer Porcino* 1999b; 7:61-62.

204. Cadena LJG, González DMA, Cisneros PMA, Moles CLP, Torres BJI, Rojas SN. Identificación de anticuerpos contra *Leptospira* en fetos porcinos. Memorias del XXXIV Congreso Nacional AMVEC; 1999 julio 29 - 31; Mérida (Yucatán) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 1999:198-199.

205. Ramos VML, Cisneros PMA, Moles CLP, Rojas SN, Torres BJI, Gavaldón RD. Diagnóstico serológico de leptospirosis en distintas etapas productivas en dos granjas de cerdos del estado de Michoacán, México. Memorias del XXXIV Congreso Nacional AMVEC; 1999 julio 29-31; Mérida (Yucatán) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 1999:192-194.

206. Moles CLP, Cisneros PMA, Spilsbury MA, Mota RD, Casas GSB, León MIR. Presence of antibodies against *Leptospira* in the Hairles Mexican Pigs. Proceedings 16th Congress of the International Pig Veterinary Society, 2000 September 17-20; Melbourne (Australia): International Pig Veterinary Society, 2000:190.

207. Morales AMA, Cisneros PMA, Moles CLP. Perfil serológico de *Leptospira* de una granja porcina de ciclo completo en la piedad, Michoacán, comparando línea de engorda y reproductores. Memorias del XXXV Congreso Nacional AMVEC; 2000a julio 26-30; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 2000a:77.

208. Cisneros PMA, Rojas SN, Meléndez VP, Moles CLP, Gavaldón RD, Torres BJI, Cadena LJG, González DMA, Morales AM, Vargas AD. Análisis de resultados de leptospirosis porcina en México. Memorias del XXXV Congreso Nacional AMVEC; 2000a julio 26-30; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 2000a:100.

209. Cisneros PMA, Mota RD, Moles CLP, Alonso SM, Ramírez NR. Seroconversión durante un brote de abortos por leptospirosis en una piara de cerdo pelón Mexicano. Memorias del XXXV Congreso Nacional AMVEC; 2000b julio 26-30; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 2000b:101.

210. Morales AM, Cisneros PMA, Moles CLP. Serofrecuencia de leptospirosis en una unidad de producción porcina del estado de Sonora. Memorias del XXXV Congreso Nacional AMVEC; 2000b julio 26-30; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 2000b:108.

211. Vargas AAD, Cisneros PMA, Moles CLP, Torres BJI. Hallazgos serológicos de leptospirosis en unidades de producción porcina de Irapuato, Guanajuato. Memorias del XXXV Congreso Nacional AMVEC; 2000 julio 26-30; Acapulco

(Guerrero) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, 2000:116.

212. Cisneros PMA, Ramírez NR, Torres BJI, Moles CLP, Gavaldón DR, Rojas SN. Primer reporte en México del aislamiento de *L. interrogans* serovariedad Portland Vere a partir de cerdos. Memorias del Primer Congreso Internacional de Epidemiología; 2000c Enero 25-27; Toluca (Edo. Mex.) México. México (DF): Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria, AC 2000c:177-179.

213. Cisneros PMA, Moles CLP, Torres BJI, Gavaldón DR. Presencia serológica de cepas mexicanas de *L. interrogans* en cerdos reproductores de la piedad, Michoacán, México. Memorias del Primer Congreso Internacional de Epidemiología; 2000d Enero 25-27; Toluca (Edo. Mex.) México. México (DF): Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria, AC 2000d:180-182.

214. Vado SI, Cárdenas MMF, Jiménez DB, Alzina LA, Laviada MH, Suárez SV, Zavala Velásquez J. Clinical-epidemiological study of leptospirosis in humans and reservoirs in Yucatán, México. Rev Inst Med Trop S Paulo 2002; 44:335-340.

215. Ramírez OJM, García SJ, Pradal RP, De la Peña MA. Estudio serológico de leptospirosis en cinco granjas porcinas del estado de Morelos, México. Memorias de la XL Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2004 noviembre 22-26; Mérida (Yucatán) México. México (DF): INIFAP, UNAM, SAGARPA, UAM, 2004:26.

216. Broberg RD, Carithers RW. Acute nephritis in the canine due to leptospirosis. Iowa State Univ Vet 1974; 2:64-66.

217. Keenan KP. Pathogenesis of experimental *Leptospira interrogans*, serovar *bataviae* infection in the dog: Microbiological, clinical, hematologic and biochemical studies. Am J Vet Res 1978; 39:449-453.
218. Thiermann AB. Canine leptospirosis in Detroit. Am J Vet Res 1980; 41:1659-1661.
219. Cole JR. Infections with *Encephalitozoon cuniculi* and *Leptospira interrogans* serovars *grippotyphosa* and *ballum* in a kennel of foxhounds. J Am Vet Med Assoc 1982; 180:435-437.
220. Prescott JF, Key D, Osuch M. Leptospirosis in dogs. Can Vet J 1999; 40:430-431.
221. Harkin KR, *et al.* Canine leptospirosis in New Jersey and Michigan: 17 cases (1990-1995). J Am Anim Hosp Assoc 1996; 32:495-501.
222. Mitchell MA, *et al.* Serologic survey for selected infectious disease agents in raccoons from Illinois. J Wildl Dis 1999; 35:347-355.
223. Hartman EG, Van Den Ingh TSGA, Rothuizen J. Clinical pathological and serological features of spontaneous canine leptospirosis. An evaluation of the IgM and the IgG specific ELISA. Vet Immunopathol 1986; 13:261-271.
224. Luna AMA, Moles CLP, Banda RV, Torres BJ. Historia clínica de 5 casos de perros de los que se aisló *Leptospira interrogans*. Memorias del IV Encuentro de Intercambio para la Investigación Agropecuaria en Biología de la Reproducción. 1994 octubre 6-7; México (DF) México. México (DF): Universidad Autónoma Metropolitana, 1994.
225. Luna AMA, Moles CLP, Urrutia VRM, Nava VC. Aspectos clínicos reportados en leptospirosis canina. Memorias del Primer Seminario-Taller Nacional sobre el

Diagnóstico y Control de la Leptospirosis. 1997 julio 23-25; México (DF) México: Universidad Autónoma Metropolitana, ICA, 1997.

226. Carter ME, Cordes DO. Leptospirosis and other infections of *Rattus rattus* and *Rattus norvegicus*. New Zealand Vet J 1980; 28:45-50.

227. Evans AF, Brackman PS. Bacterial infections of humans. Epidemiology and control, 2nd ed. New York: Plenum Medical, 1991.

228. Luna AMA, Moles CLP, Nava VMC. Estudio serológico de *L. interrogans* en perros sacrificados en el antirrabico de "El Molinito" municipio de Naucalpan de Juárez, Estado de México. Memorias del XVI Congreso de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies. 1995; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies AC, 1995:48-51.

229. Castillo SLO, Roa RMA, Ordóñez BML, De la Peña MA. Detección de perros portadores de leptospirosis patógenas. Enfermedades Infecciosas y Microbiología 2005; 25:68.

230. Butrón GHD. Frecuencia de *Leptospira spp.*, *Ancylostoma spp.*, y Parvovirus canino en perros con vómito y diarrea hemorrágica. Métodos: Microscópico, bacteriológico y serológico. (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1991.

231. Morrison WI, Wright NG. Canine leptospirosis and immunopathological study of interstitial nephritis due to *Leptospira canicola*. J Pathol 1976; 120:83-89.

232. Varela G. Investigación de aglutininas para *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *canicola* y *pomona* en sueros humanos y de animales en varios estados de la República Mexicana. *Salud Publica en México* 1959; 1:203-204.
233. Arroyo SV. Identificación de leptospiras en perros de la ciudad de México, método serológico y método biológico (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1966.
234. Palacios AJM. Aislamientos de *Leptospira spp.*, determinación de niveles de anticuerpos específicos y estudio histopatológico de riñones de perros del D.F. (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1983.
235. Sánchez-Mejorada PAC. La leptospirosis canina en México, serovariedades predominantes (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1992.
236. García SCM, Ibarra ZS, Banda RVM, Moles CLP, Guerrero CMJ, De la Colina AE. Estudio serológico de leptospirosis canina en la ciudad de Toluca. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 1992 noviembre 3-6; Chihuahua (Chihuahua) México. México (DF): SARH, UNAM, PAIEPEME, UACZ, GOBIERNO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA, UGR, UAC, UAT, UJAT, ESA, 1992:280.
237. Luna AMA. Frecuencia serológica de leptospirosis canina en el municipio de Naucalpan de Juárez, Estado de México (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1993.

238. Rodríguez REA, Suárez GF. Análisis retrospectivo de los casos de leptospirosis en perros remitidos al laboratorio de bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - U. N. A. M. en el periodo de enero de 1993 a junio de 1994. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias, 1994:115.

239. Mondragón VRL, Roa RMA, Ordóñez BML, Jiménez GEA, Ramírez HG. Prevalencia de leptospirosis en la Delegación Tlalpan. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias, 1994:109.

240. Caballero A, Romero J. Epidemiología de la leptospirosis canina en México y elaboración de una bacterina con los serovares predominantes en el binomio hombre-perro. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias, 1994:534-535.

241. Hernández GE, Rodríguez REA, Jiménez FF, De la Peña MA. Perfil del serodiagnóstico de leptospirosis en animales de 1989 a 1996. Memorias de la XXXIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1997 noviembre 3-8; Veracruz (Ciudad de Veracruz) México. México (DF): SARH, UNAM, PAIEPEME, Colegio de Posgraduados, UAM 1997:300.

242. Rivera FA, Roa RMA, Ordóñez BML, De la Peña MA. Seroprevalencia de leptospirosis en perros callejeros del norte de la ciudad de México. Vet Mex 1999; 30:105-107.

243. Luna AMA, Moles CLP, Nava VC, Urrutia VR. Empleo de dos serovariedades de *Leptospira interrogans* aisladas en México en el diagnóstico serológico de leptospirosis canina. Memorias del Primer Congreso Internacional de Epidemiología; 2000 Enero 25-27; Toluca (Edo. Mex.) México, México (DF): Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria, AC, 2000:183-185.
244. Luna AMA, Moles CLP, Salazar GF, Nava VC, Gavaldón RD. Leptospirosis canina en México. Memorias en CD de la Segunda Reunión Internacional de Leptospirosis Mayo 17-19 Habana, Cuba 2004.
245. Moles CLP, López VPA, Gavaldón RDG, Luna AMA, Rojas SN, Torres BJI, Cadena LIG. Determinación de anticuerpos contra *L. interrogans* en perros callejeros y domiciliados del poniente de la ciudad de México. Memorias de la XL Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2004 noviembre 22-26; Mérida (Yucatán) México. México (DF): INIFAP, UNAM, SAGARPA, UAM, 2004:88.
246. Bernard WV, Williams D, Tuttle PA, Pierce S. Hematuria and leptospiruria in a foal. J Am Vet Med Assoc 1993; 203:276-278.
247. Hogan PM, Bernard WV, Kazakevicius PA, Fitzgerald MR. Acute renal disease due to *Leptospira interrogans* in a weanling. Equine Vet J 1996; 28:331-333.
248. Donahue JM, Smith BJ, Redmon JK, Donahue JK. Diagnosis and prevalence of *Leptospira* infection in aborted and stillborn horses. J Vet Diag Invest 1991; 3:148-151.
249. Donahue JM, Smith BJ, Donahoe JK, Rigsby CL, Tramontin RR, Poonacha KB, Wilson MA. Prevalence and serovars of *Leptospira* involved in equine

abortions in central Kentucky during the 1990 foaling season. J Vet Diag Invest 1992; 4:279-284.

250. Poonacha KB, Donahue JM, Giles RC, Hong CB, Petrites-Murphy MB, Smith BJ, Swerczek TW, Tramontin RR, Tuttle PA. Leptospirosis in equine fetuses, stillborn foals, and placentas. Vet Pathol 1993; 30:362-369.

251. Kemenes F, Surjan J, Kasza L. Studies on equine leptospirosis with emphasis on eye-lesions (equine periodic ophthalmia). Annals Immunol Hung 1984; 24:345-355.

252. Dwyer AE, Crockett RS, Kalsow CM. Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993). J Am Vet Med Assoc 1995; 207:1327-1331.

253. Faber NA, Crawford M, LeFebvre RB, Buyukmihci NC, Madigan JE, Willits NH. Detection of *Leptospira spp.* in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. J Clin Microbiol 2000; 38:2731-2733.

254. Shimada MA. Incidencia de aglutinación contra *Leptospira pomona* encontrada en caballos del D.F. (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1964.

255. Legorreta PJ. Exploración serológica de leptospirosis equina en el D.F. utilizando 19 serotipos (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1972.

256. López PM. Detección de anticuerpos contra *L. interrogans* en una población de equinos dedicados a la producción de sueros hiperinmunes (tesis de

licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1997.

257. Luna AMA, Moles CLP, Urrutia VRM. Estudio serológico de *L. interrogans* en equinos de Baja California Norte, México. Memorias de la XXXV Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1999 octubre 19-22; Mérida (Yucatán) México. México (DF): INIFAP, UNAM, SAGARPA, UAM, 1999:156.

258. Little TWA, Parker BNJ, Stevens AE, Hathaway SC, Markson LM. In apparent infection of sheep in Britain by leptospiroses of the Australis serogroup. Res Vet Sci 1981; 31:386-387.

259. Ellis TM, Hustas L, Robertson GM, Mayberry C. Kidney disease of sheep, associated with infection by leptospiroses of the Sejroe serogroup. Aus Vet J 1984; 61:304-306.

260. Leon-Vizcaino L, Hermoso De Mendoza M, Garrido F. Incidence of abortions caused by Leptospirosis in Sheep and goats in Spain. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 1987; 10:149-151.

261. Cousins DV, Ellis TM, Parkinson J, McGlashan CH. Evidence for sheep as a maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. Vet Rec 1989;124:123-124.

262. Clark AM. *Leptospira hardjo* infection in sheep (letter). Vet Rec 1994; 134:283.

263. Ellis WA. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. Veterinary Clinics of North America – Fook Animal Practice. 1994b; 10:463-478.

264. Cerri D, Nuvoloni R, Ebani V, Pedrini A, Mani P, Andreani E, Farina R. *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* in the kidneys and genital tracts of naturally infected sheep. *New Microbiol* 1996; 19:175-178.
265. Van der Hoeden J. Leptospirosis among goats in Israel. *R Vet* 1954; 11:104-110.
266. Morse EV, Morter RL, Lagham RF, Lundberg A. Experimental ovine leptospirosis, *Leptospira pomona* infection. *J Infect Dis* 1957; 101:129-136.
267. Morse EV, Langham RF. Experimental leptospirosis. III. Caprine *Leptospira pomona* infection. *Am J Vet Res* 1958; 19:139-144.
268. Marshall RB. Ultrastructural changes in renal tubules of sheep following experimental infection with *Leptospira interrogans* serotype *pomona*. *J Med Microbiol* 1974; 7:505-508.
269. Andreani E, Tolari F, Farina R. Experimental infection in sheep with *Leptospira interrogans* serotype *hardjo*. *Brit Vet J* 1983; 139:165-170.
270. Pérez PR. Aislamiento y serotipificación de leptospiras a partir de caprinos sacrificados en el rastro de Ferreria, D. F. (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1985.
271. Campos HR. Presencia de anticuerpos contra leptospiras en caprinos (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Estudios Superiores. Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, 1985.
272. Ortiz Villanueva A. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en ovinos criollos e importados (tesis de licenciatura) México (DF)

México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1987.

273. Veloz GE, Moles CLP, Torres BJI, Gavaldón RD, Rojas SN, Cisneros PMA. Determinación de anticuerpos anti-*Leptospira* en caprinos en el estado de Guanajuato, México. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias, 1994:131.

274. Cabello FE, De la Peña MA. Detección de anticuerpos contra *L. interrogans* en cabras con cuadro abortivo. Memorias de la XXXII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1996 diciembre 2-4 Cuernavaca (Morelos) México. México (DF): SARH, UNAM, PAIEPEME, UAM, GOBIERNO DEL ESTADO DE SONORA, CP, FUPRO, 1996:94.

275. Everard COR, Cazabon EPI, Dreesen DW, Sulzer CR. Leptospirosis in dogs and cats on the Island of Trinidad: Wets Indies. Int J Zoon 1979; 6:33-40.

276. Dickenson D, Love DN. A serological survey of dogs, cats and horses in South-Eastern Australia for leptospiral antibodies. Aus Vet J 1993; 70:389-390.

277. Luke Mv, Crowther TS. The incidence of leptospiral agglutination titres in the domestic cat. Vet Rec 1965; 77:647-648.

278. Bryson DG, Ellis EA. Leptospirosis in a British Domestic cat. J Small Anim Pract 1976; 17:459-465.

279. Gaskel MR, Benett M. Feline and canine infection disease. 1st ed. USA: Blackwell Science, 1996.

280. Shopphet R. A serological survey of Leptospirosis in cats. N Z Vet J 1979; 27:245-246.

281. Shophet B, Marshall RB. An experimentally induced predator chain transmission of *Leptospira ballum* from mice to cats. Br Vet J 1980; 136:265-270.
282. Larson CE, Santa Rosa CA, Matiko A, Larson MH, Birgel EH Fernandez WR, Paim GV. Laboratory and clinical features of experimental feline leptospirosis. Int J Zoon 1985; 12:111-119.
283. De la Peña MA. Detección de *Leptospira spp.* en felinos domésticos. Métodos microscópico, serológico y bacteriológico. Memorias del XIII Congreso Nacional de AMMVEPE 1992 mayo 20 al 23; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies, AC., 1992.
284. Estrada CIA, Torres BJI, Rodríguez MJ, Moles CLP, Fernández HJ. Demostración de anticuerpos anti-*Leptospira* en gatos (*Felis catus*). Rev AMMVEPE 2003; 14:92-105.
285. Yukawa M, Mochizuki K, Imamura S. Susceptibility of Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) to leptospires and the protective effect of vaccination. Vet Microbiol 1990; 24:63-71.
286. Yukawa M. Differential susceptibility of two stocks of Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) to *Leptospira*. J Exp Anim Sci 1991; 34:1-5.
287. Pereira MM, Andrade J, Marchevsky RS, Ribeiro Dos Santos S. Morphological characterization of lung and kidney lesions in C3H/HeJ mice infected with *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*: defect of CD4+ and CD8+ T-cells are prognosticator of the disease progression. Exp Tox Pathol 1998; 50:191-198.

288. Faine S. Virulence in *Leptospira*. I. Reactions of guinea-pigs to experimental infection with *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Brit J Exp Pathol 1957; 38:1-7.
289. Faine S. The growth of *Leptospira australis* in the kidneys of the mice in the incipient experimental carrier state. J Hyg 1962; 60:435-442.
290. Faine S, Lane GK. Urinary antibody during renal damage due to leptospiral infection in mice. J Infect Dis 1963; 113:110-112.
291. Faine S. Antibody in the renal tubules and urine of mice. Aus J Exp Biol Med Sci 1963; 41:81-91.
292. Ferris HD, Hanson EL, Rhoades EH, Alberts OJ. Bacteriologic and serologic investigation of brucellosis and leptospirosis in Illinois deer. J Am Vet Med Assoc 1961; 139:892-896.
293. Hyakutake SB, Persio DB, Helio E, Santa R. Leptospirosis in Brazilian snakes. Int J Zoon 1980; 7:73-77.
294. Everard ROC, Fraser-Cahnpong MG, Bhagwanding JL, James CA. Leptospire in wildlife from Trinidad and Granada. J Wildl Dis 1983; 19:192-199.
295. Cirone M, Riemann HP, Ruppanner R, Behymer ED, Franti EC. Evaluation of hemagglutination test for epidemiologic studies of leptospiral antibodies in wild animals. J Wildl Dis 1978; 14:193-202.
296. García PA. Estudio serológico de brucelosis y leptospirosis en una población de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) albergada en el zoológico de Chapultepec (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
297. Acotzi GAC. Estudio serológico de leptospirosis en una colonia de pécaris de collar (*Tayassu tajacu*) albergada en el zoológico de Chapultepec de la ciudad de

México (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1992.

298. Moles CLP, Pulido RJ, Banda RVM, Luna AMA, Gavaldón RD, Torres BJI. Diagnóstico serológico de leptospirosis en un panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tec Pec Mex 1994; 32:45-49.

299. Erazo GR. Diagnóstico serológico de leptospirosis, ojo azul, brucelosis, aujezky y parvovirus porcino en una población de pécaris de collar albergada en el zoológico de Chapultepec (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1994.

300. Luna AMA, Moles CLP, Torres BJI, Gual SF. Investigación serológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la ciudad de México. Vet Mex 1996; 27:229-233.

301. Urrutia VRM, Bustamante SJ, Rodríguez AE, Moles CLP, Luna AMA, Córdova D, Torres BJI. Perfil serológico de *Leptospira interrogans* en búfalos introducidos al sureste de México. Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatría; 2000 junio 15-17; Guadalajara (Jalisco) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2000:149.

302. Olascoaga EA. Estudio de leptospirosis en fauna silvestre del zoológico de Chapultepec. Informe final y estudio de caso de la Práctica Profesional Supervisada. México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 2004.

303. Vinh T, Faine S, Handley CJ, Adler B. Immunochemical studies of opsonic epitopes of the lipopolysaccharide of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. FEMS Immunol Med Microbiol 1994; 8:99-107.
304. Midwinter A, Vinh T, Faine S, Adler B. Characterization of an antigenic oligosaccharide from *Leptospira interrogans* serovar *pomona* and its role in immunity. Infect Immun 1994; 62:5477-5482.
305. Jost BH, Adler B, Vinh T, Faine S. A monoclonal antibody reacting with a determinant on leptospiral lipopolysaccharide protects guinea pigs against leptospirosis. J Med Microbiol 1986; 22:269-275.
306. Schoone GJ, Everard C R, Korver H, Carrington DG, Inniss VA, Baulu J, Terpstra WJ. An immunoprotective monoclonal antibody directed against *Leptospira interrogans* serovar *copenhageni*. J Gen Microbiol 1989; 135:73-78.
307. Adler B, Faine S. Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. Infect Immun 1977; 17:67-72.
308. Adler B, Faine S, Muller, HK, Green DE. Maturation of humoral immune response determines the susceptibility of guinea-pigs to leptospirosis. Pathol 1980; 12:529-538.
309. Blackmore DK, Schollum ML, Moriarty MK. The magnitude and duration of titres of leptospiral agglutinins in human sera. New Zeal Med J 1984; 97:83-86.
310. Lupidi R, Cinco M, Balanzin D, Delprete E, Varaldo EP. Serological follow-up of patients involved in a localized outbreak of leptospirosis. J Clin Microbiol 1991; 29:805-809.

311. Haake DA, Mazel KM, McCoy MA, Milward F, Chao G, Matsunaga J, Wagar AE. Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and LipL41 exhibit synergistic immunoprotection. *Infect Immun* 1999; 67:6572-6582.
312. Bolin CA, Alt DP. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *Am J Vet. Res* 2001; 62:995-1000.
313. Naiman BM, Blumerman S, Alt DP, Bolin CA, Brown R, Zuerner R, Baldwin CL. Evaluation of type 1 immune response in naïve and vaccinated animals following challenge with *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo: involvement of WC1⁺ $\gamma\delta$ and CD4 T cells. *Infect Immun* 2002; 70:6147-6157.
314. Branger C, Sonrier C, Chatrenet B, Klonjowski B, Ruvoen-Clouet N, Aubert A, Andre-Fontaine G, Eloit M. Identification of the hemolysis-associated protein 1 as a cross-protective immunogen of *Leptospira interrogans* by adenovirus-mediated vaccination. *Infect Immun* 2001; 69:6831-6838.
315. Prescott JF, Baggot DJ. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 2nd ed Iowa State University press/Ames, 1993.
316. Spradbrow PB. Sensitivity to drugs of Australian leptospiral serotypes. *Brit J Pharmacol* 1963; 20:230-236.
317. Gilks CF, Lambert HF, Broughton ES, Baker CC. Failure of penicillin prophylaxis in laboratory acquired leptospirosis. *Post Med J* 1988; 64:236-238.
318. McClain JBL, Ballou WR, Harrison SM, Steinweg DL. Doxycycline therapy for leptospirosis. *Ann Int Med* 1984; 100:696-698.

319. Cisneros PMA. Tratamiento prevención y control de la leptospirosis porcina. Memorias del Primer Seminario-Taller Nacional sobre el Diagnóstico y Control de la Leptospirosis. 1997 julio 23-25; México (DF) México: Universidad Autónoma Metropolitana, ICA, 1997.
320. Torres BJI. La leptospirosis bovina. Memorias del Primer Seminario-Taller Nacional sobre el Diagnóstico y Control de la Leptospirosis. 1997 julio 23-25; México (DF) México: Universidad Autónoma Metropolitana, ICA, 1997.
321. Hartskeerl RA, Smits HL, Korver H, Goris MG, Terpstra WJ. International course on Laboratory Methods for the Diagnosis of Leptospirosis. Royal Tropical Institute, Dept of Biomedical Research. Amsterdam the Netherlands 2000.
322. Myers DM. Manual de Métodos para el Diagnóstico de Laboratorio de Leptospirosis. Centro Panamericano de Zoonosis. Buenos Aires, Argentina: Organización Mundial de la Salud. 1985.
323. Sehgal SC. Reevaluation of conventional diagnostic techniques in leptospirosis. Memorias en formato de CD de la Segunda Reunión Internacional Leptospirosis; 2004 Mayo 17-19 Habana, Cuba, 2004.
324. Zamora BJ, Riedmann GS, Montecinos MY, Cabezas XO. Encuesta serológica de leptospirosis humana en ocupaciones de alto riesgo en Chile. Rev Med Chil 1990; 118:247-252.
325. Aber MD, Robert C, Donald C, Mackel MS. Epidemiologic typing of nosocomial microorganisms. Am J Med 1981; 70:899-905.
326. Selander RK, Caugant DA, Whittmann TS. In: Neidhardt FC, editors. *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Cellular and molecular biology. Washington, D.C. USA: ASM press, 1987:1625-1628.

327. Eisenstein IB. New molecular techniques for microbial epidemiology and the diagnosis of infectious diseases. *J Infect Dis* 1990; 161:595-602.
328. Meinkoth J, Wahl G. Hybridization of nucleic acid immobilized on solid supports. *Annal Biochem* 1984; 138:267-284.
329. LeFebvre RB, Foley JW, Thiermann AB. Rapid and simplified protocol for isolation and characterization of leptospiral chromosomal DNA for taxonomy and diagnosis. *J Clin Microbiol* 1985; 22:606-608.
330. Thiermann AB, Handsaker AL, Moseley SL, Kinscote B. New method for classification of leptospiral isolates belonging to serogroup Pomona by restriction endonuclease analysis: serovar *kennewicki*. *J Clin Microbiol* 1985; 21:585-587.
331. LeFebvre RB, Thiermann AB. DNA homology studies of leptospires of serogroups Sejroe and Pomona from cattle and swine. *Am J Vet Res* 1986; 47:959-963.
332. LeFebvre RB. DNA probe for detection of the *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* genotype *hardjobovis*. *J Clin Microbiol* 1987; 25:2236-2238.
333. Millar BD, Chappel RJ, Adler B. Detection of leptospires in biological fluids using DNA hybridization. *Vet Microbiol* 1987; 15:71-78.
334. McCormick BM, Millar BD, Monckton RP, Jones RT. Detection of leptospires in pig kidney using DNA hybridization. *Res Vet Sci* 1989; 47:134-135.
335. Ramadass P, Marshall RB. Species differentiation of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* strain *hardjobovis* from strain *hardjoprajitno* by DNA slot blot hybridization. *Res Vet Sci* 1990; 49:194-197.

336. Amann IR, Krumholz L, Stahl AD. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative phylogenetic and environmental studies in microbiology. *J Bacteriol* 1990; 172:762-770.
337. McCabe PC. PCR Protocols: Guide to Methods and Applications, Academic press, 1990:76-83.
338. Gerritsen MJ, Olyhoek T, Smits AM, Bokhout AB. Sample preparation method for polymerase chain reaction based on semiquantitative detection of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* subtype *hardjobovis* in bovine urine. *J Clin Microbiol* 1991; 29:2805-2808.
339. Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl Ac Res* 1990; 18:7213-7218.
340. World Health Organization. Leptospirosis worldwide. *Weekly Epidemiological Record* 1999; 74:237-242.
341. Luna AMA, Moles CLP, Urrutia VRM, Nava VMC. Aislamiento tipificación y elaboración de una bacterina con una cepa aislada en México de *L. interrogans* serogrupo Canicola serovariedad Portland-Vere. *Memorias del XVI Congreso Nacional de AMMVEPE* 1995 mayo 20-23; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies, AC., 1995:183-187.
342. Olson PN, Johnson SD. New development in small animal population control. *Memorias del III Curso Internacional de Reproducción Canina*. 1997 marzo 10-12; Centro Medico Nacional Siglo XXI, México. México (DF): Academia de Investigación en Biología de la Reproducción AC, 1997:35-40.

343. Baldwin CJ, Atkins CE. Leptospirosis in dogs. *Comp S Anim* 1987; 9:499-507.
344. Caballero SA, Pérez SJC, Colin OJR, Bernal VC, Alarcón VJA, Lomelin ZRR, Cuellar EAJ. Seropositividad a *Leptospira* en trabajadores del rastro de la ciudad de Guadalajara, Jal. Mex. en 1995. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 1996; 16:32.
345. Gavaldón RDG. Leptospirosis en humanos. Memorias del Primer Seminario-Taller Nacional sobre el Diagnóstico y Control de la Leptospirosis. 1997 julio 23-25; México (DF) México: Universidad Autónoma Metropolitana, ICA, 1997.
346. Gavaldón RDG, Cisneros MA, Rojas N, Moles CLP. Significance of human leptospirosis in México. Detection of *Leptospira* antibodies in a blood donor population. *Gaceta Médica Mexicana* 1995; 131:289-292.
347. Trainer OD, Karstad L, Hanson PR. Experimental leptospirosis in white-tailed deer. *J Infect Dis* 1961; 108:278-276.
348. Hodgson C, Schillhorn WT, Fayer R, Richter N. Leptospirosis and coccidial infection in a guanaco. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 185:1442-1444.
349. Bourque M, Higgins R. Serologic studies on brucellosis, leptospirosis and tularemia in Moose (*Alces alces*) in Quebec. *J Wildl Dis* 1984; 20:95-99.
350. Fournier SJ, Gordon CJ, Dorn RC. Comparison on antibodies to *Leptospira* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and cattle in Ohio. *J Wildl Dis* 1986; 22:335-339.
351. Smith AW, Brown RJ, Skilling DE, DeLong RL. *Leptospira pomona* and reproductive failure in California sea lions. *J Am Vet Med Assoc* 1974; 166:996-997.

352. Collier WA, Mochtar A. Een serologisch afwijkende leptospirastam uit de nier eener vleermuis. *Geneesk Tijdschr Ned-Ind* 1939; 79:226-231.

353. Wallch D, Joel DVM, Boever J, William DVM. *Diseases of exotic animals/Medical and surgical Management*. Saunders Comp Philadelphia 1983.

CUADROS DE RESULTADOS

CUADRO 9**DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES Y NÚMERO DE MUESTRAS
REGISTRADAS POR EL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE
LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004**

ESPECIE	NÚMERO DE CASOS
1 Antílope	2
2 Bovino	3,565
3 Canguro	2
4 Canino	1,738
5 Caprino	68
6 Cebra	4
7 Ciervo rojo	160
8 Cobayo	3
9 Conejo	4
10 Delfín	1
11 Dromedario	2
12 Equino	164
13 Gato	5
14 Hámster	8
15 Jaguar	6
16 Jirafa	1
17 León	1
18 Leopardo	7
19 Lobo gris mexicano	4
20 Lobo marino	3
21 Mono araña	1
22 Muflón	1
23 Murciélago	5
24 Orix	1
25 Oso hormiguero	1
26 Ovino	76
27 Panda gigante	3
28 Porcino	945
29 Primate	4
30 Puma	5
31 Rata	1
32 Rinoceronte	2
33 Rumiante	7
34 Tapir	5
35 Tigre	1
36 Venado	2
37 Wallaby	1
38 Wapiti	1
Sub total	6,810
Varias*	89
Vacías**	24
Total	6,923

(*) y (**) No se reportaba la especie. Para efectos de los análisis éstos casos fueron desechados.

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM.

CUADRO 10

RELACIÓN ENTRE ESPECIES Y SEXO DE LOS ANIMALES (CONSIDERANDO ÚNICAMENTE LAS MUESTRAS EN QUE FUE REPORTADO), EN LAS ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTRO \geq A 30. LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

ESPECIE	MACHO (%)	HEMBRA (%)	TOTAL
Bovino	65 (2)	3260 (98)	3325
Canino	945 (58)	676 (42)	1621
Porcino	21 (3)	693 (97)	714
Caprino	6 (10)	56 (90)	62
Ciervo rojo	25 (27)	67 (73)	92
Equino	61 (45)	75 (55)	136
Ovino	18 (28)	47 (72)	65
TOTAL	1,141	4,874	6,015

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM.

CUADRO 11**DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS RECIBIDAS POR AÑO
EN EL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS
(DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004**

AÑO	NÚMERO DE CASOS
(abril) 1989	29
1990	618
1991	305
1992	236
1993	573
1994	230
1995	159
1996	335
1997	415
1998	246
1999	184
2000	279
2001	351
2002	1,643
2003	1,090
(julio) 2004	220
SUB TOTAL	6,913
VACIAS	10
TOTAL	6,923

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM.

CUADRO 12

PROMEDIO DE EDAD (EN MESES) POR ESPECIE (CONSIDERANDO SOLAMENTE LAS MUESTRAS EN QUE FUE REPORTADA). LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

ESPECIE	No. OBS.	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
BOVINO	3,565	41.9	26.0	0	48
CANINO	1,738	59.5	43.1	0	204
CAPRINO	68	35.0	17.4	5.0	48
CEBRA	4	108.0	-	-	-
CIERVO ROJO	160	31.7	21.5	16.0	60
CONEJO	4	12.0	0	12.0	12
EQUINO	164	121.7	52.2	48.0	240
FELINO	3	125.3	95.4	16.0	192
GATO	5	19.2	6.6	12.0	24
HÄMSTER	8	3.7	2.3	1.0	5
JAGUAR	6	97.5	116.7	15.0	180
LEOPARDO	7	240.0	0	240.0	240
LEÓN	1	48.0	-	-	-
ORIX	1	12.0	-	-	-
OVINO	76	19.6	11.6	5.0	60
PANDA GIGANTE	3	216.0	0	216.0	216
PORCINO	945	14.3	17.1	0	17
PUMA	2	168.0	-	168.0	168
TIGRE	1	24.0	-	24.0	24

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM.

CUADRO 13

SEROVARIEDADES DETECTADAS (CON TITULOS \geq 1:100) MEDIANTE LA PRUEBA DE AM, EN ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTROS \leq A 30. LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

ESPECIE (N)	NEGATIVOS	SEROVARIEDADES					
ANTILOPE (2)	0	Grippotyphosa 1(1:400)	Wolffi 1(1:400)	Pomona 1(1:100)	Icterohaemorrhagiae RGA 1(1:100)		
CANGURO (2)	1	Bratislava 1(1:400)	Hardjo 1 (1:100)				
CEBRA (4)	0	Bratislava 1(1:200)	Grippotyphosa 1 (1:800)	Hardjo 1(1:100) 1(1:800)	Wolffi 1(1:800)	Pomona 2 (1:100)	Pyrogenes 1(1:100)
COBAYO (3)	0	Canicola 1(1:200)	Hardjo 2(1:200)	Sejroe 1(1:200)	Tarassovi 1(1:200)		
GATO (5)	4	Pyrogenes 1(1:200)	Canicola 1(1:100)				
JAGUAR (6)	5	Canicola 1 (1:400)	Hardjo 1(1:1600)				
LEOPARDO (7)	3	Bataviae 3 (1:200)	Canicola 1(1:100)	Grippotyphosa 1(1:100) 2(1:200)	Pomona 2(1:100)		
LOBO GRIS MEXICANO (4)	0	Ballum 1(1:400)	Bataviae 1(1:200)	Canicola 1(1:400) 1(1:800)	Icterohaemorrhagiae RGA 2(1:100) 1(1:200)	Pyrogenes 1(1:100)	

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM

Continuación del cuadro 13

ESPECIE (N)	NEGATIVOS	SEROVARIIDADES			
LOBO MARINO (3)	2	Icterohaemorrhagiae RGA 1(1:100)			
MURCIÉLAGO (5)	4	Hardjo 1(1:200)			
OSO HORMIGUERO (1)	0	Icterohaemorrhagiae RGA 1(1:100)			
PANDA GIGANTE(3)	2	Canicola 1(1:100)			
PUMA (5)	1	Pomona 1(1:1600)			
RINOCERONTE (2)	0	Ballum 1(1:400)	Grippotyphosa 1(1:400)	Tarassovi 1(1:100)	
RUMIANTE (7)	4	Autumnalis 1(1:100); 1(1:200)	Ballum 1(1:200)	Bataviae 1(1:200)	Pomona 1(1:100)
TAPIR (5)	3	Grippotyphosa 1(1:100)	Sejroe 1(1:200)	Tarassovi 1(1:100)	Wolffi 1(1:200)
VENADO (2)	0	Canicola 1(1:100)	Hardjo 1(1:100)		

(N) = número de muestras remitidas.

CUADRO 14

RELACIÓN ENTRE SEROPOSITIVIDAD MEDIANTE LA PRUEBA DE AM Y EL SEXO EN LAS ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTRO \leq A 30 (CONSIDERANDO SOLAMENTE LAS MUESTRAS EN QUE FUE REPORTADO). LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

ESPECIE (N)	SEXO		
	TOTAL DE SEROPOSITIVOS	SEROPOSITIVIDAD EN MACHOS	SEROPOSITIVIDAD EN HEMBRAS
ANTÍLOPE (2)	1	1 (100%)	0 (0%)
CANGURO (2)	1	1 (100%)	0 (0%)
CEBRAS (4)	4	2 (50%)	2 (50%)
PUMA (5)	1	1 (100%)	0 (0%)
FELINO DOMÉSTICO (5)	1	0 (0%)	1 (100%)
JAGUAR (6)	1	0 (0%)	1 (100%)
LEOPARDO ((7)	4	4 (100%)	0 (0%)
LOBO GRIS MEXICANO (4)	1	1 (100%)	0 (0%)
LOBO MARINO (3)	1	0 (0%)	1 (100%)
MURCIÉLAGO (5)	1	0 (0%)	1 (100%)
PANDA GIGANTE (3)	1	0 (0%)	1 (100%)
RINOCERONTE (2)	2	2 (100%)	0 (0%)
VENADO (2)	2	0 (0%)	2 (100%)

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM.
(N) total de muestras recibidas

CUADRO 15

CANTIDAD DE MUESTRAS CON RESULTADOS POSITIVOS¹ Y NEGATIVOS² MEDIANTE LA PRUEBA DE AM, EN LAS ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTRO \geq A 30. LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

ESPECIE	TOTAL DE MUESTRAS RECIBIDAS	MUESTRAS DE SUERO (%)	OTRAS MUESTRAS (%)	SEROPOSITIVOS (%)	SERONEGATIVOS (%)
BOVINA	3,565	3,556 (99.7)	9 (.3)	1,957 (55)	1,599 (45)
CANINA	1,738	1,513 (87)	225 (13)	662 (44)	851 (56)
PORCINA	945	942 (99.7)	3 (.3)	367 (39)	575 (61)

^d* Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM

Continuacion del cuadro 15

ESPECIE	TOTAL DE MUESTRAS RECIBIDAS	MUESTRAS DE SUERO (%)	OTRAS MUESTRAS (%)	SEROPOSITIVOS (%)	SERONEGATIVOS (%)
EQUINA	164	161 (98.2)	3 (1.8)	86 (53)	75 (47)
OVINA	76	75 (98.7)	1 (1.3)	32 (43)	43 (57)
CAPRINA	68	68 (100)	0 (0)	45 (68)	23 (32)

¹ 'Positivos' con lectura de 1:100 a 1:3200 en la prueba de aglutinación microscópica.

² 'Negativos' con lectura de menor o igual a 1:50 en la prueba de aglutinación microscópica.

Muestras no serológicas: se refiere que pueden ser de orina, riñón, semen, feto y contenido estomacal que fueron remitidas para realizar observación microscópica o para intentar el aislamiento.

CUADRO 16

TOTAL DE REACCIONES POSITIVAS³ Y NEGATIVAS⁴ MEDIANTE LA PRUEBA DE AM, EN LAS ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTRO \geq A 30. LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS DEPARTAMENTO DE MeI^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

RESULTADOS	BOVINOS N = 3,556	CANINOS N = 1,513	PORCINOS N = 942	EQUINOS N = 161	OVINOS N = 75	CAPRINOS N = 68	TOTAL
Reacciones Positivas ³	4,355	961	605	152	45	74	6,192
Reacciones Negativas ⁴	4,726	1,281	850	150	53	96	7,156
Total de reacciones	9,081	2,242	1,455	302	98	170	13,348

³ 'Positivas' con lectura de 1:100 a 1:3200 en la prueba de aglutinación microscópica

⁴ 'Negativas' con lectura de 1:50 en la prueba de aglutinación microscópica

Un suero puede tener al mismo tiempo más de una reacción tanto positiva como negativa, ya que es enfrentado a 19 diferentes serovariedades.

CUADRO 17

RELACIÓN ENTRE SEROPOSITIVIDAD⁵ EN LA PRUEBA DE AM Y EL SEXO EN LAS ESPECIES, CON FRECUENCIA DE REGISTRO \geq A 30 (CONSIDERANDO SOLAMENTE LAS MUESTRAS EN QUE FUE REPORTADO). LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

ESPECIE	SEXO					
	MUESTRAS DE SUERO	SUEROS CON REGISTRO DEL SEXO	MACHOS		HEMBRAS	
			POSITIVOS	NEGATIVOS	POSITIVAS	NEGATIVAS
BOVINOS	3,556	3,325	31 (0.93%)	34	1,798 (54.07%)	1,462
CANINO	1,513	1,388	349 (21.59%)	442	267 (16.59%)	330
PORCINO	942	714	12 (1.68%)	9	258 (36.13%)	435
EQUINO	161	136	26 (19.12%)	35	56 (41.18%)	19
OVINO	75	65	8 (12.31%)	10	14 (21.54%)	33
CAPRINO	68	62	3 (4.84%)	3	36 (58.06%)	20

⁵ Se considera seropositivo cuando el suero reaccionó al menos a una serovariedad en diluciones \geq 1:100

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ - UNAM.

CUADRO 18

REACCIONES POSITIVAS (TÍTULOS \geq 1:100) POR SEROVARIEDAD, DETECTADAS EN LA PRUEBA DE AM, EN LAS ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTRO \geq A 30 (CONSIDERANDO LAS MUESTRAS EN QUE FUE REPORTADO). LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE MeI) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	BOVINOS N =3,556	CANINOS N = 1,513	PORCINOS N = 942	EQUINOS N = 161	OVINOS N = 75	CAPRINOS N = 68
Australis	25	10	27	2	0	0
Autumnalis	110	71	77	22	5	8
Ballum	130	24	34	1	7	2
Bataviae	122	5	13	1	2	2
Bratislava	28	32	1	32	0	0
Canicola	338	373	56	35	3	5
Celledoni	20	33	29	0	1	0
Cynopteri	39	4	6	1	2	0
Grippotyphosa	323	38	28	3	0	1
Hardjo	806	20	34	2	1	3
Hebdomadis	41	3	19	1	0	1
Icterohaemorrhagiae	445	166	124	3	6	12
Paidjan	8	3	16	0	2	0
Pomona	276	64	41	2	10	24
Pyrogenes	216	85	23	45	3	8
Sejroe	239	3	18	0	0	3
Szwajizak	53	16	1	1	2	1
Tarassovi	647	7	43	1	1	1
Wolffi	489	4	15	0	0	3
TOTAL	4,355	961	605	152	45	74

CUADRO 19

NÚMERO DE SUEROS DE BOVINOS REACTORES EN AM (N = 3,556).
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO
DE MEI^D) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	TITULOS						TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,600	1:3,200	
Australis	16	5	2	1	1	0	25
Autumnalis	57	38	9	4	2	0	110
Ballum	95	32	3	0	0	0	130
Bataviae	74	31	8	9	0	0	122
Bratislava	20	6	2	0	0	0	28
Canicola	210	77	33	16	2	0	338
Celledoni	16	2	2	0	0	0	20
Cynopteri	25	8	4	0	1	1	39
Grippotyphosa	175	78	36	29	5	0	323
Hardjo	335	197	118	111	41	4	806
Hebdomadis	26	8	3	2	2	0	41
Ictero RGA	267	94	58	21	5	0	445
Paidjan	5	3	0	0	0	0	8
Pomona	151	83	24	12	5	1	276
Pyrogenes	135	48	19	12	1	1	216
Sejroe	123	62	39	10	5	0	239
Szwajizak	27	15	9	1	1	0	53
Tarassovi	297	220	87	27	16	0	647
Wolffi	215	122	86	35	30	1	489
TOTAL	2,269	1,129	542	290	117	8	4,355

CUADRO 20

NÚMERO DE SUEROS DE CANINOS REACTORES EN AM (N = 1,513).
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO
DE MEI^D) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	TITULOS						TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,600	1:3,200	
Australis	7	2	0	1	0	0	10
Autumnalis	45	16	5	5	0	0	71
Ballum	18	3	2	0	0	0	23
Bataviae	5	0	0	0	0	0	5
Bratislava	14	8	6	3	0	0	31
Canicola	186	114	47	19	6	0	373
Celledoni	31	2	0	0	0	0	33
Cynopteri	0	3	0	0	1	0	4
Grippotyphosa	24	9	3	2	0	0	38
Hardjo	8	4	4	2	1	0	19
Hebdomadis	1	1	1	0	0	0	3
Ictero RGA	68	49	31	14	3	1	166
Paidjan	3	0	0	0	0	0	3
Pomona	50	7	3	4	0	0	64
Pyrogenes	36	19	15	7	4	1	85
Sejroe	2	1	0	0	0	0	3
Szwajizak	11	2	1	2	0	0	16
Tarassovi	3	3	1	0	0	0	7
Wolffi	4	0	0	0	0	0	4
TOTAL	516	243	119	59	13	2	958

CUADRO 21

NÚMERO DE SUEROS DE PORCINOS REACTORES EN AM (N = 942).
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO
DE MEI^D) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	TITULOS						TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,600	1:3,200	
Australis	10	3	8	3	3	0	27
Autumnalis	27	23	11	16	0	0	77
Ballum	20	10	2	1	1	0	34
Bataviae	6	6	1	0	0	0	13
Bratislava	0	1	0	0	0	0	1
Canicola	25	11	10	9	1	0	56
Celledoni	8	8	8	4	1	0	29
Cynopteri	3	2	1	0	0	0	6
Grippotyphosa	17	6	4	0	1	0	28
Hardjo	19	9	3	2	1	0	34
Hebdomadis	3	8	1	2	5	0	19
Ictero RGA	63	39	16	5	1	0	124
Paidjan	7	2	3	4	0	0	16
Pomona	20	14	3	4	0	0	41
Pyrogenes	13	5	5	0	0	0	23
Sejroe	8	6	2	2	0	0	18
Szwajizak	1	0	0	0	0	0	1
Tarassovi	25	7	7	4	0	0	43
Wolffi	10	5	0	0	0	0	15
TOTAL	285	165	85	56	14	0	605

CUADRO 22

**NÚMERO DE SUEROS DE EQUINOS REACTORES EN AM (N = 161).
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO
DE MEI^D) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004**

SEROVARIEDADES	TITULOS						TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,600	1:3,200	
Australis	2	0	0	0	0	0	2
Autumnalis	13	9	0	0	0	0	22
Ballum	1	0	0	0	0	0	1
Bataviae	0	1	0	0	0	0	1
Bratislava	16	9	6	0	1	0	32
Canicola	10	8	10	3	4	0	35
Celledoni	0	0	0	0	0	0	0
Cynopteri	0	1	0	0	0	0	1
Grippotyphosa	2	1	0	0	0	0	3
Hardjo	2	0	0	0	0	0	2
Hebdomadis	1	0	0	0	0	0	1
Ictero RGA	3	0	0	0	0	0	3
Paidjan	0	0	0	0	0	0	0
Pomona	2	0	0	0	0	0	2
Pyrogenes	14	15	5	3	7	1	45
Sejroe	0	0	0	0	0	0	0
Szwajizak	1	0	0	0	0	0	1
Tarassovi	1	0	0	0	0	0	1
Wolffi	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	68	44	21	6	12	1	152

CUADRO 23

NÚMERO DE SUEROS DE OVINOS REACTORES EN AM (N = 75). LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE MEI^D) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	TITULOS						TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,600	1:3,200	
Australis	0	0	0	0	0	0	0
Autumnalis	2	1	1	0	0	1	5
Ballum	6	1	0	0	0	0	7
Bataviae	1	0	1	0	0	0	2
Bratislava	0	0	0	0	0	0	0
Canicola	0	3	0	0	0	0	3
Celledoni	0	1	0	0	0	0	1
Cynopteri	2	0	0	0	0	0	2
Grippotyphosa	0	0	0	0	0	0	0
Hardjo	0	0	0	1	0	0	1
Hebdomadis	0	0	0	0	0	0	0
Ictero RGA	4	2	0	0	0	0	6
Paidjan	1	0	1	0	0	0	2
Pomona	7	1	2	0	0	0	10
Pyrogenes	0	1	2	0	0	0	3
Sejroe	0	0	0	0	0	0	0
Szwajizak	0	2	0	0	0	0	2
Tarassovi	1	0	0	0	0	0	1
Wolffi	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	24	12	7	1	0	1	45

CUADRO 24

NÚMERO DE SUEROS DE CAPRINOS REACTORES EN AM (N = 68).
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO
DE MEI^D) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	TITULOS						TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,600	1:3,200	
Australis	0	0	0	0	0	0	0
Autumnalis	8	0	0	0	0	0	8
Ballum	2	0	0	0	0	0	2
Bataviae	2	0	0	0	0	0	2
Bratislava	0	0	0	0	0	0	0
Canicola	5	0	0	0	0	0	5
Celledoni	0	0	0	0	0	0	0
Cynopteri	0	0	0	0	0	0	0
Grippotyphosa	1	0	0	0	0	0	1
Hardjo	0	2	0	1	0	0	3
Hebdomadis	1	0	0	0	0	0	1
Ictero RGA	11	1	0	0	0	0	12
Paidjan	0	0	0	0	0	0	0
Pomona	18	5	0	1	0	0	24
Pyrogenes	4	3	1	0	0	0	8
Sejroe	3	0	0	0	0	0	3
Szwajizak	0	1	0	0	0	0	1
Tarassovi	0	0	1	0	0	0	1
Wolffi	3	0	0	0	0	0	3
TOTAL	58	12	2	2	0	0	74

CUADRO 25

NÚMERO DE SUEROS DE FELINOS DOMÉSTICOS REACTORES EN AM (N = 5).
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO
DE MEI^D) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	TITULOS						TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1,600	1:3,200	
Australis	0	0	0	0	0	0	0
Autumnalis	0	0	0	0	0	0	0
Ballum	0	0	0	0	0	0	0
Bataviae	0	0	0	0	0	0	0
Bratislava	0	0	0	0	0	0	0
Canicola	1	0	0	0	0	0	1
Celledoni	0	0	0	0	0	0	0
Cynopteri	0	0	0	0	0	0	0
Grippotyphosa	0	0	0	0	0	0	0
Hardjo	0	0	0	0	0	0	0
Hebdomadis	0	0	0	0	0	0	0
Ictero RGA	0	0	0	0	0	0	0
Paidjan	0	0	0	0	0	0	0
Pomona	0	0	0	0	0	0	0
Pyrogenes	0	1	0	0	0	0	1
Sejroe	0	0	0	0	0	0	0
Szwajizak	0	0	0	0	0	0	0
Tarassovi	0	0	0	0	0	0	0
Wolffi	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	1	1	0	0	0	0	2

CUADRO 26
CEPARIOS DE *Leptospira* UTILIZADOS EN EL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS
(DEPARTAMENTO DE MeI) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

SEROVARIEDADES	CEPARIO DEL CEPANZOO ¹								CEPARIO DEL INSTITUTO PASTEUR ²						CEPARIO DE BRISBANE ³		USO CONSTANTE
	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	
Australis	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	o	o	o	o	o	o	
Autumnalis	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Ballum	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	o	o	
Bataviae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Bratislava	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	x	
Canicola	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Celledoni	x	x	x	x	x	x	x	x	o	o	o	o	o	o	x	x	
Cynopteri	x	x	x	x	x	x	x	x	o	x	o	o	o	o	o	o	
Grippotyphosa	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Hardjo	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Hebdomadis	x	x	x	x	x	x	x	x	o	o	o	o	o	o	o	o	
Icterohaemorrhagiae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Paidjan	x	x	x	x	x	x	x	x	o	o	o	o	o	o	o	o	
Pomona	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Pyrogenes	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Sejroe	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	o	*
Szwajizak	o	o	o	x	x	x	x	x	x	o	o	o	o	o	o	o	
Tarassovi	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*
Wolffi	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	*

1- Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina. 2- Instituto Pasteur, Paris, Francia. 3- Laboratory of Microbiology and Pathology. Department of Health 63-79 George street. Brisbane, Queensland 4000 Australia. **X** = se trabajó; **O** = no se trabajó.

CUADRO 27

RANGO DE EDADES DE LOS SEROPOSITIVOS EN LA PRUEBA DE AM, EN ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTRO \geq A 30 (CONSIDERANDO SOLO LAS MUESTRAS EN QUE FUE REPORTADA). LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE MeI) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

RANGO DE EDAD EN AÑOS	BOVINO	CANINO	PORCINO	EQUINO	OVINO	CAPRINO
0 - 1	25	59	27	0	1	1
1 - 2	45	61	1	0	8	2
2 - 3	117	61	2	0	0	0
3 - 4	8	66	1	0	1	1
4 - 5	128	82	0	0	0	0
5 - 6	87	23	0	0	0	0
6 - 7	15	43	0	0	0	0
7 - 8	6	41	0	0	0	0
8 - 9	0	27	0	0	0	0
9 - 10	1	29	0	0	0	0
10 - 11	0	19	0	0	0	0
11 - 12	0	15	0	1	0	0
12 - 13	0	9	0	0	0	0
13 - 14	0	8	0	0	0	0
14 - 15	0	4	0	0	0	0
15 - 16	0	5	0	0	0	0
16 - 17	0	0	0	0	0	0
17 - 18	0	0	0	0	0	0
18 - 19	0	0	0	0	0	0
19 - 20	0	0	0	0	0	0
TOTAL	432	552	31	1	10	4

CUADRO 28

EDADES (MESES) CON RESULTADOS SEROPOSITIVOS SEGÚN LA PRUEBA DE AM, EN LAS ESPECIES CON FRECUENCIA DE REGISTRO \leq A 30 (CONSIDERANDO SÓLO LAS MUESTRAS QUE FUE REPORTADO). LABORATORIO DE

DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS (DEPARTAMENTO DE Mel^d) DE ABRIL 1989 A JULIO 2004

EDADES MESES	CEBRA	FELINO DOMESTICO (GATO)	JAGUAR	LEOPARDO	PANDA GIGANTE	FELINO SALVAJE (PUMA)
12		1				
108	1					
168						1
180			1			
216					1	
240				4		

^d Mel: Microbiología e Inmunología. FMVZ – UNAM

FIGURAS DE RESULTADOS

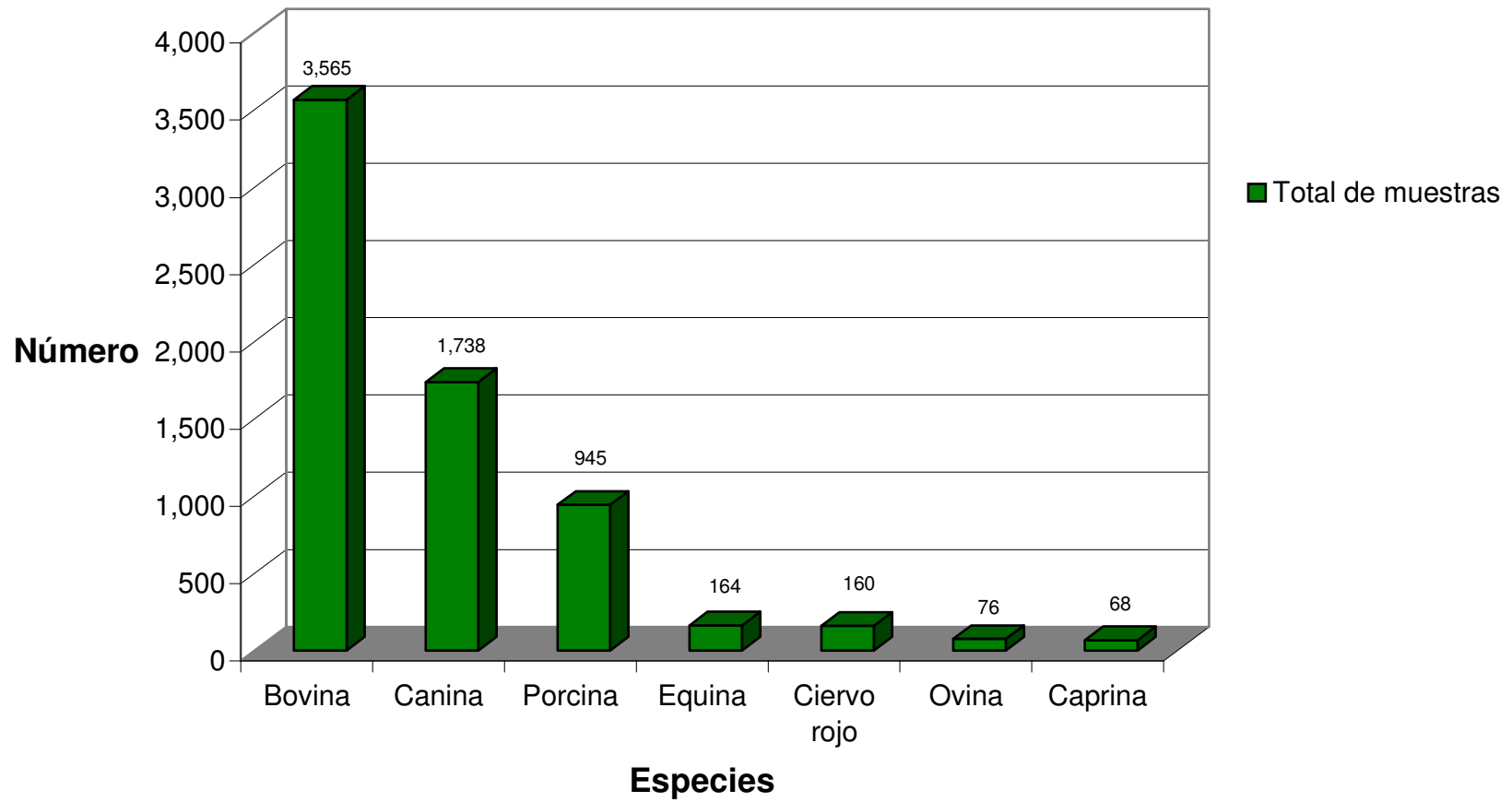


Figura 6. Total de muestras remitidas al Laboratorio de Diagnóstico de Leptospirosis del Mel, FMVZ-UNAM, de abril de

1989 a julio de 2004 en las especies con número de registros ≥ 30 .

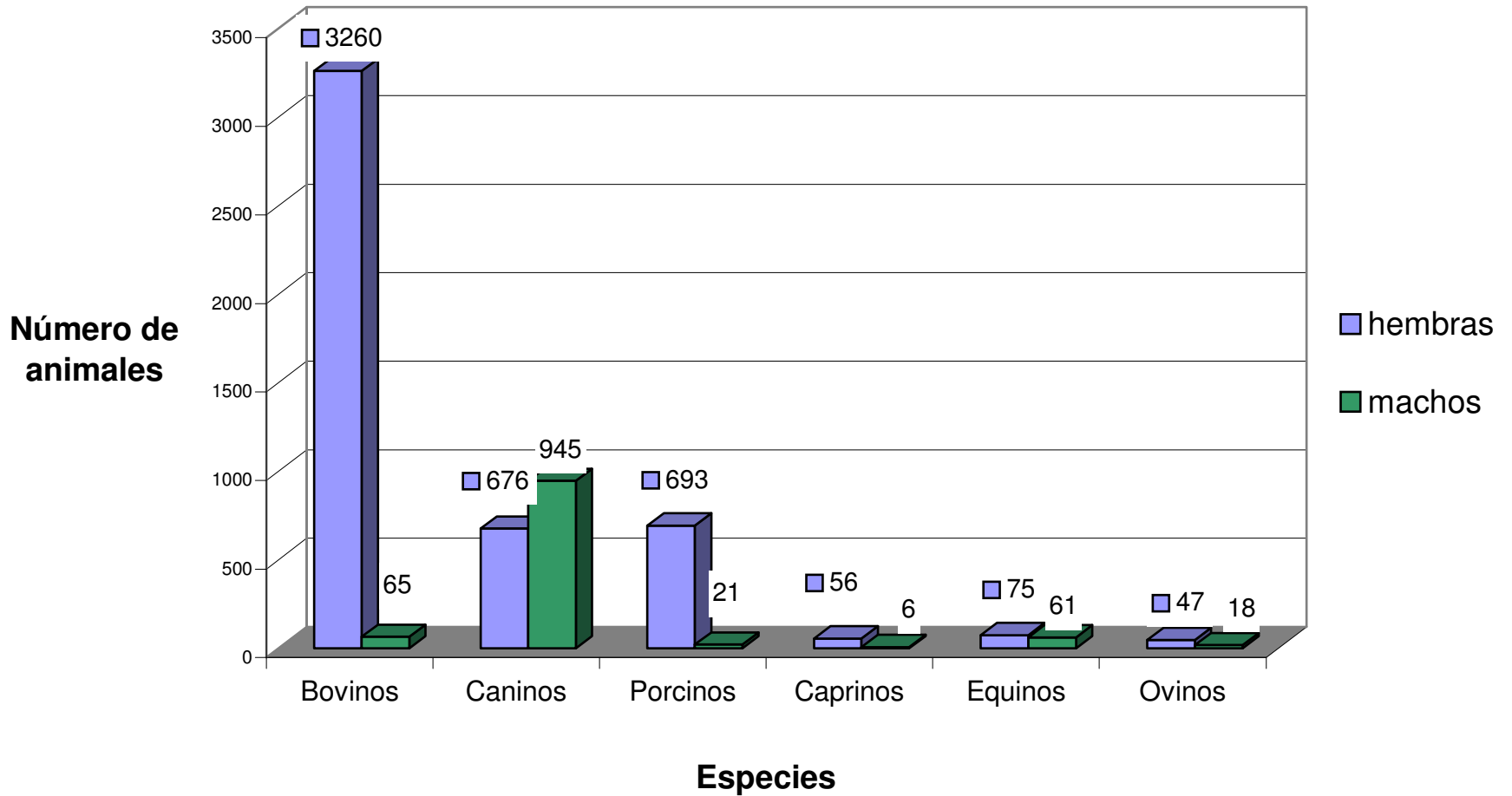


Figura 7. Relación entre especies y sexo de los animales en las especies con frecuencia de registro \geq a 30. Laboratorio de Diagnóstico de Leptospirosis (Departamento de Mel) de abril 1989 a julio 2004

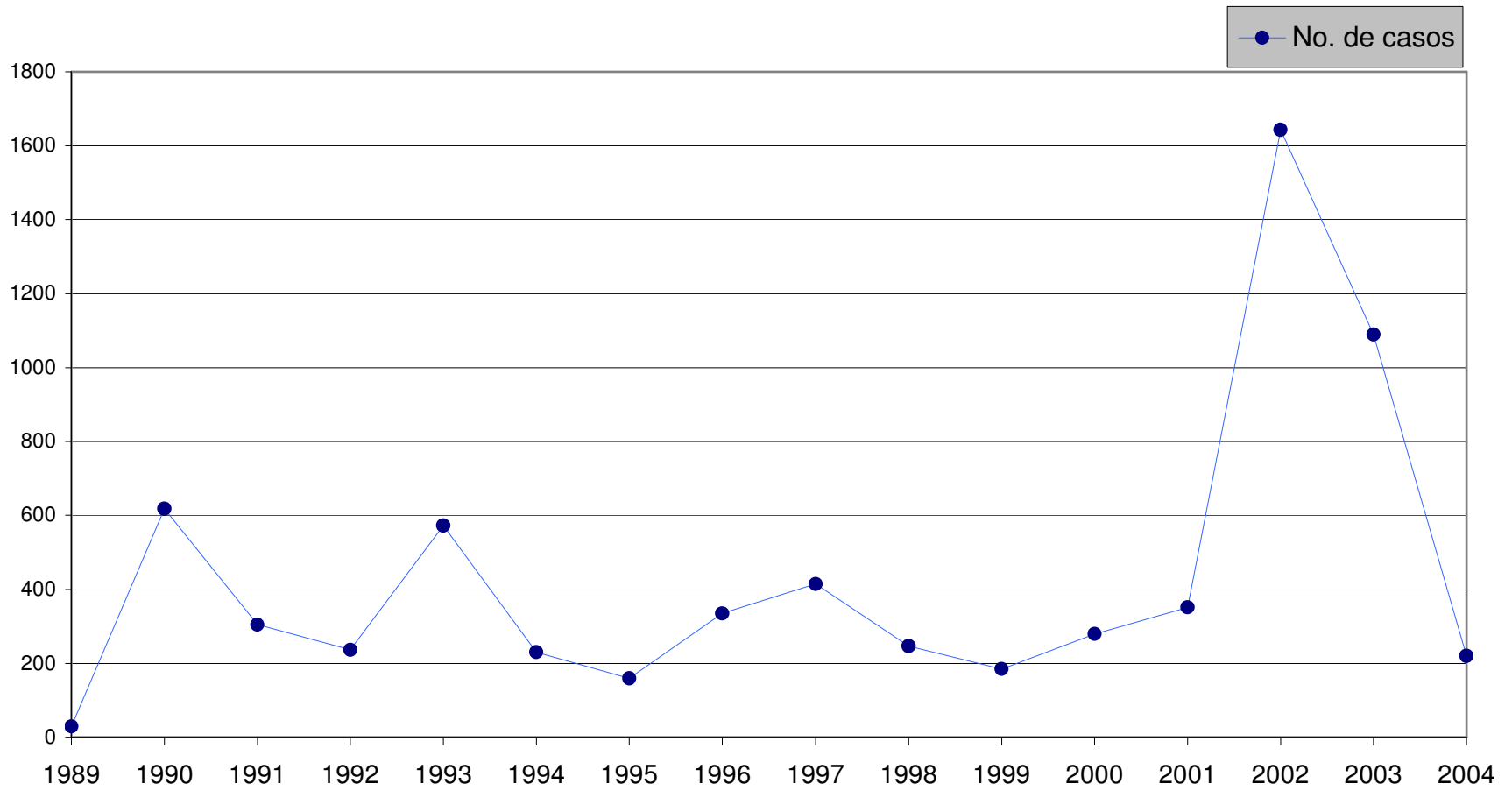


Figura 8. Distribución de muestras recibidas por año para el diagnóstico de leptospirosis en el Laboratorio de Diagnóstico del Mel, FMVZ-UNAM

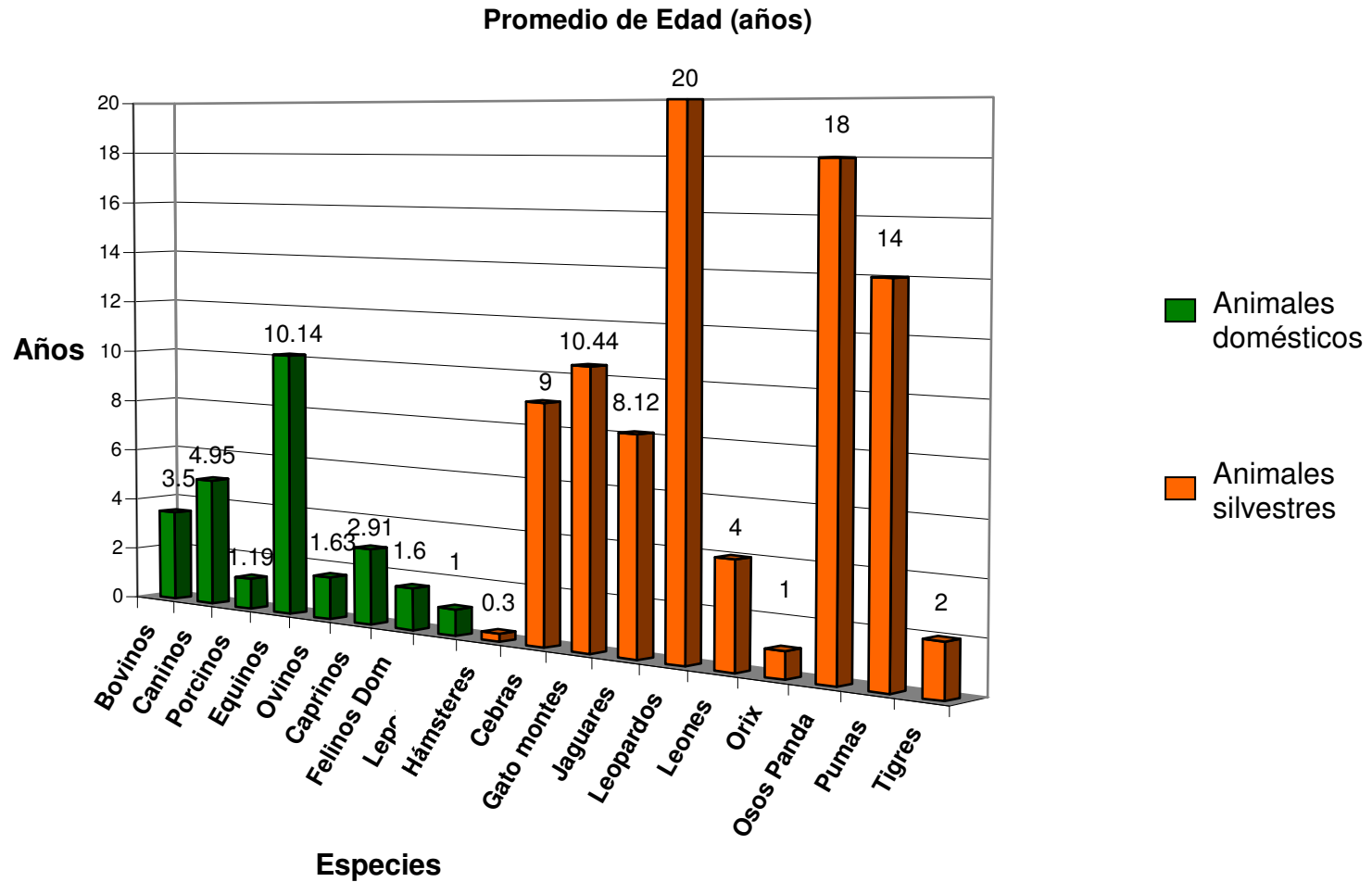


Figura 9. Distribución de edades en las diferentes especies de animales domésticos y silvestres de las que se remitieron

muestras clínicas al Mel, FMVZ-UNAM.

196

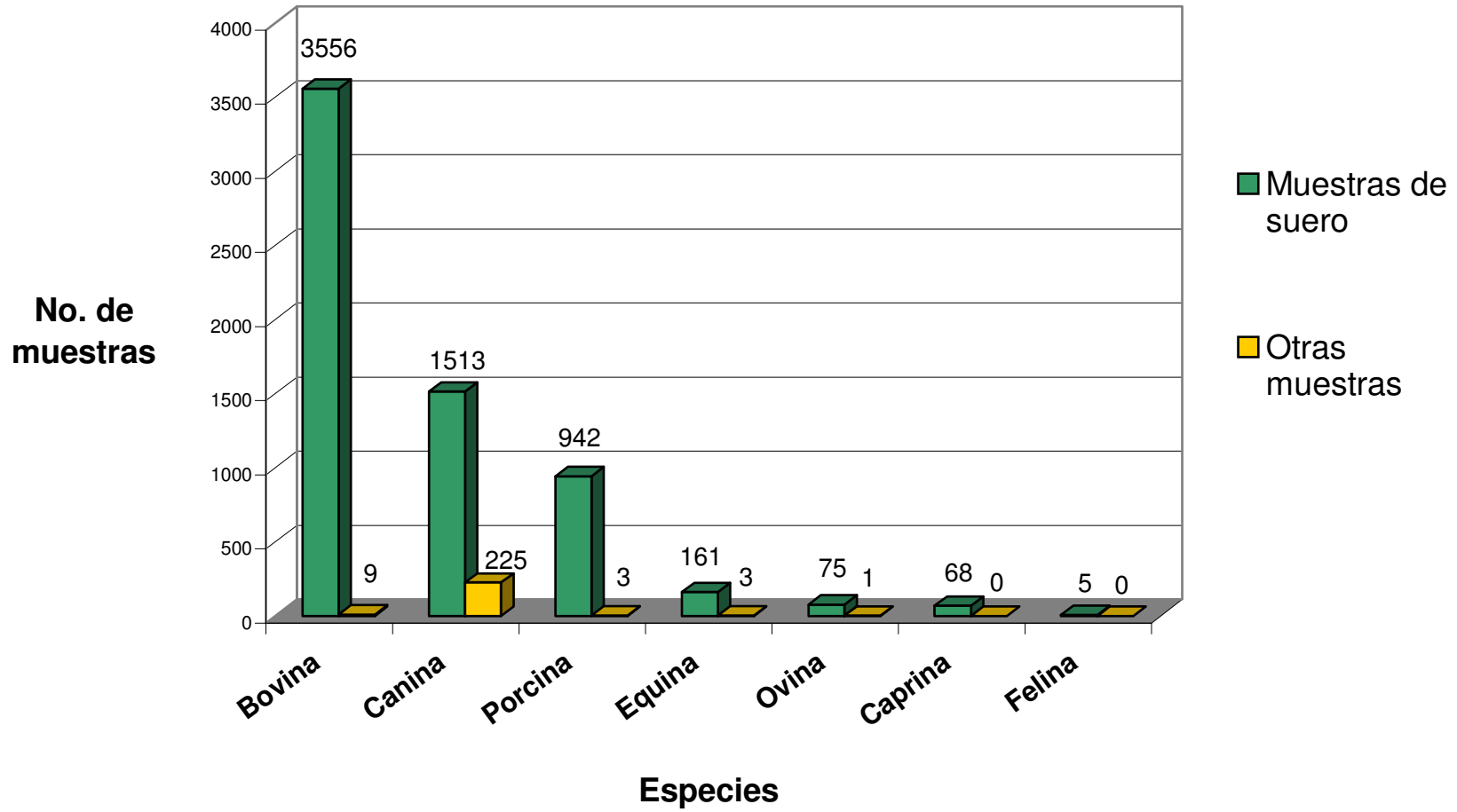


Figura 10. Relación de muestras remitidas para estudio serológico (suero) y estudios microscópico y bacteriológico (sangre, orina y riñón) en especies de animales domésticos. Laboratorio de Diagnóstico de Leptospirosis del Mel, FMVZ-UNAM.

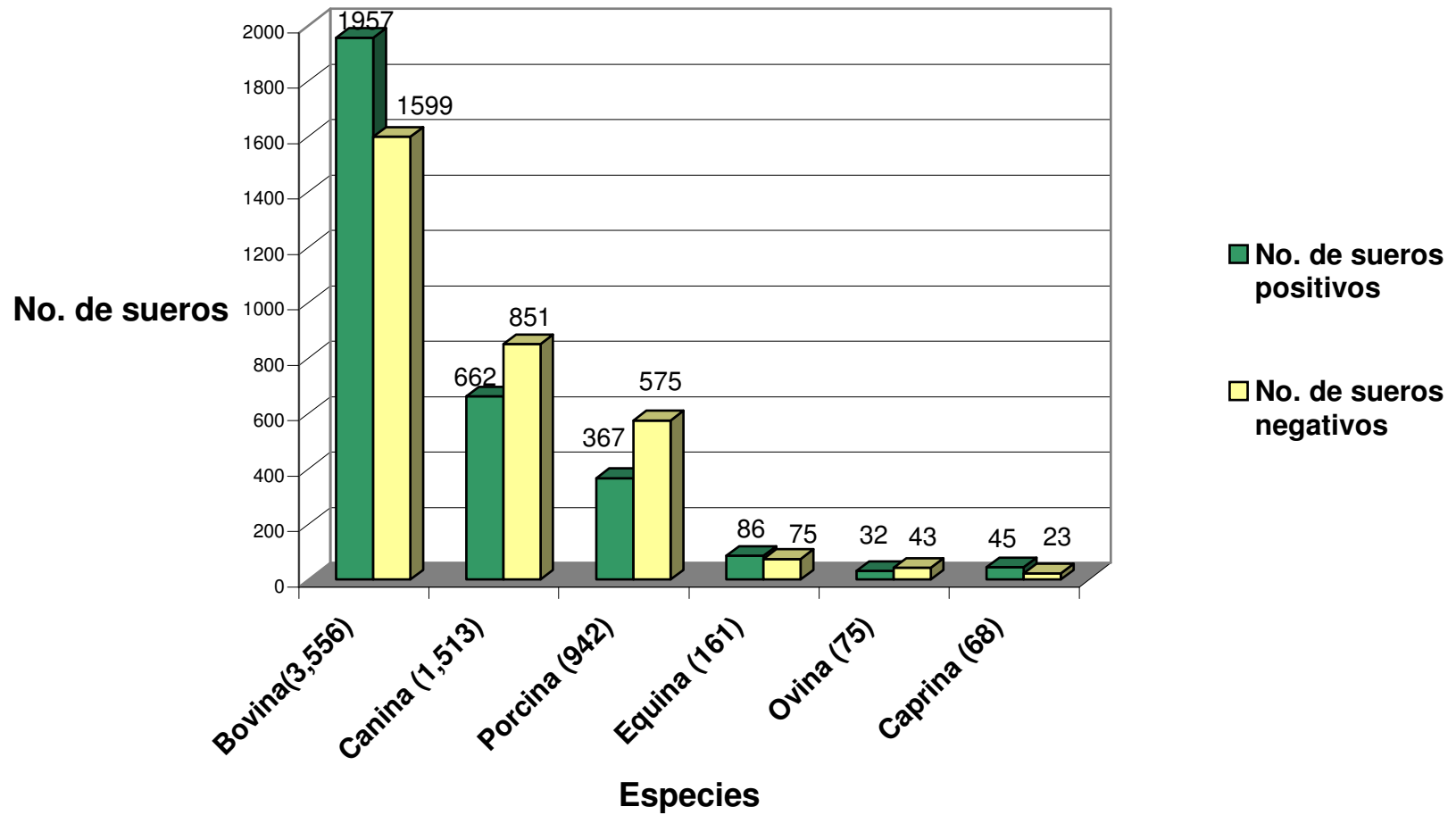


Figura 11. Relación entre el número de sueros positivos y negativos en especies con frecuencia de registro \geq a 30 remitidos al Mel, FMVZ-UNAM

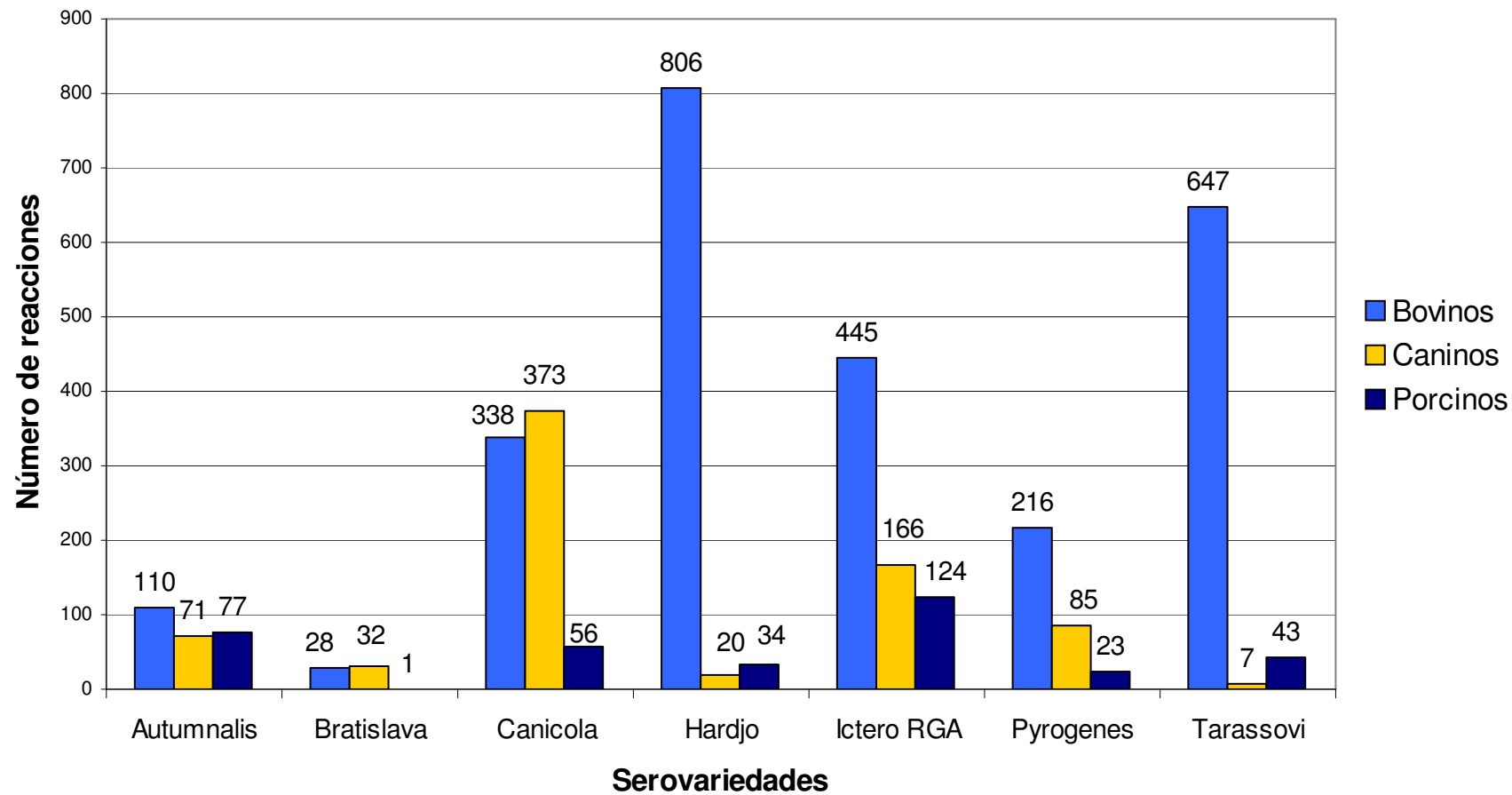


Figura 12. Serovariedades detectadas mediante la prueba de AM en las muestras remitidas al Mel, FMVZ-UNAM en bovinos, caninos y porcinos considerando títulos $\geq 1:100$

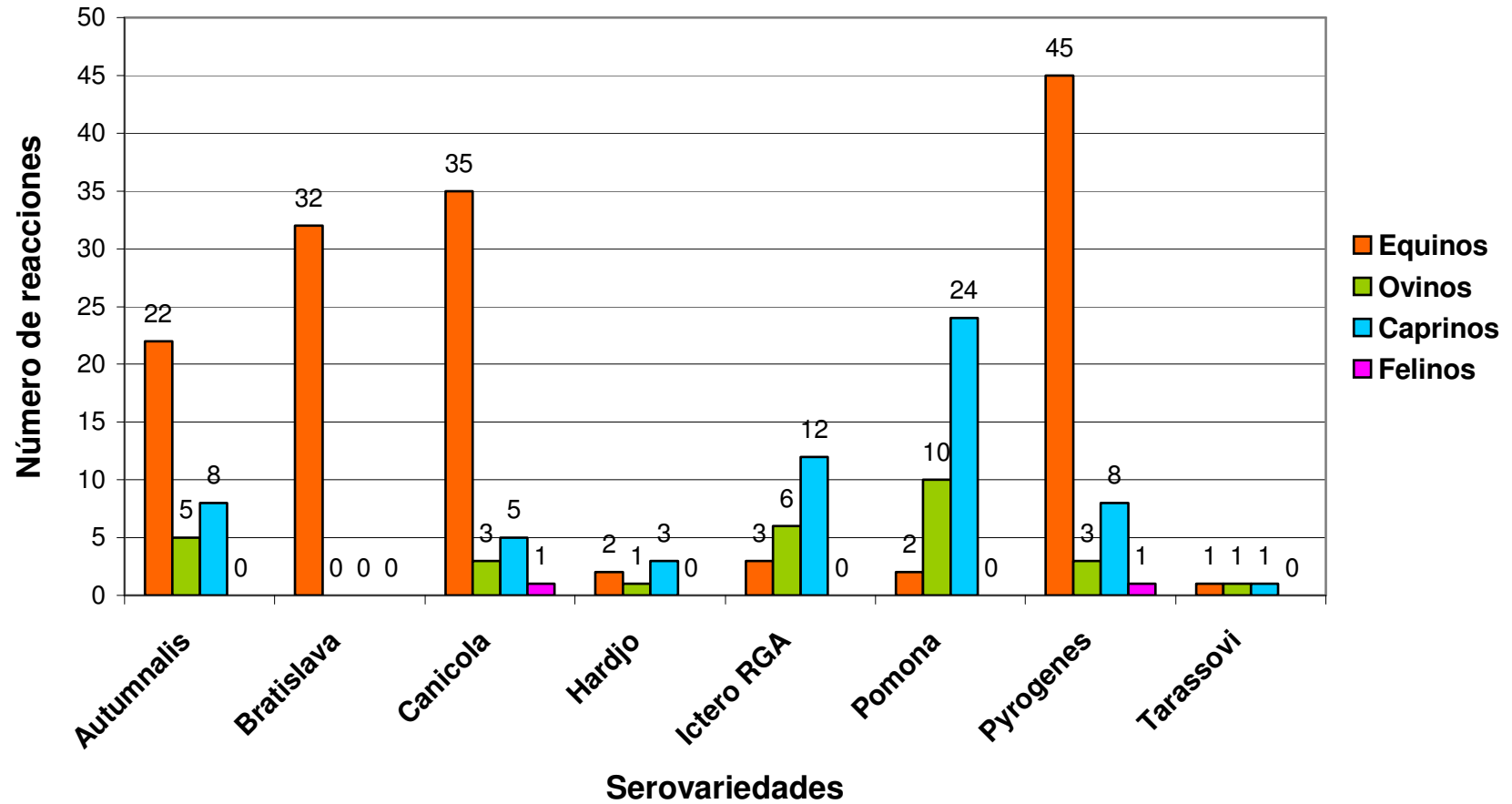


Figura 13. Serovariedades detectadas mediante la prueba de AM en las muestras remitidas al Mel, FMVZ-UNAM en equinos, ovinos, caprinos y felinos considerando títulos ≥ 100