

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESTUDIO SEROLOGICO DE LEPTOSPIROSIS EN CUATRO HATOS DE BOVINOS
DE DOBLE PROPOSITO EN EL MUNICIPIO DE AMACUZAC, MORELOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

NATALIA RAMIREZ ESPINOLA

ASESORES:

MVZ Javier Hernández Ignacio

MVZ MSc Arturo Federico Olguin y Bernal

México, D.F. 2009



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.

DEDICATORIA

A mis papás Rosario y Juan Carlos por todo el apoyo, consejos y amor que me han dado y por ser mi ejemplo en la vida.

A Juanito mi hermanito que lo quiero mucho, gracias por ayudarme en todo y por creer en mi.

A Manuelito por estar conmigo incondicionalmente, por todos los momentos increíbles que hemos vivido que son irremplazables.

A Emilio por toda su ayuda y por su “fuerza”.

A mi Pimientita y a mi Poni por ser mi inspiración.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Doctor Arturo Olguin por sus enseñanzas, sus consejos, su amistad y por las risas de todos los días.

Al Dr. Pedro Ochoa por su ayuda en la elaboración de esta tesis.

A los miembros de mi jurado: Dr. Alejandro de la Peña, Dr. Joel Hernández, MVZ MC Miguel Angel Quiróz, MVZ MC Pedro Cano y al MVZ Javier Hernández.

A Julio Guarnero, al Tyson (Javier Hernández Ignacio), al chaparrito niño doctor (Adolfo) por todo lo que me enseñaron y por los buenos momentos.

A mis amigos la Chinita bonita (Denisse), al pelón (Daniel Hernández), Mauricio Villarreal, Chef (Antonio Estrada), Antonio Caso, Regina Tattersfield, Bernardo Navarro (Takma), Daniel Pietrasanta, Adriana Ballesteros, Graciela Limón, Fersi Saldívar, Artur, Brenda (mueganita), Alejandro Bailón, al Rastas, al bebé (Ulises) y a Cayitos Manuel Martín!!!!

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
OBJETIVO.....	15
HIPOTESIS.....	16
JUSTIFICACION.....	17
MATERIAL Y METODOS.....	18
RESULTADOS.....	23
DISCUSION.....	30
REFERENCIAS.....	33

RESUMEN

RAMIREZ ESPINOLA NATALIA. Estudio serológico de leptospirosis en cuatro hatos de bovinos de doble propósito en el municipio de Amacuzac, Morelos. (Bajo la dirección de: MVZ Javier Hernández Ignacio, MVZ MSc Arturo Federico Olguin y Bernal).

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa que afecta a los animales domésticos, silvestres y al hombre, representando un riesgo en la salud pública y ocasiona grandes pérdidas en la producción en los hatos bovinos, estando ampliamente distribuida en nuestro país. La leptospirosis bovina puede estar presente en el municipio de Amacuzac, Morelos, debido a que las condiciones medioambientales y el sistema de producción extensiva, así como la presencia de portadores tales como perros y fauna silvestre, favorecen la presentación de *Leptospira*. Los cuatro hatos en estudio cuentan con un historial reproductivo pobre y abortos, principalmente en el último tercio de la gestación. El objetivo fue determinar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* presentes en los hatos en estudio mediante la prueba de aglutinación microscópica con punto de corte en la dilución 1:100 en bovinos de doble propósito en pastoreo ubicados en el municipio de Amacuzac, estado de Morelos. Se muestrearon 59 animales ubicados en cuatro hatos, de los cuales el 49% resultó positivo a Canicola, Hond Utrecht IV (27.11%), Hardjo, Hardjoprajitno (25.42%), Wolffi, 3705 (18.64%), Pyrogenes, Salinem (18.64%), Bratislava, Jez Bratislava (13.55%), Icterohaemorrhagiae RGA (10.16%), Pomona, Pomona (6.77%), Tarassovi,

Perepelitsin (5.08%) y Grippytyphosa, Moskva V (3.38%). Los resultados sugieren la presencia de *Leptospira* en bovinos de doble propósito en un sistema de producción extensivo.

INTRODUCCION

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial causada por cualquiera de las serovariedades patógenas de *Leptospira* (1). Es una enfermedad infecciosa que afecta a los animales domésticos, silvestres y al hombre (2). Tiene un gran impacto en México y en el mundo, ya que ocasiona grandes pérdidas económicas y representa un riesgo para la salud pública. En el ganado bovino las principales fuentes de pérdidas económicas por este agente son causadas por abortos, reabsorciones, partos prematuros, nacimiento de becerros débiles, muerte de animales, disminución en la producción de leche, costos del veterinario al tratar a los animales enfermos, tratamientos y vacunas (3, 4, 5).

La leptospirosis fue descrita por primera vez como una enfermedad propia del ser humano por Weil en 1886. Este organismo fue reconocido como una espiroqueta en 1907, y posteriormente investigadores en Japón documentaron la naturaleza de la leptospirosis e identificaron a las ratas como portadoras del agente y se demostró que los animales silvestres también eran portadores de esta bacteria (1).

Previamente el género *Leptospira* se clasificaba en dos serogrupos: *Leptospira interrogans* en las cuales se encuentran las serovariedades patógenas y *Leptospira biflexa*, que comprende a las serovariedades saprófitas. Sin embargo, existe una gran diferencia entre los antígenos de estas serovariedades, por lo que se adoptó un nuevo sistema genético de clasificación del género *Leptospira*, comprendiendo a 15 especies patógenas las cuales son; *L. alexanderi*, *L. alstoni*, *L. borgpetersenii*, *L. fainei*, *L. indai*,

L. interrogans, *L. kirschneri*, *L. meyeri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. vanthiellii*, *L. weilii*, *L. wolffii* y *L. yanagawae*, y con más de 260 serovariedades; y dentro de las especies saprófitas, se encuentran *L. biflexa*, *L. kmetyi*, *L. meyeri*, y *L. wolbachii* (6, 7).

En México se encuentran indicios serológicos de la presencia de varias serovariedades de *Leptospira*. Se ha demostrado por medio de estudios serológicos que la serovariedad Hardjo está ampliamente distribuida y es la principal responsable de la leptospirosis bovina en nuestro país, ocasionando pérdidas a los productores debido a que puede causar abortos en cualquier etapa de la gestación e infertilidad. (8) Se han realizado en varias regiones muestreos serológicos para determinar la presencia de diferentes especies patógenas del género *Leptospira*, en diversos centros de producción. En Soto la Marina Tamaulipas, las serovariedades más frecuentemente encontradas fueron Hardjoprajitno cepa H89, Hardjoprajitno y Wolffi (9). Méndez y cols. reportaron que en áreas endémicas, el 55.71% de los bovinos gestantes fueron positivos a una o más serovariedades de *Leptospira*; en bovinos no gestantes el 40.74% de animales resultaron positivos y en las vaquillas un 63.76% presentó positividad, siendo la serovariedad Hardjoprajitno la más frecuente. (10)

En el municipio de Ocozocuatla, Chiapas, se llevó a cabo un estudio serológico para determinar las serovariedades presentes en esa región, considerando positivos a las muestras obtenidas con sueros que a la dilución 1:100 o superior mostraran el 50% de aglutinación. De 428 bovinos estudiados, el 35 % resultaron positivos a una o más serovariedades de *Leptospira* y en orden de frecuencia fueron Hardjo cepa H89

(23.5%), Hardjo (13.3%), Wolffi (7.7%), Grippytyphosa (6.5%), Icterohaemorrhagiae (3.5%), Tarassovi (2.3%) y Pomona (1.8%). La serofrecuencia encontrada en este estudio contrasta con otro análisis realizado en la zona norte de Chiapas, en donde se determinó una frecuencia de 88%. (11)

En el ganado bovino en confinamiento, es recomendable establecer programas de medicina preventiva que involucren un muestreo periódico, cada seis meses, de los animales ahí alojados, con el propósito de implementar y ajustar calendarios de vacunación en contra de los patógenos presentes en ese hato en particular.

Sin embargo, una situación importante es en cuanto a la aplicación de bacterinas comerciales contra la leptospirosis, ya que no contienen necesariamente las serovariedades específicas prevalentes para la zona en donde se encuentra el hato problema.

En México, numerosos laboratorios de patología animal cuentan a la fecha con la prueba rutinaria de aglutinación microscópica (AM) que permite la detección de anticuerpos anti-leptospira específicos (12).

En una investigación llevada a cabo en Juventino Rosas, Guanajuato, se reportó que al implementar estrategias de control y prevención para leptospirosis en hatos infectados, mediante la vacunación y revacunación con las serovariedades prevalentes según la detección de anticuerpos específicos en el hato, hubo un incremento directo en la producción de leche así como un aumento en el número de partos (13).

En contraste, en el ganado de doble propósito, mantenido generalmente en pastoreo extensivo, no es una práctica frecuente el establecer programas de medicina preventiva, tal vez por la carencia de infraestructura para el manejo adecuado de los bovinos y a que estos, se encuentran pastoreando en grandes extensiones. El estado de Morelos cuenta mayoritariamente con este tipo de ganado criado bajo este régimen de manejo, en el cual generalmente no se llevan a cabo muestreos serológicos ni inmunizaciones anti-*Leptospira*, por lo que el estado inmunológico es desconocido. Este ganado definitivamente no está exento de contraer la amplia gama de enfermedades que afectan al ganado en confinamiento, por lo que es importante el establecer programas de medicina preventiva, que incluyan la aplicación de vacunas con base en un estudio serológico previo que indique la presencia de anticuerpos a diferentes enfermedades prevalentes en una región determinada.

Generalidades

Leptospira forma parte del orden de las *Spirochaetales* y de la familia *Leptospiraceae*. Las leptospiras son bacterias helicoidales (10 a 20 μm de longitud) con terminaciones en forma de gancho. Aún cuando la composición citoquímica de su pared es semejante a la de las bacterias Gram negativas, no se tiñen adecuadamente con las tinciones bacteriológicas convencionales; por lo que generalmente se observan utilizando un microscopio de campo oscuro (4, 5, 14).

Aún cuando las leptospiras son prevalentes en todo el mundo, algunas serovariedades presentan una distribución geográfica limitada. (4). En regiones particulares, diferentes serovariedades son prevalentes, y están asociadas a uno o más huéspedes de

mantenimiento, portadores o reservorios. Los huéspedes de mantenimiento usualmente son animales silvestres, sin embargo, en ocasiones, lo son los animales domésticos y el ganado.

Cada serovariedad se comporta de diferente manera en el huésped de mantenimiento a comparación de la forma en que se comporta en el huésped incidental. La transmisión de la leptospirosis entre huéspedes de mantenimiento es por lo general de manera directa e involucra contacto directo con orina infectada, fluidos uterinos o leche. La infección también puede ser transmitida de forma trasplacentaria o venérea en algunas de las combinaciones entre huésped-serovariedad. La infección en huéspedes incidentales generalmente es indirecta, por contacto con áreas contaminadas con orina de huéspedes de mantenimiento.

Las condiciones ambientales son críticas al momento de determinar la frecuencia de la transmisión indirecta. La sobrevivencia de las leptospiras es favorecida por la humedad, temperaturas cálidas y agua estancada; la supervivencia es breve en lugares secos y con temperaturas por debajo de los 10° C; por lo tanto la leptospirosis ocurre comúnmente en primavera, otoño e inicios de invierno con climas templados o durante la época de lluvia. La prevalencia de las serovariedades también depende de la presencia de animales silvestres, la entrada de animales nuevos al hato, el sistema productivo y la época de empadre. Esta enfermedad es más común en áreas de trópico, ya que el clima ayuda a la supervivencia de este organismo fuera del huésped.

En todas las especies, las epidemias por leptospirosis, generalmente están asociadas a inundaciones, debido a que hay una mayor exposición de agua con orina contaminada,

y hay una concentración de roedores y otros reservorios debido a la inundación (1). La presencia de esta enfermedad tiende a incrementarse en la época de lluvias junto con las altas temperaturas, en el caso de los establos que no tienen un drenaje óptimo, el agua se estanca, esto aumenta la propagación de *Leptospira* y el riesgo de contagio de la enfermedad. (8)

Patogenia

Las vías de entrada de esta bacteria al huésped son a través de mucosas, conjuntiva o tejido cutáneo reblandecido. Tiene un periodo de incubación variable de 3 a 20 días (5). Una vez que penetran al organismo, se diseminan vía sanguínea. (15) Las leptospiras circulan en el torrente sanguíneo por aproximadamente 7 días, durante este periodo y en ausencia de anticuerpos específicos entran y se replican en varios tejidos (1).

Este organismo se localiza en riñones, aparato reproductor, hígado, ojos y sistema nervioso central (16), y permanecerá en sitios en los que no haya una respuesta sistémica mediada por anticuerpos (1).

Las especies patógenas de *Leptospira* persisten como infecciones crónicas de los túbulos renales de las especies consideradas como huéspedes de mantenimiento, a menudo sin causar enfermedad o causando una enfermedad leve. La transmisión a los huéspedes incidentales resulta del contacto directo con orina de un huésped de mantenimiento infectado o a través de la contaminación ambiental o de los alimentos con orina infectada. La infección en el huésped incidental puede provocar la

enfermedad aguda en múltiples órganos y sistemas, incluyendo el riñón, hígado y sistema nervioso central, y también resulta en aborto o falla reproductiva (15).

La principal lesión que genera esta bacteria, es daño a pequeños vasos sanguíneos, ocasionando lesiones endoteliales; algunos órganos como el hígado, riñón, pulmones y placenta son más susceptibles a estas lesiones, provocando una filtración de eritrocitos y plasma al interior de los tejidos (1).

El impacto más importante de la enfermedad en los hatos bovinos, es la alteración de los procesos reproductivos, causando abortos, partos prematuros, infertilidad y crías débiles al nacimiento, repercutiendo en pérdidas en la producción lo que se traduce en pérdidas económicas (16). El aborto se puede presentar en cualquier etapa de la gestación, pero principalmente ocurre del 6° al 9° mes (17), y es principalmente una secuela de la infección crónica. Los fetos abortados y las placentas no muestran ninguna característica patológica de valor diagnóstico. (18)

Signos

Debido a la endotoxemia que presenta la leptospirosis, se presentan signos como hemorragias, hepatitis, nefritis y meningitis. (8)

En la forma aguda la vaca presenta pirexia con 40-41°C, letargia, anorexia, ictericia, hemoglobinuria y disminución en la producción de leche. En algunos casos hay sinovitis o dermatitis alérgica, y ocasionalmente meningitis.

La forma subaguda se caracteriza por un aumento de 39-40°C de temperatura corporal, baja producción de leche, la ictericia se presenta en algunos casos, generalmente hay hemoglobinuria, y en algunos casos el aborto ocurre un mes después de la infección.

(18)

En la presentación crónica se presentan; abortos, mortinatos y esterilidad. (7)

Tratamiento

Generalmente, la terapia principal es mediante el uso de antibióticos como la dihidroestreptomicina a dosis de 25 mg/kg de peso vivo, durante 5 a 7 días es muy efectiva para la reducción del número de leptospiras excretadas por la orina y es la base de varios programas de control. (19) Actualmente, se ha incrementado el uso de oxitetraciclinas debido a su efectividad para controlar esta enfermedad a una dosis de 20 mg/kg de peso vivo por 5 a 7 días.

Control

Separar a las vacas infectadas; si la fuente de infección fue debida a fauna nociva, aplicar medidas de control y erradicación. Potabilizar el agua y proveer de un buen drenaje. (18)

El control se basa en la utilización de antibióticos y en la vacunación. Es necesario hacer un buen diagnóstico sobre que serovariedad o serovariedades son prevalentes en determinado hato ganadero. Las bacterinas contra leptospirosis son poco antigénicas y, entre más serovariedades se apliquen, la respuesta inmune será menor.

Actualmente, la vacunación es el método de elección para el control de la enfermedad; sin embargo, si se combinan los dos métodos (antibióticos y bacterinas) cuando sucede un brote grave de abortos, se controla mejor la enfermedad. Se considera que las bacterinas incluyan de preferencia los dos subtipos de la serovariedad Hardjo y 2 ó 3 de las otras serovariedades encontradas en la región. Sin embargo, vacunas elaboradas exclusivamente con la serovariedad Hardjo (Hardjobovis o Hardjoprajitno) han mostrado protección duradera. (1) Se recomienda que un hato que no ha tenido historia de exposición a la enfermedad, se vacune cada 6 meses, 2 aplicaciones con una diferencia de 15 días, y después anualmente. (20)

Se considera que hatos que se conocen como infectados o susceptibles a la exposición es necesario vacunar cada 3 meses durante 2 o más años para prevenir la propagación de la infección. El ganado de reposición se empieza a vacunar a partir de los 3 meses de edad y se debe repetir cada 4 meses hasta que estén en edad reproductiva. (19)

Actualmente se recomienda vacunar cada año a todo el hato principalmente con bacterinas comerciales que contengan la cepa *L. borgpetersenii* Hardjobovis o con las que contengan *L. interrogans* Hardjoprajitno, que son las más comunes a nivel mundial y la utilización de antibióticos como la oxitetraciclina 20 mg/kg de peso vivo, es útil en hatos muy afectados.

Infección por *Leptospira* serovariedad Hardjo

L. interrogans serovariedad Hardjo (Hardjoprajitno) y *L. borgpetersenii* serovariedad Hardjo (Hardjobovis), son las serovariedades más comunes y patógenas en bovinos. Los signos clínicos que van a presentar los animales infectados son fiebre, anorexia y agalactia; la leche tiene un color que va de amarillo a naranja y puede contener coágulos, la ubre está flácida, no hay calor ni dolor. Hay una caída repentina en la producción de leche, en algunos casos hay mastitis y puede presentarse la leptospiruria. (8) La infección crónica en el tracto genital es común. La infertilidad, partos prematuros, abortos y el nacimiento de crías débiles son signos clínicos característicos de esta serovariedad. (15)

La diseminación de esta infección se da de vaca a vaca por la vía urinaria, fetal o por descargas uterinas, de toro a vaca por semen infectado. La fuente de infección es por medio de vacas portadoras o por becerros infectados, los cuales se pueden infectar de manera crónica, pero también se puede diseminar por agua contaminada. (18)

Pruebas diagnósticas

El diagnóstico de laboratorio para leptospirosis puede ser complejo e involucra pruebas de dos tipos: aquellas en que las pruebas están diseñadas para detectar anticuerpos anti-leptospira, y en aquellas en las que las pruebas están diseñadas para detectar leptospiras, antígenos de *Leptospira* o ácidos nucleicos de *Leptospira* en tejidos animales o en fluidos corporales.

Identificación de agente: aislamiento o demostración de leptospiras en:

- a) Organos internos (hígado, riñón, pulmón e hígado) y fluidos corporales (sangre, leche, fluidos torácicos y peritoneales) de animales infectados.
- b) El riñón, orina, o tracto genital de los animales sin signos clínicos es para el diagnóstico de un estado crónico.

La identificación de las leptospiras mediante exámenes inmunoquímicos (inmunofluorescencia e inmunohistoquímica) son adecuados, sin embargo la precisión de estas pruebas depende del número de organismos presentes en los tejidos.

El material genético de las leptospiras puede ser demostrado en tejidos o fluidos corporales, utilizando una variedad de ensayos basados en la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), estos son sensibles pero la calidad en los procedimientos y en el procesamiento de las muestras para PCR se deben ajustar al tejido, fluido y a la especie que se muestreó. Tanto las pruebas inmunoquímicas como la prueba de PCR no identifican la serovariedad presente.

Las pruebas serológicas son las más utilizadas para el diagnóstico de leptospirosis, y la prueba de aglutinación microscópica (AM) es la prueba serológica estándar. Los antígenos seleccionados para utilizarse en esta, deben incluir las serovariedades que se sabe existen en la región. La AM es utilizada principalmente como una prueba de hato; para obtener información útil por lo menos el 10% de los animales debe ser muestreado.

Como una prueba individual en animales, la AM es muy útil para diagnosticar una infección aguda. Esta prueba tiene ciertas limitaciones para el diagnóstico de

infecciones crónicas en animales de forma individual y el diagnóstico de infecciones endémicas en los hatos. Por ejemplo, los animales infectados pueden abortar o ser portadores, presentando en la prueba de AM títulos abajo del título mínimo significativo de 1/100 (dilución final).

La prueba de ELISA también es útil para la detección de anticuerpos contra *Leptospira*, sin embargo animales que hayan sido vacunados contra la serovariedad de interés, pueden resultar positivos con esta prueba, además de ser una prueba que no determina la serovariedad potencialmente asociada, por lo que la interpretación de los resultados se debe tomar con cautela. (21)

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* a través de la prueba de aglutinación microscópica en bovinos de doble propósito en pastoreo ubicados en el municipio de Amacuzac, estado de Morelos.

HIPOTESIS

Los hatos de ganado de doble propósito en estudio, localizados en el municipio de Amacuzac, Morelos, muestran anticuerpos contra ciertas serovariedades de *Leptospira*.

JUSTIFICACION

El municipio de Amacuzac, en el estado de Morelos, cuenta con clima tropical húmedo, la vegetación predominante en esa región es el mezquite, huaje rojo y blanco, nopal, huizache, entre otras especies. La fauna que se encuentra es el tejón, venado cola blanca, liebre, conejo común, coyote, comadreja, tlacuache, zorras, zorrillos, armadillo, mapache, hurón, murciélagos, todos ellos potenciales reservorios de *Leptospira*. La irrigación de los diversos ríos que colindan con este municipio, pudieran ser factores de riesgo para la producción pecuaria. Las unidades de producción de la región principalmente se basan en el sistema de pastoreo en extensivo. Debido a la falta de infraestructura, los bovinos, son un blanco fácil para presentar infecciones por *Leptospira*.

Los problemas reproductivos que se presentan en estos hatos como son los abortos, infertilidad, el aumento en los días abiertos que presentan las vacas y la dificultad para que estas queden gestantes, son sugerentes de que puede estar presente algún agente infeccioso el cual este causando estas fallas reproductivas.

MATERIAL Y METODOS

El municipio de Amacuzac se ubica a 18° 32´ latitud Norte y 90° 07´ longitud Oeste del meridiano de Greenwich y a una altura de 982 metros s.n.m. Se localiza en el Estado de Morelos, limita al norte con Coatlán del Río, Tetecala y Mazatepec; al sur y suroeste con el Estado de Guerrero; y al oriente con el municipio de Puente de Ixtla, Morelos (22). (Figura 1).

En la clasificación general del clima del estado de Morelos, al municipio de Amacuzac le corresponde un clima tropical húmedo C (w) y registra una temperatura media anual de 25° centígrados (23).

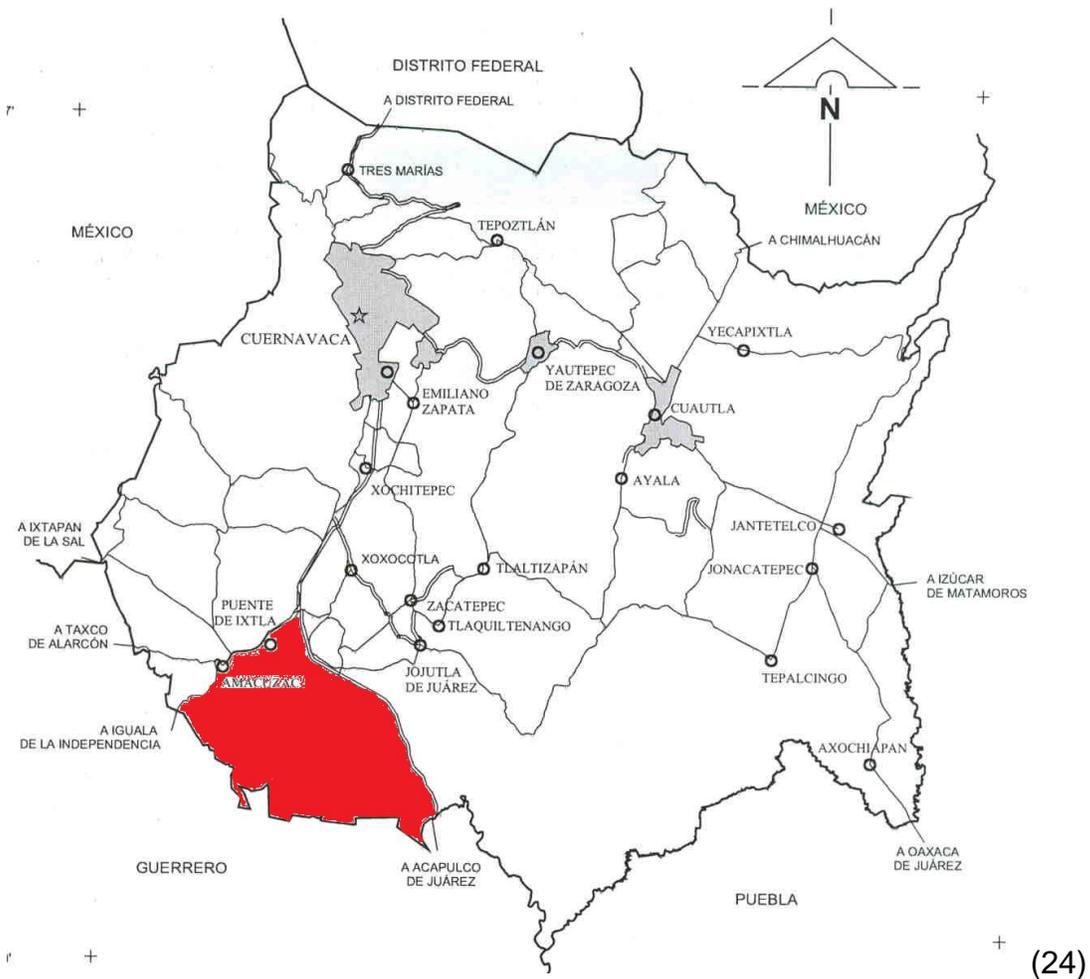
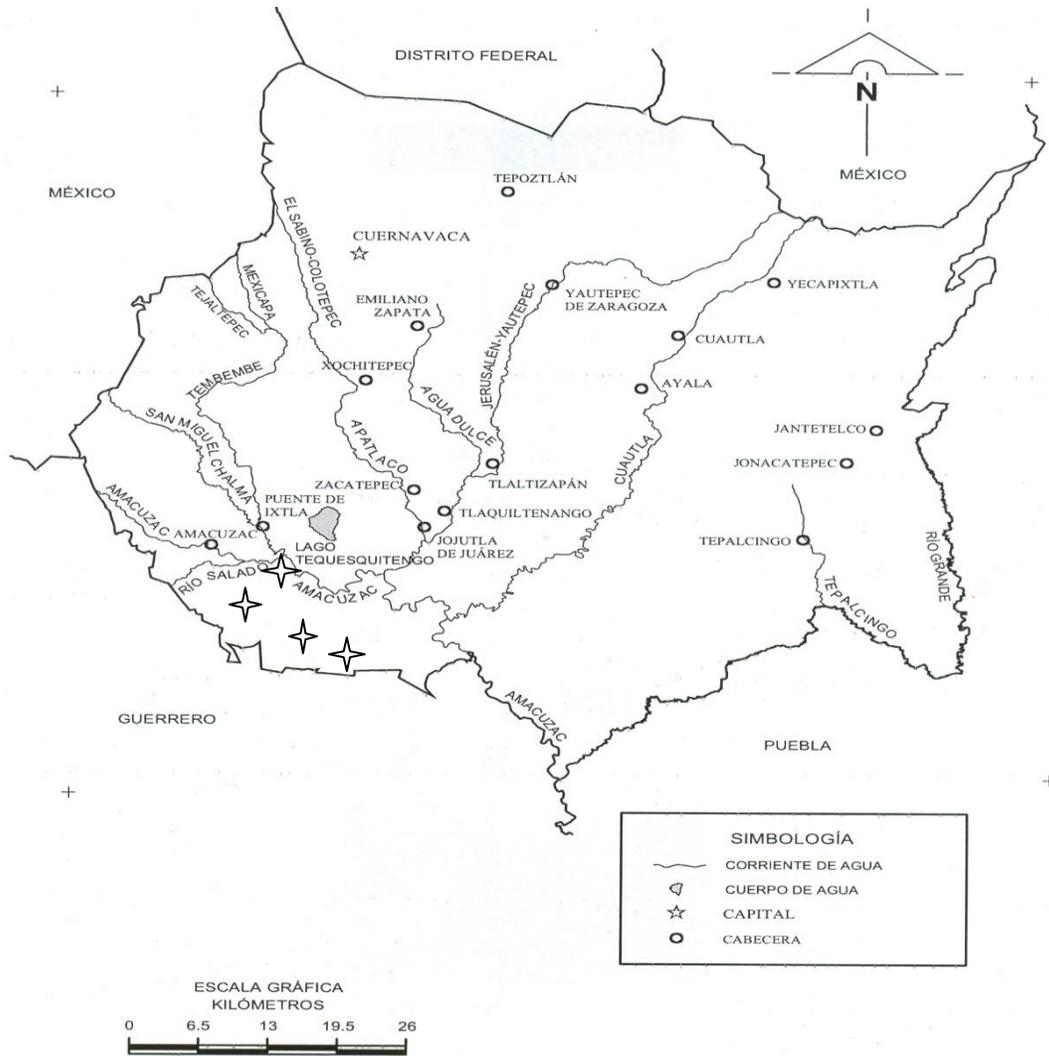


Figura 1. Localización del municipio de Amacuzac, estado de Morelos.

Hidrografía: los recursos hidrológicos del municipio de Amacuzac, se componen básicamente por el río Salado; que pasa por Casahuatlán y Coahuixtla. El municipio es cruzado en su parte media por el río Amacuzac y es alimentado por las corrientes de la barranca de Xoapa, sobre todo en la época de lluvias, la cual nace en el municipio de Tetecala de la Reforma. El río Amacuzac, nace en el poblado de Cacahuamilpa, Guerrero, de la unión del río Chontacoatlán y el río San Jerónimo, a partir de esta unión de dichos ríos, toma el nombre del río Amacuzac con una distancia de aproximadamente 80 Km de longitud. Al salir del municipio se

interna a Puente de Ixtla por los ríos Chalma y Tembembe y se une a otros ríos para alimentar al río Mezcala y formar el río Balsas. En el municipio de Amacuzac se cuenta con una presa ubicada en la localidad de Rancho Nuevo, con una capacidad de almacenamiento de 2 millones de metros cúbicos de agua aproximadamente. (22). (Figura 2).



(24)

★ Localización de los hatos estudiados.

Figura 2. Hidrografía del municipio de Amacuzac, estado de Morelos.

Las vacas de estos hatos se encuentran en la misma región y están destinadas tanto a la producción de leche como a la de carne y pertenecen a los grupos genéticos: Holstein, Cebú x Holstein, Cebú x Suizo Americano y Cebú x Jersey, con una edad de entre 3 a 9 años. Estas cuentan con historia de desempeño reproductivo pobre, con abortos, principalmente en el tercer tercio de gestación y nacimiento de crías débiles. Las vacas en estudio se seleccionaron de manera aleatoria, se sujetaron por un método físico de contención, utilizando cuerdas y estas se ataron a un bramadero, ya que no se contaba con mangas de manejo. Se llevó a cabo un muestreo por conveniencia debido a que los productores pagaron las pruebas de aglutinación microscópica.

Se obtuvieron muestras sanguíneas del 20% de las vacas de cada uno de los cuatro hatos en estudio (n=59), mediante la punción de la vena coccígea, utilizando agujas y tubos sin anticoagulante. Posteriormente, fueron trasladadas en refrigeración al laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Palo Alto, D.F.

En el laboratorio, cada muestra se centrifugó para obtener el suero, el cual fue utilizado para realizar la prueba de AM. Se determinó la presencia y el título de anticuerpos contra las serovariedades presentes de *Leptospira*.

Del hato número 1, conformado por 94 animales, se muestrearon 19 animales. Del hato número 2, el cual consta de 65 animales, se muestrearon 13 animales. Del hato número 3, conformado por 56 animales, se muestrearon 11 animales, y del hato número 4, conformado por 78 animales, se muestrearon 16 animales, de

tal forma que el grupo experimental estuvo conformado por 59 animales de un total de 293 bovinos alojados en los cuatro hatos.

RESULTADOS

Los cuatro hatos estudiados mostraron positividad a diferentes serovariedades patógenas de *Leptospira*, partiendo de una dilución de 1:100. Los rangos de los títulos de anticuerpos encontrados en el hato 1 fueron de 1:100 hasta 1:3200, del hato 2 fueron de 1:100 hasta 1:800, del hato 3 fueron de 1:100 hasta 1:600 y del hato 4 fueron de 1:100 hasta 1:3200. Del total de los animales muestreados, el 49% resultó positivo a alguna de estas serovariedades.

Cuadro 1.

HATO 1

Serovarietades de <i>Leptospira</i>	SUEROS POSITIVOS																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Bratislava, Jez Brastislava	-	-	-	1/100	-	-	-	-	-	1/100	-	-	-	-	-	-	1/200	-	-
Canicola, Hond Utrecht IV	1/100	1/400	1/200	1/200	1/200	1/200	1/400	-	-	-	-	-	-	1/200	-	-	-	-	-
Grippotyphosa, Moskva V	-	1/800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hardjo, Hardjioprajitno	1/1600	-	1/1600	1/3200	-	-	1/1600	-	-	-	-	-	-	1/600	-	-	1/3200	-	-
Icterohaemorrhagiae RGA	1/100	1/100	-	-	1/100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pomona, Pomona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pyrogenes, Salinem	1/100	1/200	1/800	1/200	1/400	1/100	1/100	-	-	-	-	-	-	1/200	-	-	-	-	-
Tarassovi, Perpelitsin	1/100	-	-	-	1/200	1/100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wolffi, 3705	1/100	-	1/800	1/1600	-	-	-	-	-	1/800	-	-	-	-	1/1600	-	-	-	-

Cuadro 2.

HATO 2

Serovariedades de <i>Leptospira</i>	SUEROS POSITIVOS												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Bratislava, Jez Brastislava	-	1/100	1/100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/100
Canicola, Hond Utrecht IV	-	-	-	1/400	-	1/100	-	-	-	-	-	-	-
Grippotyphosa, Moskva V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hardjo, Hardjioprajitno	-	-	1/600	-	-	-	-	-	1/600	-	-	-	1/200
Icterohaemorrhagiae RGA	-	-	1/100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pomona, Pomona	-	1/200	-	-	-	1/100	-	-	-	-	-	-	-
Pyrogenes, Salinem	-	-	-	-	-	1/800	-	-	-	-	-	-	-
Tarassovi, Perepelitsin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wolffi, 3705	-	-	-	-	1/800	-	-	-	-	-	-	-	-

Cuadro 3.

HATO 3

Serovariedades de <i>Leptospira</i>	SUEROS POSITIVOS										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Bratislava, Jez Brastislava	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Canicola, Hond Utrecht IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Grippotyphosa, Moskva V	-	-	-	1/100	-	-	-	-	-	-	-
Hardjo, Hardjioprajitno	-	-	-	1/600	1/600	-	-	-	-	-	-
Icterohaemorrhagiae RGA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pomona, Pomona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pyrogenes, Salinem	-	-	-	-	1/200	-	-	-	-	-	-
Tarassovi, Perepelitsin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wolffi, 3705	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Cuadro 4.

HATO 4

Serovariedades de <i>Leptospira</i>	SUEROS POSITIVOS															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Bratislava, Jez Bratislava	-	1/100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/100	-
Canicola, Hond Utrecht IV	-	1/200	1/100	-	-	-	1/100	-	1/400	1/100	-	-	-	-	1/400	-
Grippotyphosa, Moskva V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hardjo, Hardjioprajitno	-	1/3200	-	-	-	-	1/200	1/600	-	-	-	-	-	-	1/100	-
Icterohaemorrhagiae RGA	-	-	-	1/100	1/100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pomona, Pomona	-	-	-	-	1/200	-	-	-	1/200	-	-	-	-	-	-	-
Pyrogenes, Salinem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/200	-
Tarassovi, Perepelitsin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wolffi, 3705	-	1/800	1/1600	1/800	1/800	-	-	-	-	1/800	-	-	-	-	-	-

Cuadro 5.

Frecuencias de animales positivos y negativos

HATO	ANIMALES MUESTREADOS	POSITIVOS	NEGATIVOS
1 (94)	19	11	8
2 (65)	13	7	6
3 (56)	11	2	9
4 (78)	16	9	7
TOTAL 293	59	29	30

*() Animales de cada hato

Porcentaje de casos positivos de los animales muestreados

$$\% \text{ Positivos} = (29/59) * 100$$

$$\% \text{ Positivos} = 49\%$$

Cuadro 6.

Porcentaje de animales positivos según la serovariedad.

Hato 1

SEROVARIEDAD	POSITIVOS	% POSITIVOS POR SEROVARIEDAD POSITIVOS/TOTAL (59)*100
Bratislava, Jez Bratislava	3	5
Canicola, Hond Utrecht IV	8	13.5
Grippotyphosa, Moskva V	1	1.6
Hardjo, Hardjoprajitno	6	10.1
Icterohaemorrhagiae RGA	3	5
Pomona, Pomona	0	0
Pyrogenes, Salinem	8	13.5
Tarassovi, Perepelitsin	3	5
Wolffi, 3705	5	8.4

Cuadro 7.

Hato 2

SEROVARIEDAD	POSITIVOS	% POSITIVOS POR SEROVARIEDAD POSITIVOS/TOTAL (59)*100
Bratislava, Jez Bratislava	3	5
Canicola, Hond Utrecht IV	2	3.3
Grippotyphosa, Moskva V	0	0
Hardjo, Hardjoprajitno	3	5
Icterohaemorrhagiae RGA	1	1.6
Pomona, Pomona	2	3.3
Pyrogenes, Salinem	1	1.6
Tarassovi, Perepelitsin	0	0
Wolffi, 3705	1	1.6

Cuadro 8.

Hato 3

SEROVARIEDAD	POSITIVOS	% POSITIVOS POR SEROVARIEDAD POSITIVOS/TOTAL (59)*100
Bratislava, Jez Bratislava	0	0
Canicola, Hond Utrecht IV	0	0
Grippotyphosa, Moskva V	1	1.6
Hardjo, Hardjoprajitno	2	3.3
Icterohaemorrhagiae RGA	0	0
Pomona, Pomona	0	0
Pyrogenes, Salinem	1	1.6
Tarassovi, Perepelitsin	0	0
Wolffi, 3705	0	0

Cuadro 9.

Hato 4

SEROVARIEDAD	POSITIVOS	% POSITIVOS POR SEROVARIEDAD POSITIVOS/TOTAL (59)*100
Bratislava, Jez Bratislava	2	3.3
Canicola, Hond Utrech IV	6	10.1
Grippotyphosa, Moskva V	0	0
Hardjo, Hardjoprajitno	4	6.7
Icterohaemorrhagiae RGA	2	3.3
Pomona, Pomona	2	3.3
Pyrogenes, Salinem	1	1.6
Tarassovi, Perepelitsin	0	0
Wolffi, 3705	5	8.4

Cuadro 10.

Frecuencias de los casos positivos según la serovariedad de los cuatro hatos

SEROVARIEDAD	POSITIVOS	% POSITIVOS POR SEROVARIEDAD POSITIVOS/TOTAL (59)*100
Bratislava, Jez Bratislava	8	13.55
Canicola, Hond Utrech IV	16	27.11
Grippotyphosa, Moskva V	2	3.38
Hardjo, Hardjoprajitno	15	25.42
Icterohaemorrhagiae RGA	6	10.16
Pomona, Pomona	4	6.77
Pyrogenes, Salinem	11	18.64
Tarassovi, Perepelitsin	3	5.08
Wolffi, 3705	11	18.64

DISCUSION

La presencia de anticuerpos contra distintas serovariedades del género *Leptospira* en los cuatro hatos en estudio en el municipio de Amacuzac, Morelos, puede estar determinada por diversos factores tales como la ubicación geográfica, ya que este municipio está irrigado por una gran variedad de ríos; la temperatura cálida favorece en gran medida a la sobrevivencia de esta bacteria; la presencia de animales silvestres de la región como son el tejón, comadreja, zorros, venados y roedores así como de otros animales domésticos (perros, cerdos, bovinos) que se encuentren cercanos a los hatos estudiados pueden influir en la presentación de leptospirosis.

En este estudio se encontró que el 49% de los animales muestreados fueron serológicamente positivos a *Leptospira*, siendo la serovariedad Canicola y la serovariedad Hardjoprajitno con un 27.11% y un 25.42% respectivamente, las más frecuentes, seguidas por las serovariedades Wolffi y Pyrogenes ambas con un 18.64%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Méndez y cols. quienes reportaron en Soto la Marina, Tamaulipas una positividad del 55.71% en bovinos, sin embargo, la serovariedad Hardjoprajitno fue la más frecuente presentándose en un 51.42% de los animales muestreados; siguiéndole la serovariedad Wolffi con un 38.57% (10). Torres y cols. determinaron en un estudio realizado en Ocozocuatla, Chiapas, que el 35% de los animales muestreados fueron positivos a *Leptospira*, siendo las serovariedades más frecuentes, Hardjo cepa H-89 con un 23.5%, Hardjo con un 13.3% y Wolffi con un 7.7% (11). En otro estudio realizado, Romero y cols. encontraron en distintos hatos en el estado de Chiapas el 29.3% de animales positivos (25), indicándonos un porcentaje

relativamente bajo en comparación con el obtenido en este estudio, siendo la serovariedad Hardjo cepa H-89 con un 14.63% y Wolffi con 13.27% las más frecuentes (25). Pedroza y cols. reportaron en ganado criollo en el sur del estado de Sonora que de 149 vacas muestreadas, 79.8% resultaron positivas a esta bacteria, siendo un porcentaje alto en contraste con los resultados de este estudio, determinando a las serovariedades Hardjo cepa H-89 con un 32.9% de frecuencia y Hardjoprajitno y Bratislava con un 32.2% . (26)

La seropositividad que presentaron estos hatos puede estar relacionada directamente con la reducción de los parámetros reproductivos. Ha sido documentada ampliamente la influencia negativa de este agente, es decir aumento de abortos, infertilidad, mortinatos y crías débiles, sin embargo, en este estudio no fue posible la evaluación de estos parámetros ya que al carecer de registros individuales no se cuenta con antecedentes de cada animal, solamente historia de problemas reproductivos del hato en general. (27)

El bovino no es un huésped habitual de la serovariedad Canicola y se considera como un huésped incidental por lo que es posible que la incidencia de esta serovariedad como la más frecuente en estos hatos, esté determinada por la presencia de un gran número de cánidos que se encuentran en la región. La serovariedad Hardjo, Hardjoprajitno, también se presentó con una alta frecuencia debido a que el bovino es el huésped habitual de esta.

Las características de manejo y alimentación de los cuatro hatos estudiados, al estar alojados en condiciones de pastoreo extensivo, determinan la ausencia en la

implementación de programas de medicina preventiva (desparasitación, vacunación, balanceo de raciones, prácticas de sanidad), influyendo en la presentación de enfermedades infecciosas que afectan la integridad, producción y reproducción en los hatos bovinos de la región.

En el presente estudio, se determinó la presencia de anticuerpos contra algunas de las serovariedades de *Leptospira*, concluyéndose que es recomendable la implementación de programas zootécnicos y de medicina preventiva con el objetivo de subsanar las prácticas tradicionales y evitar la infección por este agente y de esta manera disminuir las pérdidas en la producción así como evitar el posible contagio en humanos ya que esta enfermedad es una zoonosis importante.

REFERENCIAS

1. Brown C., Bolin C. Emerging Diseases of Animals. 1a Edición. E.U.A.: ASM Press. 2000.
2. Melgarejo GE, Torres BIJ, Moles CLP, Soto CR. Determinación de anticuerpos antileptospira en fetos de bovino en el complejo agropecuario industrial de Tizayuca. Memorias de XXIX Congreso Nacional de Buiatría; 2005 agosto 11-13; Puebla México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2005: 123.
3. Faine S. *Leptospira* and leptospirosis. 1a. Ed. Florida, United States of America: CRC Press. 1994.
4. Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J.C., Leonard F.C., Maghire D. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 2a. Edición. Great Britain: Blackwell Science Ltd. 2003.
5. Ortíz GO. *Leptospira hardjo-bovis* ¿Otro nuevo dardo para el tiro al blanco? 2º Simposio Nacional de Infertilidad en Vacas Lecheras; 2003 noviembre 6-8; Torreón Coahuila. México.: Asociación de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia., 2003: 117-122.
6. Alcaraz SLE. Detección de la expresión de la secretina GSPD, del sistema de secreción tipo 2 (12SS) de *Leptospira* mediante inmunohistoquímica. Tesis de grado de maestría en ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 2008.

7. Levett PN, Smythe L. Subcommittee on the taxonomy of *Leptospiraceae*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. Vol. 58:1049-1050, 2008.
8. García UD, Lara SVA, Monrroy JJA, Zavaleta HJN. Evaluación reproductiva y productiva de un hato lechero con un brote de *Leptospira interrogans* serovar hardjo tipo hardjobovis. Memorias del XXXII Congreso Nacional de Buiatría; agosto 2008 14-16; Veracruz México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2008:164-168.
9. Méndez ZC, Pinal PR, Benavides PL, Torres BJI, Meléndez VP, Moles CLP, Esquivel HA. Distribución de distintas serovariedades de *Leptospira* en 22 unidades de producción de bovinos. Memorias del XXXII Congreso Nacional de Buiatría; agosto 2008 14-16; Veracruz México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2008:193.
10. Méndez ZC, Pinal PR, Benavides PL, Torres BJI, Meléndez VP, Moles CLP, Esquivel HA. Situación de la infección por *Leptospira* en bovinos en diferentes etapas reproductivas. Memorias del XXXII Congreso Nacional de Buiatría; agosto 2008 14-16; Veracruz México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2008: 194.

11. Torres BJ, 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; junio 2000 15-17; Jalisco México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2000: 143.
12. Moles CLP, Gavaldón RD, Torres BJ, Cisneros PMA, Aguirre SJ, Rojas SN. Seroprevalencia simultánea de leptospirosis y tres enfermedades de importancia reproductiva en bovinos del altiplano central de la República Mexicana. Rev. Salud Anim. Vol. 24:2,2002.
13. Herrera LE, Banda RV, Luna AM, Socci EG, Ramírez MM. Programas de control en hatos bovinos lecheros infectados con leptospirosis en el estado de Guanajuato. Memorias del XXXII Congreso Nacional de Buiatría; agosto 2008 14-16; Veracruz México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2008: 186.
14. Adler B., de la Peña MA., *Leptospira*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO. Pathogenesis of bacterial infections in animals. 3rd edition. Great Britain: Editorial Blackwell Science. 2004: cap. 28.
15. Smith PB. Large Animal Internal Medicine. 4th Edition. EUA: Editorial Mosby. 2002.

16. Segura-Correa VM, Solis-Calderón JJ, Segura-Correa JC. Seroprevalence of and risk factors for leptospiral antibodies among cattle in the state of Yucatan, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*. Vol. 35, 2003.
17. Alonso-Andiconberry C, García Peña FJ, Ortega-Mora LM. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. *Prod. Sanid. Anim.* Vol. 16:2, 2001.
18. Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG. *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle*. 2a Edición. Great Britain. Blackwell Science Ltd: 2004.
19. Avila GJ. Abortos causas y prevención. *Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatría*; agosto 1995 65-67; Coahuila México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 1995: 65-67.
20. Avila, G.J. "Alternativas de vacunación del ganado en el trópico mexicano", Cátedra de clínica de los bovinos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México, D.F., 2008
21. OIE disponible: <http://www.oie.int>
22. e-local disponible: <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/morelos/Municipios>

23. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen: para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. 1ª Edición. México: UNAM, Instituto de Geografía. 1973.
24. INEGI disponible: <http://www.inegi.gob>
25. Romero RP, Gutiérrez RAJ, Morales AM, Cisneros PMA, Gutiérrez CAJ, Moles CLP, Torres BJ. Frecuencia de *Leptospira interrogans* en ganado bovino de la región frailesca, comprendiendo cuatro municipios del estado de Chiapas, México. Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatría; junio 2000 15-17; Jalisco México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2000: 141.
26. Pedroza PD, Luna AMA, Banda RV, Salazar GF. Detección de anticuerpos antileptospira en ganado criollo del sur del estado de Sonora. Memorias del XXXI Congreso Nacional de Buiatría; agosto 2007 9-11; Guerrero México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2007: 194-197.
27. Parámetros reproductivos disponible: <http://capanaparo.tepuyserver.net>