



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“DETERMINACION DE LEPTOSPIROSIS EN PERROS DE
EXPERIMENTACION EMPLEADOS EN EL DEPARTAMENTO
DE CIRUGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA: METODOS
SEROLOGICO Y BACTERIOLOGICO”
(1982)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

MIGUEL ANGEL ANTONIO FLORES GAXIOLA

ASESOR: RAFAEL CERVANTES SANCHEZ

COASESOR: ELDA A. JIMENEZ GUERRA

MEXICO, D. F.

1983



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.

"DETERMINACION DE LEPTOSPIROSIS EN PERROS
DE EXPERIMENTACION UTILIZADOS EN EL DEPAR
TAMENTO DE CIRUGIA DE LA FACULTAD DE MEDI
CINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA: METODOS SE
ROLOGICO Y BACTERIOLOGICO".

(1982)

I N D I C E

	Pag.
1.0 RESUMEN	4
2.0 INTRODUCCION	5
3.0 MATERIAL	13
4.0 METODO	15
4.1 METODOS DE DEMOSTRACION	15
4.1.1 Sangre	15
4.1.2 Orina	15
4.2 PROCEDIMIENTO DE AISLAMIENTO	16
4.3 PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACION DE CEPAS AISLADAS	16
4.4 PROCEDIMIENTO SEROLOGICO	17
4.4.1 Prueba de aglutinación microscópica	17
4.4.2 Prueba de aglutinación con antígeno vivo	17
CUADRO No. I SEROTIPOS EMPLEADOS PARA LAS PRUEBAS DE MICROAGLUTINACION	19
5.0 RESULTADOS	20
CUADRO No. II VALORES DE χ^2 (Jí cuadradaa)	20
CUADRO No. III INCIDENCIA EN ANIMALES MACHOS Y HEMBRAS SOSPECHOSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS (PRUEBA SEROLOGICA)	21
CUADRO No. IV INCIDENCIA DE SEROTIPOS DE ACUERDO AL TITULO DE AGLUTINACION (%)	22
CUADRO No. V FRECUENCIA DE SEROTIPOS DE ACUERDO AL TITULO DE AGLUTINACION	23
CUADRO No. VI SEROTIPOS POSITIVOS EN MACHOS POR EDADES	24
CUADRO No. VII SEROTIPOS SOSPECHOSOS EN MACHOS POR EDADES	25
CUADRO No. VIII SEROTIPOS POSITIVOS EN HEMBRAS POR EDADES	26
CUADRO No. IX SEROTIPOS SOSPECHOSOS EN HEMBRAS POR EDADES	27
CUADRO No. X CEPAS DE LEPTOSPIRA LOCALIZADAS EN LA ORINA	28

		Pág.
GRAFICA No. 1	NUMERO DE AGLUTINACIONES PARA CADA DILUCION	29
GRAFICAS Nos. 2 y 3	FRECUENCIA DE ANIMALES SOSPECHOSOS, POSITIVOS Y NEGATIVOS POR EDADES	30 y 31
GRAFICA No. 4	PORCENTAJE DE SEROTIPOS POSITIVOS ENCONTRADOS	32
6.0	DISCUSION	33
7.0	CONCLUSIONES	36
8.0	LITERATURA CITADA	37

1.0 R E S U M E N

"DETERMINACION DE LEPTOSPIROSIS EN PERROS DE EXPERIMENTACION UTILIZADOS EN EL DEPARTAMENTO DE CIRUGIA-DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA. METODOS SEROLOGICO Y BACTERIOLOGICO". (1982)

Autor: MIGUEL ANGEL A. FLORES GAXIOLA

Asesor: RAFAEL CERVANTES SANCHEZ

Coasesor: ELDA A. JIMENEZ GUERRA

Con el fin de demostrar la presencia de leptospira se obtuvieron muestras de orina, sangre y suero, de cien perros del Centro Veterinario Antirrábico (Tulyehualco), que fueron utilizados experimentalmente en el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

De los exámenes de campo obscuro hechos en orina se encontraron positivos el 3% de los casos, en tanto que el 37% de los estudios serológicos fueron positivos en la prueba de aglutinación microscópica.

Se utilizaron 24 serotipos para las pruebas serológicas, siendo 48 positivos a: L. pomona, L. zanoni, L. shermani, L. ballum, L. hardjo, L. pyrógenes y L. wolffi de estos el de mayor incidencia fué L. pomona con un 30% y las muestras de orina positivas, se serotipificaron a L. pomona, L. icterohaemorrhagiae y L. grippotyphosa.

Existió un caso con cinco diferentes variedades de leptospira que fueron L. pomona, L. shermani, L. wolffi, L. hardjo y L. pyrógenes.

Se recomienda el empleo de medidas sanitarias, tendientes a evitar posibles contagios.

FEBRERO / 1983.

2.0 INTRODUCCION

La leptospirosis es un problema de salud pública - cuya presencia es más común de lo que suele pensarse.

El hecho de que los huéspedes habituales de las -- leptospiras patógenas para el hombre, sean animales domésticos, hace posible que las leptospirosis sean frecuentes y a veces adquieran el carácter de epidemia localizada (2,18).

La forma más común de transmisión es por medio del contacto directo con animales enfermos o por ingestión de - agua y comida contaminadas, habiendo ocurrido los brotes en perros y humanos, generalmente después de inundaciones al to mar o nadar en aguas contaminadas, o al tener contacto con - la orina de roedores u otros animales. La leptospira puede entrar en el cuerpo a través de heridas en la piel o membranas mucosas (1, 3, 5, 8, 18).

En la transmisión de la ictericia infecciosa la - intervención de los perros tiene considerable importancia, - ya que estos animales padecen dos formas de leptospirosis, - una con ictericia aguda semejante a la enfermedad de Weil - aguda en el hombre y otra sin ictericia conocida como enfermedad de Stugartt o Tifus canino (2.3). La leptospira icterohaemorrhagiae puede infectar a los perros y es probable-- mente la causante del primer tipo de enfermedad, mientras - que el segundo tipo es producido por una leptospira canina- (canicola), pero no se conoce con seguridad la frecuencia -

relativa de ambas infecciones en el perro (3.5). Se señala que muchas cepas de leptospira inmunológicamente distintas (18 aproximadamente) causan diferentes enfermedades humanas, la mayor parte de las cuales no originan ictericia.

Algunos autores han sugerido que hasta un 50% de las leptospirosis caninas son causadas por la Leptospira icterohaemorrhagiae aunque también pueden ser provocadas por Leptospira canícola, pomona, ballum, grippotyphosa, autumnalis, hebdomadis, bataviae, javánica, sejroe, tarassovi, sax y brat (3,15,20).

En 1958 Varela y colaboradores, en México, examinaron 34 muestras de suero sanguíneo de caninos, obteniendo 9 positivos contra leptospira (26.5%); siendo 5 casos positivos a Leptospira icterohaemorrhagiae (14.17%), 3 a Leptospira canícola (8.8%) y un caso a Leptospira pomona (2.9%) - (30).

Félix en el año de 1963 en la Ciudad de México encontró que de 596 muestras de suero sanguíneo de canino tomadas, 70 reactores resultaron positivos a Leptospira canícola (11.74%) y 100 a Leptospira icterohaemorrhagiae (16.77%) (10).

En 1966 Arroyo investigó 100 muestras de suero de canino, encontrando de éstas el 11% de casos positivos (1).

Varela y colaboradores en 61 casos de perros sospechosos de leptospira reportaron 48 positivos (45.9%), -- siendo los serotipos más frecuentes Leptospira icterohaemorrhagiae, pomona y canícola (31).

Uruchurtu y colaboradores en el año de 1973 informaron de un caso de Leptospira spp. diagnosticado por el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (27).

Michna y colaboradores en 1973 recolectaron 120 sueros de perros vacunados y no vacunados; utilizando la técnica de Schuffner encontraron 37 (31%) positivos y con la técnica de Microaglutinación rápida sólo 12 (10%) fueron positivos (15).

En 1974 Topacio y colaboradores, informaron que en 321 casos de leptospira estudiados en las Islas Filipinas, 41 fueron positivos (12.7%), siendo los serotipos más frecuentes Leptospira pyrögenes, Leptospira canícola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira javánica, Leptospira manilae y Leptospira autumnalis (26).

Ruy E. y colaboradores examinaron 982 sueros de perros en la Ciudad de Corea, encontrando 15.1% positivos a leptospira (20). Por otra parte en una investigación de anticuerpos contra leptospira en perros con dueño y sin dueño, llevada a cabo en las ciudades de Tokio y Yokohama, se obtuvieron los siguientes resultados:

En la Ciudad de Tokio de 300 sueros muestreados de perros con dueño, fueron positivos 14 (4.7%) y en la Ciudad de Yokohama de 256 fueron positivos 10 (3.9%).

Por lo que se refiere a perros sin dueño, en la Ciudad de Tokio fueron positivos 33 (22.8%) contra Leptospira icterohaemorrhagiae y Leptospira canicola (19).

Uruchurtu y colaboradores informaron en 1975, 10 casos de Leptospira spp. en perros diagnosticados por el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M., en el año de 1973 (28).

En el mismo año Ruy E. estudia 7113 perros con -- dueño y 1615 sin dueño, en varias ciudades de Japón, encontrando que 64 (3.9%) de los perros de casa fueron positivos contra Leptospira icterohaemorrhagiae, 534 (7.52%) contra Leptospira canicola y 595 (8.36%) contra otros serotipos. -- Por lo que respecta a perros sin dueño 890 (55%) resultaron positivos (21).

Kingscote y colaboradores en 1976 recolectaron -- en la Ciudad de Toronto, Canada 619 sueros de perro para -- demostrar la presencia de anticuerpos contra leptospira, encontrando 5.6% de los sueros positivos principalmente contra Leptospira autumnalis y Leptospira canicola (14).

Ruy E. informa en el año de 1976, en un estudio internacional (113 países) para demostrar aglutinina en -- suero de perros con y sin dueño, que de 11552 muestras de suero recolectadas, 111 (0.96%) muestras de perro con dueño y 354 (3.06%) de perros sin dueño resultaron positivas, -- siendo los serotipos más comunmente encontrados Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira canicola, Leptospira pyrôge

nes, Leptospira grippotyphosa, Leptospira australis, Leptospira bataviae, Leptospira autumnalis y Leptospira hebdomadis (22).

Uruchurtu y colaboradores en el mismo año informan de 6 casos de Leptospira spp. en perros diagnosticados por el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. en el año de 1974 (29).

En 1977 Moreira C.E. y colaboradores en una investigación inmunológica de leptospirosis en Salvador Bahía, - Brasil, encontraron en un total de 436 muestras de suero - canino que 93 (21.3%) fueron positivas a títulos de 1:100 a 1:12800 (17).

Flores y colaboradores hacen mención en el año de 1977 de 11 casos positivos a Leptospira spp. en un estudio de 50 necropsias en perros callejeros de la Ciudad de México (12). De la misma manera informan sobre 9 casos diagnosticados por el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. (11).

Sánchez en 1981 de 100 perros muestreados para - detectar leptospira, encontró 2 casos positivos en observación directa de la orina en microscopio de campo oscuro y en pruebas serológicas informa de 5 casos positivos (24).

El aspecto morfológico es básicamente el mismo - para todos los miembros del género leptospira. Aparecen como microorganismos filiformes, delgados, de aproximada-

mente 0.1 a 0.2 micras de diámetro y de 5 a 15 micras de largo. Las espirales tienen una amplitud de 0.2 a 0.5 micras. La parte media del microorganismo se mantiene rígida, mientras que los extremos están doblados en forma de gancho y hacen rápidos movimientos ondulatorios, las leptospiras rotan rápidamente sobre su eje longitudinal. Su cultivo se lleva a cabo en aerobiosis entre 28 y 30°C, en caldo peptonado con 10% de suero, pudiendo también ser cultivadas en agar que contenga 10% de suero y hemoglobina (4,5,7,13).

La leptospirosis se caracteriza por manifestaciones clínicas variadas, dándose el caso que muchos animales que sin duda están infectados, nunca muestran signos clínicos y consecuentemente tienen lesiones poco definidas.

Una vez que la bacteria penetra por cualesquiera de las vías, invade el torrente circulatorio, incubándose en un periodo de 2 a 7 días; la bacteria se establece entonces en órganos parenquimatosos (principalmente en hígado y riñón) y dependiendo del serotipo de leptospira son las lesiones y sintomatología provocadas. Las infecciones con Leptospira icterohaemorrhagiae tienden a ser más severas, ya que los animales afectados muestran fiebres elevadas, anorexia, congestión conjuntival y signos relacionados con daño en los riñones, hígado, tracto gastrointestinal y destrucción de glóbulos rojos, lo que se confirma con las siguientes lesiones que se presentan: hepatitis, nefritis, congestión y edema de los nódulos linfoides.

Por lo que respecta a Leptospira canícola, la sig nología es muy similar a la causada por la Leptospira ictero haemorrhagiae pero las lesiones varían en cuanto al grado de infección, teniéndose así: Nefritis intersticial, hepatitis de severidad variada y evidencia de degeneración del miocar dio (4,7,8,9,13,16).

Algunos animales se recuperan espontáneamente de la infección aguda para pasar a la fase crónica, ocurriendo entonces la eliminación de grandes cantidades de leptospira por la orina (7,13).

Diagnóstico: En todos los casos de enfermedades febriles de iniciación aguda y de origen desconocido, debe considerarse la posibilidad de leptospirosis y efectuarse el diagnóstico de laboratorio, sobre todo si la historia del paciente indica una posible exposición a leptospira.

El diagnóstico clínico no es muy sugestivo, ya que comunmente suele ser confundido con una hepatitis y por lo tanto debe recurrirse al laboratorio para efectuarlo por -- otros métodos.

El diagnóstico bacteriológico se lleva a cabo haciendo cultivos de sangre, orina o líquido cefalorraquídeo, así como inoculando animales de laboratorio o por observa-- ción de las leptospiras en el microscopio de campo obscuro (5,8,13).

Por lo que se refiere al diagnóstico serológico,-- se lleva a cabo detectando los anticuerpos que el animal --

desarrolla, se informa, que aparecen entre los 7 y 15 días después de la infección, alcanzando su título más elevado - entre las 3 y 8 semanas (3,4,5,8).

La finalidad de este trabajo es demostrar la presencia de leptospira en la orina de los perros que llegan al Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y que son utilizados experimentalmente por los alumnos, con el fin de establecer medidas de control para evitar posibles contagios, ya que como se sabe dicha enfermedad es una zoonosis a la cual no se le ha brindado la importancia que debiera tener.

Debe hacerse mención que el presente estudio se realizó con la colaboración del Laboratorio de Diagnóstico del Departamento de Producción Animal: Cerdos, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

3.0 M A T E R I A L

En la ejecución del presente trabajo, fué necesario emplear el siguiente material:

- A) Cien perros procedentes del Centro Veterinario Antirrábico (Tulyehualco), que se emplean experimentalmente en el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de los cuales, se obtuvo muestras de orina, sangre y suero en forma estéril.
- B) 9 conejos.
- C) Suero de conejo .
- D) 24 cepas de Leptospira.
- E) Solución salina fisiológica estéril.
- F) Medio de Stuart.
- G) Oxalato de sodio.
- H) Tintura de Benzalconio.
- I) Pipetas Pasteur.
- J) Pipetas serológicas de 1 y 5 ml.
- K) Tubos de cultivo contapón.
- L) Microscopio de campo obscuro.
- M) Autoclave.
- N) Centrífuga.
- O) Recipiente de cámara húmeda.
- P) Estufa incubadora.
- Q) Placas excavadas estériles de porcelana.

- R) Jeringas de 10 ml. con aguja del No. 20 de 3-pulg.
- S) Tubos vacutainers al vacio.
- T) Frascos para toma de muestras de 2 ml.
- U) Porta objetos.
- V) Cubreobjetos.

4.0 M E T O D O

4.1 METODOS DE DEMOSTRACION.

Exámenes de Campo Oscuro.

Durante la leptospiremia, las leptospiras pueden encontrarse por examen de la sangre en campo oscuro, o pueden ser descubiertas en la orina después de la primera semana de enfermedad.

4.1.1 Sangre.- Para poder llevar a cabo dicha prueba de laboratorio, fué necesario obtener la sangre en forma -- aséptica, para lo cual se hizo punción en la vena femoral o vena cefálica, previa aplicación de antiséptico (Tintura de Benzalconio) y utilizando tubos vacutainers al vacío que -- contenían como anticoagulante oxalato de sodio al 1% el que se empleó en proporción de 0.5 ml. por 5ml de sangre.

De la sangre se hizo una dilución en solución salina fisiológica de 1:10 para observación directa con el microscopio de campo oscuro.

4.1.2 Orina.- (Por punción de vejiga). Se empleó una técnica recientemente perfeccionada con la cual se puede obtener orina adecuadamente para su observación en microscopio de campo oscuro y cultivo, por punción de la vejiga de los animales a través de la pared abdominal. Este procedimiento ha sido usado con buen resultado en perros, gatos y cobayos (7).

De acuerdo con esta técnica, se sujetó al animal-- por sus miembros posteriores con la cabeza hacia abajo, ---

aunque también se puede dejar en cuadripedestación. Se limpió el abdomen con tintura de Benzalconio y con una jeringa estéril, seca, de 10 ml. y aguja de calibre 20 de 3 pulgadas se aspiró alrededor de 5 ml. de orina por punción de la vejiga, a lo largo de la línea media, aproximadamente de 1 a 5 cm. adelante del borde anterior del piso de la cavidad -- pelviana, dependiendo del tamaño del animal.

Dicha cantidad se centrifugó por 20 a 30 minutos a 4000 r.p.m. Posteriormente se tomó 0.1 ml. del sobrenadante y se observó al microscopio de campo oscuro, el resto -- del sobrenadante se colocó en un tubo estéril, para su cultivo; el sedimento se homogeneizó y fué observado nuevamente a campo oscuro.

Todas las observaciones se efectuaron dentro de -- las dos horas siguientes a la recolección.

4.2 PROCEDIMIENTO DE AISLAMIENTO.

Cultivo directo.

A las muestras de orina que se les detectó leptospiras a campo oscuro, se sembraron en medio de Stuart; en -- proporción de 0.5 ml. de orina por 5ml. de medio, haciendo posteriormente diluciones decimales hasta 1:160 e incubándose a una temperatura de 28 a 30°C., revisando a los 7, 14 y 30 días por medio del microscopio de campo oscuro.

4.3 PROCEDIMIENTO PARA LA IDENTIFICACION DE CEPAS AISLADAS

Se inocularon por vía intraperitoneal 3 conejos -- clínica y serológicamente sanos, de 3.5 kg. de peso, cada --

7 días, con cultivos de 4 días en medio Stuart que contenían 150,000 leptospiras por ml., de la cepa aislada (esta concentración es equivalente a 0.5 del Nefelómetro de McFarland) aplicándoseles dosis sucesivas de 1, 2, 4 y 6 ml. Después de la última inoculación se sangraron por vía intracardiaca a los 7, 14 y 30 días, para determinar con la prueba de microaglutinación su título homólogo a los 24 serotipos.

4.4 PROCEDIMIENTO SEROLOGICO

4.4.1 Prueba de Aglutinación Microscópica.

Preparación de los antígenos.

Las cepas de leptospira usadas para la producción de antígeno se mantuvieron en medio de Stuart con 8 a 10% de suero estéril de conejo, inactivado a 56°C durante 30 minutos e incubado a 28°C durante 7 a 14 días con un máximo de 30 días, ya que su reproducción se llevó a cabo cada 15 días, examinándose después a campo obscuro para determinar aproximadamente 200 leptospiras por campo las que deben estar libres de contaminación y aglutinación espontánea.

4.4.2 Prueba de aglutinación con antígeno vivo.

Para esta prueba se prepararon series de diluciones dobles del suero con solución salina fisiológica de -- 1:50 a título final.

Se colocó 0.1 ml. de cada dilución y 0.1 ml. de antígeno en placas de porcelana excavadas. Se incubaron-- entre 28 a 30°C durante dos horas; se examinó una gota de cada dilución con el microscopio de campo obscuro utilizan

do el objetivo de pequeño aumento y ocular de 12.5 sin utilizar cubreobjetos.

Se reconoció como positivo cuando el 50% de leptospiras están aglutinadas en la dilución 1:100 o más alto, títulos de 1:50 se consideraron como sospechosos.

Para efectuar el presente trabajo, los serotipos de leptospira que fueron utilizados se resumen en el Cuadro No. 1.

CUADRO No. 1

SEROTIPOS EMPLEADOS PARA LAS PRUEBAS DE MICROAGLUTINACION

Serogrupo	Serotipo	Cepa de Referencia
Arborea	arborea	
Australis	australis	Ballico
Autumnalis	autumnalis	Akyami
Ballum	castellonis	Castellón
Bataviae	bataviae	Van tieren
Bratislava	bratislava	
Canícola	canícola	Hond Utrecht
Copenage	copenage	
Cristaovali	cristaovali	LT 940
Grippotyphosa	grippotyphosa	Moskova V
Hebdomadis	hebdomadis	Hebdomadis
Hardjo	hardjo	Hardjo prajitno
Icterohaemorrhagiae	icterohaemorrhagiae	RGA
Lousiana	lousiana	
Orleans	orleans	
Panamá	panamá	Panamá
Peruviana	peruviana	
Pomona	pomona	Pomona
Pyrógenes	pyrógenes	Salinen
Sejroe	sejroe	M 84
Shermani	shermani	LT 821
Tarassovi	tarassovi	Perepelicin
Wolffii	wolffii	3705
Zanoni	zanoni	

R E S U L T A D O S

Con objeto de determinar el efecto del sexo sobre la incidencia, se llevó a cabo una prueba de χ^2 (Ji-cuadrada), la que se muestra a continuación:

CUADRO No. II VALORES DE χ^2 (Ji-Cuadrada)

	HEMBRAS		MACHOS	
	OBSERVADO	ESPERADO	OBSERVADO	ESPERADO
POSITIVOS	9	11.9 (0.706)	25	22.1 (0.380)
NEGATIVOS	18	16.10 (0.224)	28	29.9 (0.120)
SOSPECHOSOS	<u>8</u>	7.0 (<u>0.142</u>)	<u>12</u>	13.2 (<u>0.076</u>)
	35	1.072	65	0.576

$$1.072 + 0.576 = 1.648$$

HIPOTESIS A PROBAR:

Ho : No existe relación entre la incidencia y el sexo.

Ha : Si hay dependencia de la incidencia sobre el sexo.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \frac{\text{observado} - \text{esperado}}{\text{esperado}}$$

$$i = 1 \quad J = 1$$

$$1.648 \quad 5.991 \quad \text{Se acepta Ho}$$

Es decir no se presentó mayor incidencia sobre ninguno de los sexos.

CUADRO N° III.

INCIDENCIA EN ANIMALES MACHOS Y HEMBRAS SOSPECHOSOS POSITIVOS
Y NEGATIVOS.
(PRUEBA SEROLOGICA)

P O R C E N T A J E S

ANIMALES	MACHOS	HEMBRAS	MACHOS	HEMBRAS
SOSPECHOSOS	12	8	18.46	22.85
POSITIVOS	25	9	38.46	25.71
NEGATIVOS	28	18	43.07	51.42
TOTAL	65	35	100.00	100.00

NOTA : no. de muestras 100

CUADRO N° IV.

INCIDENCIA DE SEROTIPOS DE ACUERDO AL TITULO DE AGLUTINACION (%)

SEROTIPO	POSITIVO	SOSPECHOSO	NEGATIVO
L. BALLUM	6	3	91
L. HARDJO	1	2	97
L. POMONA	30	17	53
L. PYROGENES	2	0	98
L. SHERMANI	6	3	91
L. WOLFFI	2	4	94
L. ZANONI	1	0	99
TOTAL	6.85	4.14	89.00

NOTA : Numero de pruebas por serotipo 100

CUADRO N° V

FRECUENCIA DE SEROTIPOS DE ACUERDO AL TITULO DE AGLUTINACION

TITULOS DE AGLUTINACION								
SEROTIPO	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1000	1/1320	1/9000
L. BALLUM	3	4	2	0	0	0	0	0
L. HARDJO	2	1	0	0	0	0	0	0
L. POMONA	17	12	10	6	0	1	0	1
L. PYROGENES	0	1	0	1	0	0	0	0
L. SHERMANI	3	4	1	0	1	0	0	0
L. WOLFFI	5	0	1	0	0	0	1	0
L. ZANONI	0	0	0	1	0	0	0	0
TOTAL	30	22	14	8	1	1	1	1

NOTA: Número de pruebas por serotipo 100
 1/50 : Se considera como sospechoso
 1/100 : a 1/9000 se considera como positivo

CUADRO N° VI.

SEROTIPOS POSITIVOS EN MACHOS POR EDADES.

EDAD EN AÑOS	TOTAL ANIMALES	TOTAL SEROTIPOS (+)	ballum	hardjo	pomona	pyrogenes	shermani	wolffi	zanoni
1	6	2	0	0	2	0	0	0	0
2	4	1	0	0	0	0	1	0	0
3	11	5	1	0	3	0	1	0	0
4	12	4	1	0	2	0	1	0	0
5	10	8	1	0	4	1	1	0	1
6	8	8	1	0	5	0	1	1	0
7	7	6	0	1	2	1	1	1	0
8	3	3	1	0	2	0	0	0	0
9	1	0	0	0	0	0	0	0	0
10	3	2	1	0	1	0	0	0	0
TOTAL	65	39	6	1	21	2	6	2	1

CUADRO N° VII.

SEROTIPOS SOSPECHOSOS EN MACHOS POR EDADES

EDAD EN AÑOS	TOTAL ANIMALES	TOTAL SEROTIPOS sospechosos	ballum	hardjo	pomona	pyrogenes	shermani	wolffi	zanoni
1	6	1	0	0	0	0	1	0	0
2	4	3	0	0	2	0	0	1	0
3	11	7	1	0	5	0	1	0	0
4	12	2	0	0	2	0	0	0	0
5	10	3	0	1	1	0	0	1	0
6	8	1	0	0	1	0	0	0	0
7	7	1	0	0	0	0	0	1	0
8	3	1	0	0	0	0	0	1	0
9	1	0	0	0	0	0	0	0	0
10	3	1	0	0	1	0	0	0	0
TOTAL	65	20	1	1	12	0	2	4	0

CUADRO N° VIII

SEROTIPOS POSITIVOS EN HEMBRAS POR EDADES

EDAD EN AÑOS	TOTAL ANIMALES	TOTAL SEROTIPOS (+)	ballum	hardjo	pomona	pyrogenes	shermani	wolffi	zanoni
1	8	2	0	0	2	0	0	0	0
2	10	1	0	0	1	0	0	0	0
3	7	2	0	0	2	0	0	0	0
4	1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	5	3	0	0	3	0	0	0	0
6	3	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	1	1	0	0	1	0	0	0	0
TOTAL	35	9	0	0	9	0	0	0	0

CUADRO N° IX

SEROTIPOS SOSPECHOSOS EN HEMBRAS POR EDADES

EDAD EN AÑOS	TOTAL ANIMALES	TOTAL SEROTIPOS sospechosos	ballum	hardjo	pomona	pyrogenes	shermani	wolffi	zanoni
1	8	5	2	0	3	0	0	0	0
2	10	1	0	0	1	0	0	0	0
3	7	1	0	1	0	0	0	0	0
4	1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	5	1	0	0	0	0	1	0	0
6	3	1	0	0	1	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	1	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	35	9	2	1	5	0	1	0	0

En los estudios hechos en orina se logró aislar en 3 casos la bacteria, con la cual fueron inoculados los conejos para la obtención de anticuerpos, habiendo sido posible identificar las cepas de leptospira que se presentan en el Cuadro No. X

CUADRO No. X

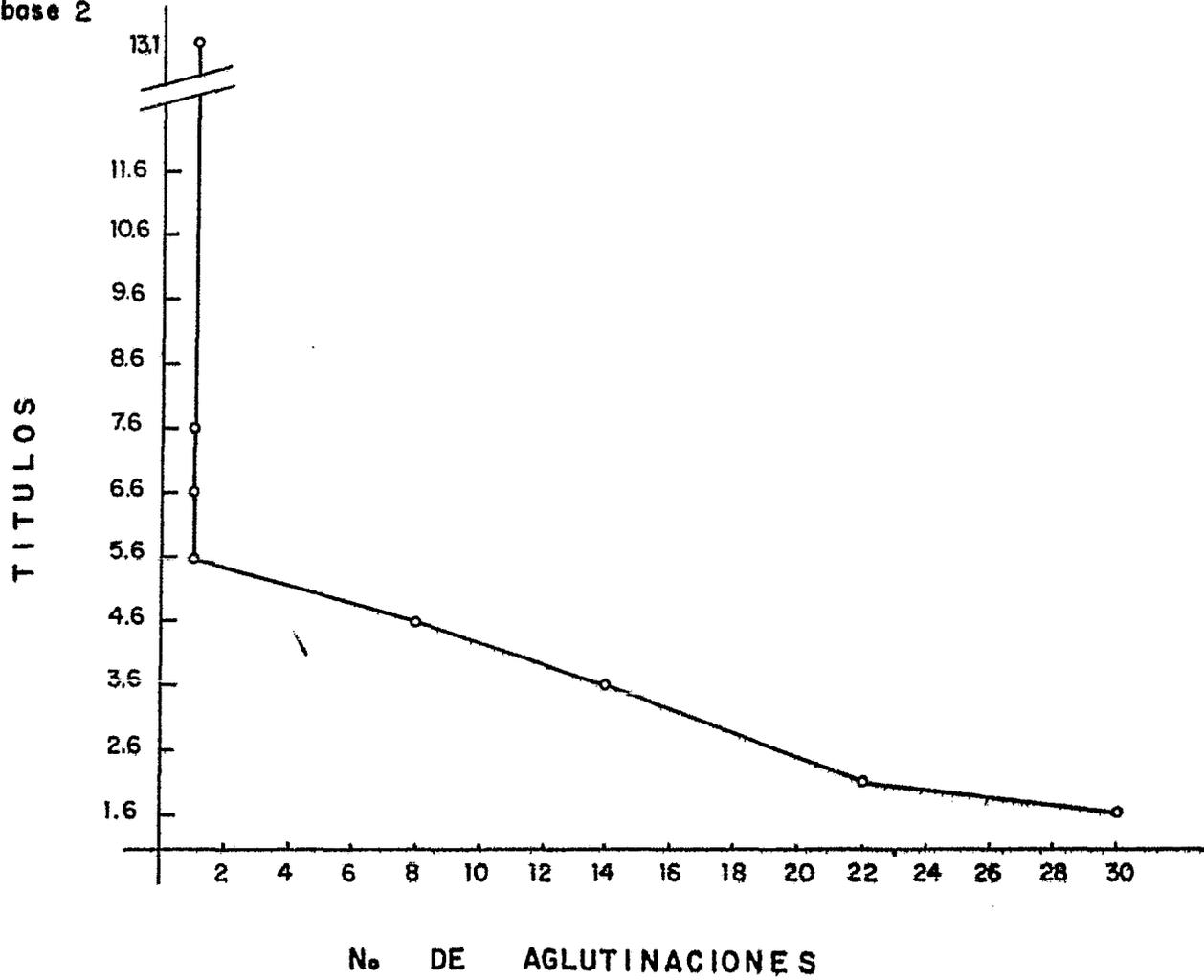
CEPAS DE LEPTOSPIRA LOCALIZADAS EN LA ORINA

EDAD APROXIMADA (AÑOS)	SEXO	SEROTIPOS ENCONTRADOS		
		L.POMONA	L.GRIPPOTYPHOSA	I. ICTERHAEMO- RRHAGIAE
1	macho	1:25000		
7	macho		1:200	1:200
3	hembra			1:200

GRAFICA N. 1

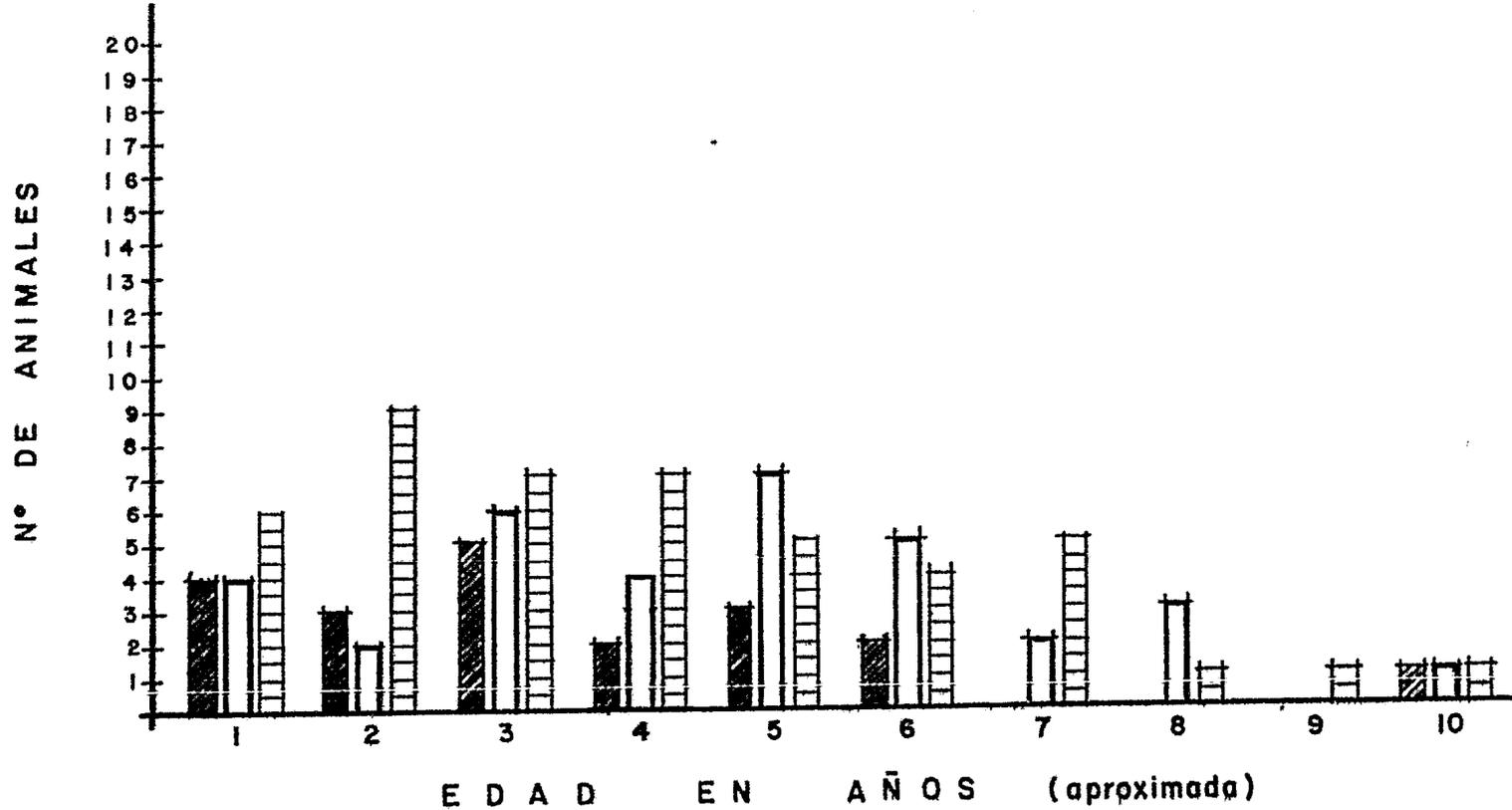
NUMERO DE AGLUTINACIONES PARA CADA DILUCION

Log. base 2



GRAFICA N° 2.

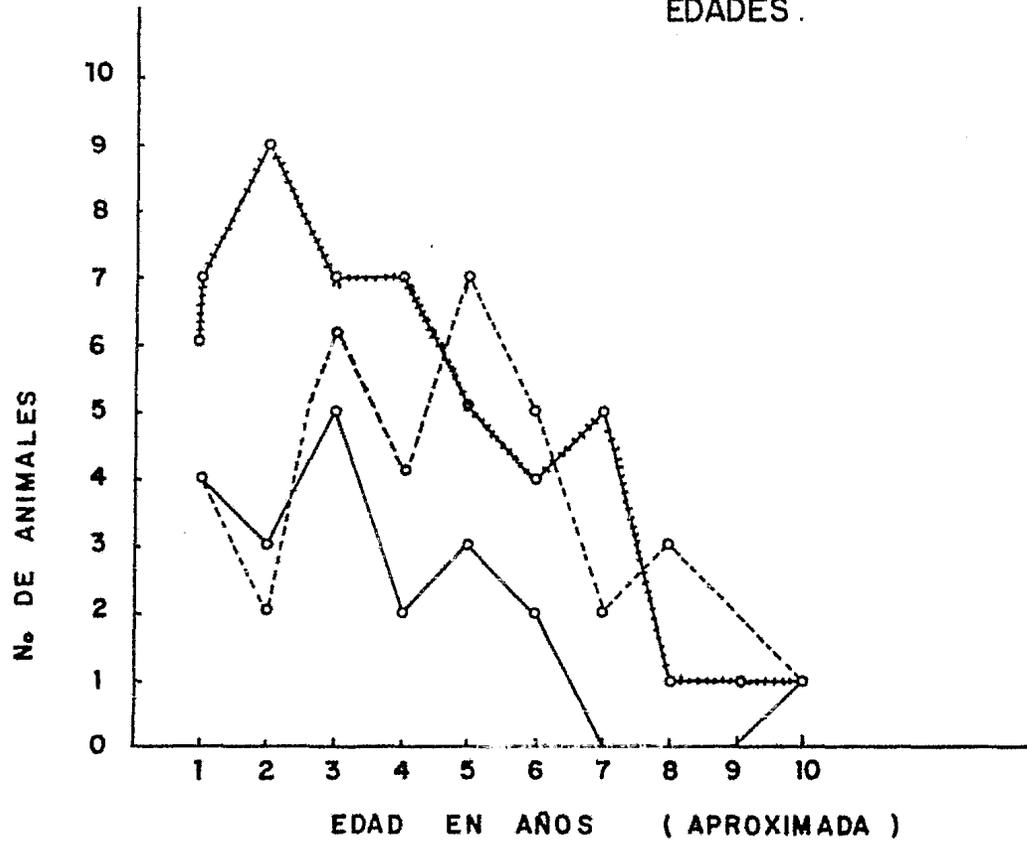
FRECUENCIA DE ANIMALES SOSPECHOSOS, POSITIVOS Y NEGATIVOS
POR EDADES



■ sospechoso
□ positivo
▨ negativo

GRAFICA No. 3

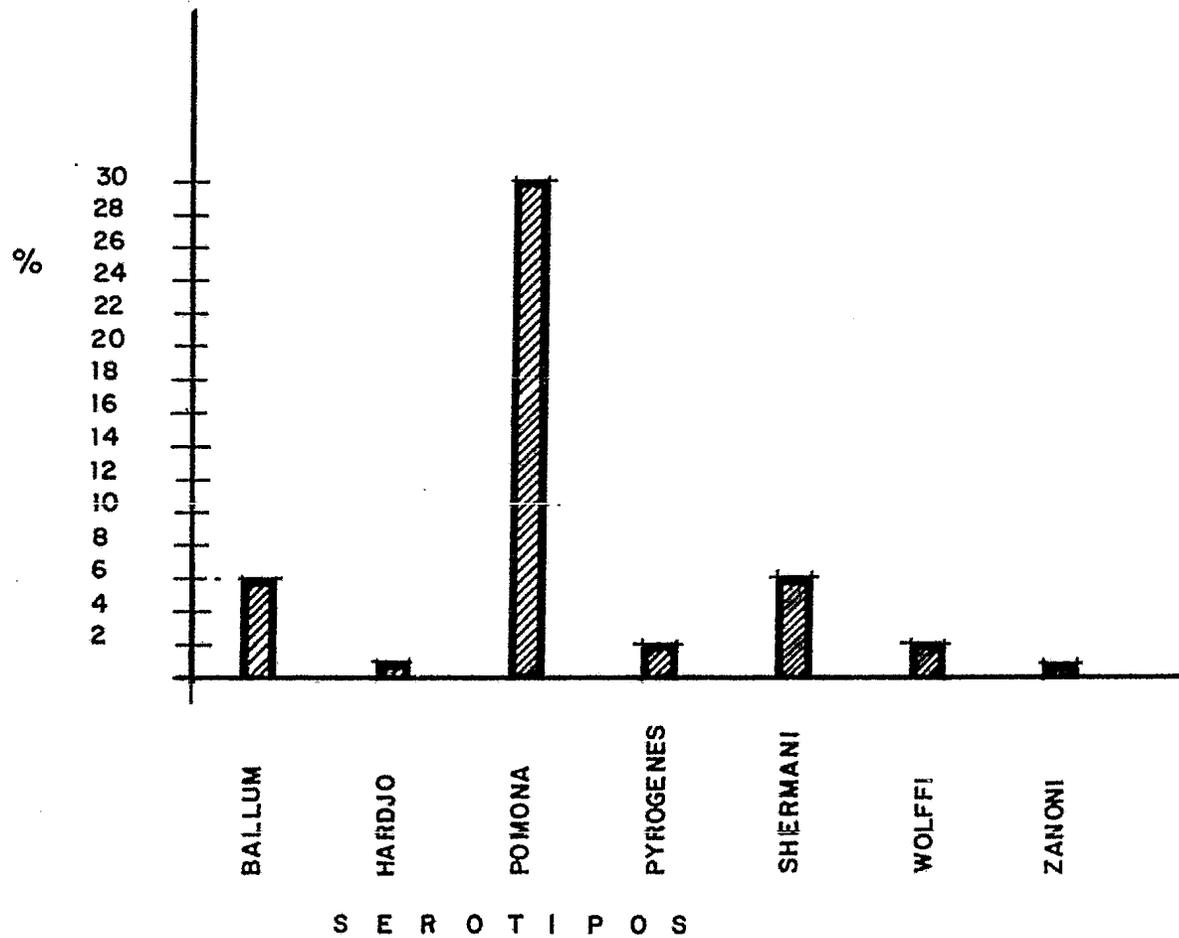
FRECUENCIA DE ANIMALES SOSPECHOSOS, POSITIVOS Y NEGATIVOS POR EDADES.



NOTA : ————— SOSPECHOSOS
----- POSITIVOS
++++ NEGATIVOS

GRAFICA N° 4

INCIDENCIA DE SEROTIPOS POSITIVOS ENCONTRADOS



6.0 D I S C U S I O N

Varios investigadores mencionan porcentajes de títulos serológicos positivos en sus trabajos, que varían desde un 4% hasta un 46%, lo cual nos indica la gran diferencia de información de que se dispone. (1,14,15,17,19,21,22,25,30,31).

De la misma manera sugieren que hasta un 50% de las leptospirosis caninas son causadas por L. icterohaemorrhagiae (3,15,20), y en investigaciones hechas en la Ciudad de México se ha demostrado también la importancia que tienen L. pomona y L. canicola, ya que los porcentajes encontrados fueron 7,11,-26 y 46% (1,10,24,27,28,29,30,31)

Asimismo, en encuestas serológicas realizadas en otras partes del mundo, se observó la presencia de otros serotipos tales como: L. pyrögenes, L. grippotyphosa, L. javánica, L. manilae, L. sax, L. hebdomadis, L. ballum, L. autumnalis, L. australis, L. bataviae, L. sejroe, L. hyos, y L. brat (14,15,17,19,20,21,22,26)

De las cien muestras de suero analizadas en el presente estudio 65 pertenecían a caninos machos y 35 a hembras. En el primer caso resultaron positivas 25 lo que corresponde a un porcentaje de 38.46%, en tanto que para las hembras, 9 resultaron positivas lo cual representa un 25.71% (Cuadro No. II).

El total de pruebas serológicas positivas fué del-

6.85% y los serotipos encontrados fueron los siguientes: L. pomona, L. zanoni, L. shermani, L. hardjo, L. wolffi, L. pyrógenes y L. ballum (Cuadro No. III). De las cuales las L. shermani, L. wolffi, L. hardjo y L. zanoni no se mencionan dentro de la literatura consultada.

El serotipo que más frecuentemente se observó fué L. pomona (Cuadro No. IV) lo cual concuerda con lo reportado por los autores (3,15,20,31).

No se detectaron algutininas a los siguientes serotipos: L. arborea, L. australis, L. autumnalis, L. bataviae, L. bratislava, L. canícola, L. copenage, L. cristaóvali, L. grippotyphosa, L. icterohaemorrhagiae, L. louisiana, L. orleans, L. panama, L. peruviana, L. serjoe, L. tarassovi, y L. hebdomadis.

Los Cuadros No. V y VII muestran los serotipos encontrados en machos y hembras, así como la distribución que existió por edades, observándose que se presenta mayor variedad de serotipos en los machos.

El título más elevado de anticuerpos (1:9000) fué localizado en un canino macho; sobre esto las publicaciones consultadas mencionan que pueden variar de 1:100 a 1:12800 - (17) y revisando la gráfica No. 1, se observa que las variaciones que se presentaron fueron de 1:100 hasta 1:9000. Este título tan elevado hace suponer que el animal tuvo la enfermedad en un periodo comprendido entre la tercera y octava semana antes del muestreo (3,4,5,8).

Asimismo, se observó que mientras mayor fué la -- edad de los individuos, aumentó el número de casos positivos o sospechosos.

Cabe mencionar que se encontró una muestra de suero sanguíneo con anticuerpos a cinco diferentes serotipos de leptospira (L. pomona, L. shermani, L. wolffi, L. hardjo y L. pyrógenes) y pertenecía a un canino macho de una edad aproximada de 7 años.

La frecuencia de animales sospechosos, positivos y negativos por edades puede observarse en las gráficas No. 2- y 3.

Por lo que respecta a la presencia de la bacteria - en la orina, se detectaron 3 casos positivos, no habiéndose - encontrado anticuerpos en ninguno de ellos, lo cual concuerda con el resultado obtenido en el estudio (24).

En el presente trabajo durante la investigación serológica no se habían detectado L. gryppothyphos y L. ictero-haemorrhagiae hasta que se identificaron las cepas aisladas en la orina, lo cual indica que no hay que descartar la posibilidad de que tengan una mayor incidencia, existiendo así relación con lo que se menciona en la literatura incluida (3,5,10, 19,20,21,22,30,31).

C O N C L U S I O N E S

- 1.- De las cien muestras de suero sanguíneo canino analizadas, resultaron positivas 34%, de las cuales 25% correspondieron a machos y 9% a hembras, siendo en total 43-pruebas serológicas positivas.
- 2.- El serotipo de mayor incidencia observado fué el de la L. pomona.
- 3.- Se encontraron nuevos serotipos de los que no se tenía referencia en la literatura consultada: L. wolffi, L. hardjo y L. zanoni.
- 4.- Se vió que es posible que en un mismo animal se lleguen a presentar diferentes serotipos de leptospira, como ocurrió en un canino macho en que se llegaron a detectar anticuerpos a los siguientes serotipos: L. pomona, L. shermani, L. wolffi, L. hardjo y L. pyrrogenes.
- 5.- En campo obscuro se detectaron leptospiras a partir de orina en tres animales: serotipificando L. pomona, L. grippotyphosa y L. icterohaemorrhagiae, que no habían sido detectadas en las pruebas serológicas, por lo que es necesario llevar a cabo en forma paralela los exámenes tanto de sangre, orina y suero.
- 6.- Como la leptospirosis es una zoonosis se recomienda implantar el uso de medidas preventivas para evitar posibles contagios.

LITERATURA CITADA

- 1.- Arroyo, S., V.M.: Identificación de Leptospira en perros de la Ciudad de México método serológico y biológico. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional-Autónoma de México. México, D.F., 1966.
- 2.- Blood, D.,C. and Henderson, J.,A.: Medicina Veterinaria. 4a. ed. Editorial Interamericana, S.A. de C.V., - México, D.F., 1976.
3. Bloom, F.: Canine Leptospirosis, Symposium on the Leptospirosis Medical Science, Washington, U.S.A., 1952, - 118-123, United States Government Printing Office, - - Washington, 1953.
- 4.- Burrows, W.: Tratado de Microbiología. 20 ed. Editorial Interamericana, S.A. de C.V., México, D.F., 1974.
5. Catcott, E., J.: Canine Medicine, 4th. ed. Vol. 1, -- American Veterinary Publications Inc. Santa Bárbara, - California, U.S.A., 1979.
6. Cole, R.,J.: Spirochetes, Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. Edited by: Carter, G., R., 35-47, 3th. ed. Charles C. Thomas Publisher. Springfield Illinois, U.S.A., 1979.
7. Centro Panamericano de Zoonosis. Oficina Sanitaria Panamericana.: Manual sobre Métodos de Laboratorio para Diagnóstico de Leptospirosis, Nota Técnica # 9, Buenos Aires, Argentina, 1968.

- 8.- Davis, D., B.: Microbiology, 2nd. ed. Harper and Row Publishers Inc. U.S.A., 1973.
9. Etti~~n~~ger, S.,J.: Text Book of Veterinary Internal Medicine Disease of the dog and the cat. W.B. Sanders Company. U.S.A., 1975.
10. Everitt, B.,S.: The Analysis of Contingency Tables. - - Edited by Chapman and hall Lts., 2nd. ed. Great Britain, 1979.
- 11.- Félix, R.,R.: Contribución al Conocimiento de la Incidencia de Leptospirosis (Leptospira canícola, Leptospira icterohaemorrhagiae, en perros del D.F.) Tesis de Licenciatura, Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México, - D.F., 1963.
- 12.- Flores, C.,R. y Hand, P.,J., M.: Enfermedades Diagnosticadas en el Departamento de Patología de la Facultad - de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. Durante el año de 1975. Rev. Vet. Méx., Vol. 7: No. 2: - 45-51 (1977).
- 13.- Flores, C.,A., Uruchurtu, M.,A., Skewes, R.,H. y Ordoñez, M., L.: Un Estudio de 50 Necropsias en Perros Callejeros. Rev. Vet. Méx., Vol. 8: No. 4 : 131-139 (1977).
- 14.- Jawetz, E. and Melnick. E.: Manual de Microbiología Médica. 20ava. ed. El Manual Moderno, México, D.F., 1977.
- 15.- Kingscote, B. and Tittiger, F.: Serological Survey of the dogs from Toronto from Leptospiral antibodies. Can Vet. J., 17:7, 191-193 (1976).

16. Michna, S.,W. and Ellis, W.: Incidence of antibodies for Leptospirosis in Glasgow, and Comparison of the Conventional (Schuffner's) and Rapid Microscopical - Agglutination (RMAT) Test, Vet. Rec., 93: No. 24: 633-634 (1973).
17. Monlux, W.: The Pathology of Canine Leptospirosis. - Cornell Vet. 38: 199-208 (1948).
- 18.- Moreira, C.,E., Doria, J.,D. and Martins, M.,A.: - - Immunological Inquiry for The Epidemiology of Leptospirosis in Canis familiaris in Salvador, Bahia, Brazil. Int. J. Zoon., 4: 103-110 (1977).
19. Runells, A.,R. y Monlux, S., W.: Principios de Patología Veterinaria, Anatomía Patológica, 9a. ed. Compañía Editorial Continental, S.A., México, D.F. 1980.
- 20.- Ryu, E. and Suh. I.,S.: The Leptospiral Agglutininig of Korean Dogs and Wild Rates by Employing Filter -- Paper and Rapid Microscopic Agglutinatiun Test. Int. J. Zoon. 1: 25-31 (1974).
- 21.- Ryu, E., Saegusa, S., Hasegawa, A. and Ishiki, H.: - An Investigation of Canine Leptospiral Antibodies in in Tokyo and Yokohama. Int. J. Zoon. 1: 82-90 (1974).
- 22.- Ryu, E.: International Investigation on the Distribu tion of Leptospira icterohaemorrhagiae and Leptospira canicola Agglutining in dogs. Int. Lab.Zoon. 2: 804-805 (1975).

- 23.- Ryu, E.: An International, Survery of Leptospiral Agglutining of dogs by RMAT., Int. J. Zoon. 3: 33-66 - (1976)
24. Sánchez, G.,J.: Identificación de Anticuerpos contra Leptospira canícola por el medio de Aglutinación en tubo capilar en perro. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Tamaulipas, México, 1972.
- 25.- Sánchez, S.M.: Leptospirosis en perros provenientes de perreras municipales. Ila. Convención y Exposición Nacional de Salud Animal. X Reunión Anual de Sanidad Animal. México,D.F., 1981.
- 26.- San Martín, H.; Salud y Enfermedad, 4a. ed. La Prensa Médica Mexicana. México, D.F. 1979.
- 27.- Topacio, M., T., Gavino, G.,L., Famatiga, E. and Suva, M.: Leptospirosis in Animals and man in Philipinas. - Int. J. Zoon. 1: 32-42 (1974).
- 28.- Uruchurtu, A. y Ponce, J.: Enfermedades Diagnosticadas por el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. durante el año de 1970. Rev. Vet. Méx., 4, 2: (1973)
- 29.- Uruchurtu, A. y Flores, R.: Enfermedades Diagnosticadas por el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. durante el año de 1973. Rev. Vet. Méx. 6, 4: (1975).

- 30.- Uruchurtu, A. y Flores, R.: Enfermedades Diagnosticadas por el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. durante el año de 1974. Rev. Vet. Méx. 7, 3: (1976)
- 31.- Varela G. Vázquez A. y Mancera L.: Investigación de Aglutininas para Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona y Leptospira canícola en sueros humanos y de animales de diversos estados de la República Mexicana. Rev. del Inst. de Sal. y Enf. Tropic. 27, 1: (1958)
- 32.- Varela, G. y Velasco.: Investigación serológica en la República Mexicana de Leptospiroris en animales. Rev.- Invest. Salud. Pública Méx. , 29, 1: (1969).