

87  
2 y.



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"CUAUTITLAN"

"ESTUDIO SEROLOGICO PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRAS EN GANADO BOVINO LECHERO EN LOS MUNICIPIOS DE COACALCO, CUAUTITLAN DE R. R., MELCHOR OCAMPO, TELOYUCAN Y ZUMPANGO, EDO. DE MEXICO"

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A N :

ARMANDO MANUEL TORRES VILLEGAS  
ENRIQUE MENDEZ GUZMAN

Director: Miguel Angel Pérez Ortega

Asesor: Angel Caballero Servín



Cuautitlán Izcalli, México

1989

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

<b>RESUMEN . . . . .</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCION . . . . .</b>	<b>2</b>
<b>OBJETIVOS . . . . .</b>	<b>13</b>
<b>MATERIAL Y METODO . . . . .</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS . . . . .</b>	<b>24</b>
<b>DISCUSION . . . . .</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSIONES . . . . .</b>	<b>49</b>
<b>BIBLIOGRAFIA CITADA . . . . .</b>	<b>50</b>

## R E S U M E N

El presente trabajo se realizó para determinar la presencia de Anticuerpos en muestras de suero bovino en contra de *Leptospiras*, por medio de la prueba Serológica de Microaglutinación, en explotaciones ganaderas localizadas en los Municipios de Coacalco, Cuautitlán de R.R., Melchor Ocampo, Teoloyucan y Zumpango, Estado de México.

Se analizaron 487 sueros en contra de 10 serovariedades - de *L. interrogans*, encontrándose un 35.11% de sueros positivos a una o más serovariedades en diluciones de 1:100 ó más. Los resultados por orden de frecuencia de cada una de las serovariedades utilizadas fueron: *L. hardjo* 15.81%, *L. icterohaemorrhagiae* 13.34%, *L. sejroe* 12.11%, *L. ballum* 10.26%, -- *L. pomona* 8.41%, *L. canicola* 6.98%, *L. grippotyphosa* 5.54%, *L. tarassovi* 3.90%, *L. autumnalis* 0.41% y *L. wolffi* 0.20%.

## I N T R O D U C C I O N

La Leptospirosis, probablemente la enfermedad zoonótica más difundida en todo el mundo, es de gran importancia tanto en el hombre como en los animales por sus características epidemiológicas que hacen que su control y erradicación sean sumamente difíciles, además de que provoca grandes pérdidas económicas en las explotaciones pecuarias en donde esta enfermedad se hace enzoótica.

## ETIOLOGIA

El Género *Leptospira* se clasifica dentro de la Familia Treponemataceae y el Orden Spirochaetales, comprende 2 especies:

- *L. biflexa*, que es saprófita y se encuentra por lo común en el agua y el suelo.
  
- *L. interrogans*, que es patógena para el hombre y los animales. (2,29).

*L. interrogans*, especie interesante como agente zoonótico, -- contiene 200 variantes serológicas denominadas serovariedades que constituyen el taxón básico. A su vez, las serovariedades están agrupadas por conveniencia en 22 serogrupos (que no es un taxón conocido), sobre la base de los componentes aglutinogénicos predominantes que contienen. (16, 31)

Las leptospiras son espiroquetas que presentan enrollamientos muy estrechos, miden de 6 a 20 micras de longitud y tienen un diámetro de 0.1 micras. Poseen gran movilidad en forma rotatoria y es característico su gancho en uno o en ambos extremos, entre estos ganchos se encuentra el axostilo, considerado como el órgano motor. Son aerobios obligados, y cuando se les cultiva en un medio adecuado, a 30°C, se reproducen en un lapso de 7 a 12 horas. (31,48)

Fuera del hospedador, las Leptospiras se desarrollan bien en terrenos húmedos con un pH de 7 a 7.5 y a temperaturas cercanas a los 25°C, así como en receptáculos naturales o artificiales de agua dulce. Es por esto que la temperatura y humedad reinantes en las zonas tropicales son factores favorables para las Leptospiras, pero no excluye que casos de Leptospirosis se presenten en climas fríos, aunque con menos frecuencia. (8,16,29)

#### TRANSMISION

La fuente de infección más común de la Leptospirosis, es la orina de animales con Leptospiruria, que contaminan agua, suelo y alimentos; la infección se produce a través de las mucosas bucal, nasal y conjuntival y de abrasiones en la piel. (2,16,29,42)

En los bovinos, la transmisión venérea y por inseminación artificial no están comprobadas, pero son probables dado que se han podido aislar Leptospiras de los órganos genitales -- tanto de machos como de hembras, y en semen congelado las Leptospiras se mantienen viables hasta por 3 años. (14,15,29)

En las explotaciones ganaderas, la infección suele ser introducida por animales portadores con leptospirosis y, a veces, por anegamiento del campo con agua contaminada de una explotación vecina.

#### PATOGENIA

Una vez que las Leptospiras han entrado al huésped invaden el torrente sanguíneo, en donde empiezan a multiplicarse dando origen a una fase leptospirémica que dura de 7 a 10 días, en la cual la temperatura suele elevarse 1 ó 2°C, por encima de lo normal; el crecimiento continúa hasta que altas concentraciones de Leptospiras lleguen a establecerse en los tejidos viscerales, especialmente en sangre, riñón, pulmón, cerebro y glándulas adrenales. Dentro de este período las Leptospiras son opsonizadas, fagocitadas y eliminadas por el sistema retículo-endotelial; y después de 10 días es posible detectar anticuerpos aglutinantes IgM en suero. (27,41)

Posteriormente las leptospiras se establecen en los túbulo-  
renales, y como consecuencia, se presenta una leptospiruria  
de duración variable según la especie animal afectada (en bo-  
vinos hasta 542 días). (12,42,44)

Los mecanismos básicos de los cambios patológicos ocurridos,  
están relacionados en parte, con los daños a nivel de capila-  
res, debido a sustancias parecidas a las endotoxinas de las  
bacterias Gram negativas. Al respecto, algunos investigado-  
res han detectado la producción de fibrolisina y hemolisina,  
asociadas con hemoglobinuria en los rumiantes. (1,38,42)

#### SIGNOS CLINICOS

La leptospirosis puede desarrollar un curso rápido, desarro-  
llarse gradualmente o permanecer clínicamente inaparente, de-  
pendiendo de las serovariedades infectantes, la edad y esta-  
do general del hospedador.

Generalmente en los casos agudos o subagudos se presenta fie-  
bre durante 4 ó 5 días, con depresión, anorexia, debilidad -  
general, conjuntivitis, anemia y diarrea. En los casos más  
severos hay hemoglobinuria causada por una anemia hemolítica  
en la que la orina se torna de color rojo oscuro y algunas -  
veces negra. La muerte ocurre varios días después a causa -  
de una degeneración renal severa y hepatitis necrótica. - -  
(9,44)

En los cuadros crónicos la Leptospirosis está asociada a problemas de aborto, partos prematuros e infertilidad. Los -- abortos y partos prematuros se presentan de 2 a 4 semanas -- después de la infección, cuando los animales están en el último tercio de la gestación; en los fetos abortados se han -- encontrado títulos de anticuerpos por la prueba de Microaglu -- tinación. (11,18,20,30,36)

También provoca mastitis atípicas, en las que la ubre se -- vuelve flácida y la leche es espesa con grumos amarillos o -- rojizos de los cuatro cuartos, seguida de agalactia que per -- siste de pocos días a 2 semanas y, casi siempre, las vacas -- retornan a sus niveles normales de producción 2 ó 3 semanas -- después. (10,20,44)

#### LESIONES

Al efectuarse el examen post-mortem, el hígado aparece de -- gran tamaño, friable y con coloración anormal. Además es -- frecuente observar edema pulmonar y riñones con numerosos fo -- cos puntiformes de color blanco. (38)

Desde el punto de vista histológico, el hígado muestra ind -- cios de edema y necrosis focal. A nivel renal, la lesión -- clásica es una nefritis intersticial difusa. (9,44)

## DIAGNOSTICO

Dado que las manifestaciones clínicas de la Leptospirosis son tan variadas, la presencia de la infección no puede ser detectada ni demostrada con seguridad exclusivamente sobre la base de síntomas o signos clínicos. Por esta razón, es una de las pocas enfermedades cuyo diagnóstico sólo se puede establecer con certeza en el laboratorio, mediante la comprobación del agente etiológico o por procedimientos serológicos. El diagnóstico confirmativo de la Leptospirosis en el laboratorio, se puede realizar mediante las siguientes pruebas:

- 1.- La observación directa del microorganismo en microscopio de campo oscuro, ya sea en muestra de orina o en cortes histológicos de tejidos viscerales.
- 2.- Cultivos bacteriológicos a partir de sangre, orina, líquido cefalo-raquídeo o tejidos viscerales.
- 3.- Inoculación a animales de laboratorio con muestras sospechosas.
- 4.- Pruebas serológicas, empleadas para detectar anticuerpos en el suero, en las que es necesario tomar 2 muestras de suero con un intervalo de 15 días entre éstas y que los títulos de anticuerpos aumenten durante este periodo.

Si bien existen varios métodos para el diagnóstico de la Leptospirosis, la prueba serológica de Microaglutinación es el procedimiento de referencia. Esta técnica se emplea para detectar anticuerpos en el suero, identificar los aislamientos de Leptospiras y clasificar cepas, además de servir como base para evaluar cualquier otro método serológico para el diagnóstico de la enfermedad. (16,31,48)

#### TRATAMIENTO

En lo referente al tratamiento, se considera a la dihidroestreptomomicina como el antibiótico más eficaz en contra de la Leptospirosis, a razón de 25 mg/kg vía intramuscular, dosis única. (2,13,16,18,39,41)

#### CONTROL:

El control de la Leptospirosis, generalmente está basado en la vacunación al ganado antes de que llegue a la edad reproductiva, con bacterina antileptospiral; la vacunación consta de 2 aplicaciones con un mes de intervalo entre éstas, revacunando anualmente. En los animales seropositivos es recomendable aplicar tratamiento con dihidroestreptomomicina y después vacunar.

Es importante aclarar que no existe inmunidad cruzada entre las diferentes serovariedades, por lo que las que estén contenidas en la bacterina utilizada deben ser las mismas que se encuentren en el hato. (2,16,18,24,34,40,41)

### LEPTOSPIROSIS EN EL HUMANO

En el hombre, la ocurrencia de esta enfermedad varía en diferentes partes del mundo, siendo las zonas tropicales áreas endémicas. En general los brotes se producen por exposición a aguas contaminadas con orina de animales infectados. La infección al igual que en los animales, es a través de las mucosas bucal, nasal y conjuntival y de abrasiones en la piel. Varios grupos ocupacionales están especialmente expuestos, tales como: trabajadores de arrozales, cañaverales, minas, alcantarillados, mataderos, cuidadores de animales y Médicos Veterinarios. (25,27)

Las manifestaciones clínicas son variables y con diferentes grados de severidad. Además, numerosos casos de infección transcurren de forma inaparente, subclínica. En general se distinguen 2 tipos clínicos: el icterico y el anictérico. El tipo icterico o hepatonefritico grave (enfermedad de Weil), es mucho menos frecuente que el tipo anictérico. En la forma clásica de la enfermedad de Weil, los síntomas se instalan bruscamente con fiebre, dolor de cabeza, mialgias, conjuntivitis, náusea, vómito, diarrea y constipación.

La postración puede ser marcada. Son comunes las petequias - en la piel, las hemorragias en el aparato gastrointestinal y la proteinuria. Cuando la fiebre declina, se encuentra hepatomegalia e ictericia, insuficiencia renal con marcada oliguria o anuria, azotemia y desequilibrio electrolítico.

El fallecimiento suele presentarse durante la segunda o tercera semana de la enfermedad por insuficiencia renal aguda. - Si el paciente evolucina hacia la curación, la convalecencia dura 1 ó 2 meses.

En los casos anictéricos, la sintomatología es más leve. Durante la leptospiremia (primera semana de la enfermedad) se observa fiebre, mialgias, conjuntivitis, rigidez de la nuca, náusea y, a veces vómito. Frecuentemente la enfermedad se asemeja a la influenza, salmonelosis, brucelosis o paludismo. La forma anictérica es de curso benigno y los pacientes se recuperan en cerca de un mes. La leptospiruria puede continuar por una semana o varios meses después de la desaparición de los síntomas clínicos. (2,16,26,32,42)

Cuando se sospecha que una persona padece Leptospirosis, las pruebas de rutina que se llevan a cabo en el laboratorio son:

- 1.- La observación en el microscopio de campo oscuro, - de una muestra de orina del paciente, con el objeto de encontrar Leptospiras en ésta.

2.- La prueba serológica de Microaglutinación, para tratar de detectar anticuerpos contra Leptospiras.

Si se confirma el diagnóstico, el tratamiento está basado en administración de antibióticos y tratamiento sintomático. (16)

#### ANTECEDENTES DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA EN MEXICO

En México se han llevado a cabo diversos trabajos sobre Leptospirosis bovina, para tratar de determinar la incidencia de la enfermedad en el país, así como las serovariedades que afectan con mayor frecuencia al ganado bovino. Se han utilizado una gran variedad de técnicas de diagnóstico, en las que sobresale la prueba serológica de Microaglutinación, que es la prueba de referencia. En la mayoría de estos trabajos se encontró una prevalencia de reactores positivos a Leptospirosis bovina, que va del 10 al 50%, y que concuerda con la prevalencia reportada en los demás países de América Latina. (43)

Las serovariedades identificadas son muchas y varían dependiendo las zonas de la República en donde se hayan llevado a cabo los estudios; las que con mayor frecuencia han sido reportadas son: L. pomona, L. hardjo, L. wolffi, L. sejroe, - - L. hebdomadis y L. ballum. (Tabla No. 1)

Tabla No. 1. Antecedentes de la Leptospirosis bovina en la República Mexicana.

AUTOR	AÑO	ESTADO	No. DE MUESTRAS	% DE POSITIVOS	SEROVARIETADES
Saiz (37)	1962	Edo. Méx.	100	17.00	pomona
Fernández (17)	1963	D.F.	100	12.00	pomona
Larrondo (21)	1963	D.F.	50	42.00	pomona
Dikken (7)	1967	Varios	574	19.80	hardjo, hyos, pomona, wolffi, icterohaemorrhagiae
Lastra (22)	1968	C. Laguna	500	24.80	pomona
Rodríguez (35)	1969	D.F.	160	20.00	wolffi, javanica, medanensis, pomona, hardjo
González (19)	1968-1970	Varios	2243	22.15	wolffi, pomona, sejroe, hardjo, ballum, hebdomadis
Velasco (47)	1976	Veracruz	165	1.20	pomona, grippotyphosa
León (23)	1976	Varios	1452	20.70	wolffi, pomona, sejroe, tarassovi, hebdomadis, ballum, hardjo
Agullar (3)	1976	Veracruz	245	19.18	wolffi, hebdomadis, pomona, tarassovi, hardjo, sejroe, ballum
Bobadilla (6)	1979	Sinaloa	500	27.00	wolffi, tarassovi, pomona, ballum, hebdomadis, bataviae
Alejo (4)	1982	Edo. Méx.	80	55.50	ballum, canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, pomona, hardjo
Banda (5)	1984	Varios	623	35.79	wolffi, hardjo, hebdomadis, canicola, worsfoldi, pomona, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa
Vázquez (46)	1986	Guerrero	312	45.19	hardjo, pomona, australis, canicola, sejroe, autumnalis, icterohaemorrhagiae
Mendoza (28)	1987	Edo. Méx.	100	42.00	pomona, australis, hardjo, sejroe, bataviae

## O B J E T I V O S

- 1.- Determinar la presencia de anticuerpos en contra de *Lep-tospiras* en muestras de suero bovino, en hatos lecheros localizados en los Municipios de Coacalco, Cuautitlán de R.R., Melchor Ocampo, Teoloyucan y Zumpango, Estado de México.
- 2.- Identificar a las serovariedades de L. interrogans predominantes en cada Explotación.

## MATERIAL Y METODO

### TRABAJO DE CAMPO

Se obtuvieron 487 muestras de suero bovino (raza Holstein), - entre los meses de octubre de 1987 y febrero de 1988, en una zona comprendida en los Municipios de Coacalco, Cuautitlán de R.R., Melchor Ocampo, Teoloyucan y Zumpango, Estado de México. (Fig. No. 1)

El clima predominante en los 5 Municipios es: Templado Sub-húmedo C (Wo), (W) b (1), con medias de 105 días de lluvia anual (principalmente en verano), una precipitación pluvial total de 674 mm. y 15.6°C de temperatura. (33)

Del total de muestras, 283 se obtuvieron en 7 diferentes ranchos; las 204 restantes fueron recolectadas en 20 establos de los pueblos de San Francisco Tenopalco, Visitación y el ejido de Villa María, localizados en el Municipio de Melchor Ocampo. (Tabla No. 2)

Las características de los ranchos muestreados son: el número de animales en producción varía de 300 a 1500, utilizan un -- sistema intensivo de producción, el ganado es alimentado a base de alfalfa, silo y concentrado; el agua de bebida es potable, la ordeña es mecánica y cuentan con la asesoría permanente de un Médico Veterinario.

Por otra parte, las características comunes entre los establos son: menos de 15 vacas en cada uno, se utiliza un sistema de producción semi-intensivo, el ganado sale a pastoreo durante el día y es confinado en establos por la tarde, donde se suplementa la alimentación con alfalfa, maíz y/o concentrado; el agua de bebida es de canales de riego durante el pastoreo y potable en el establo, la ordeña es a mano y sus propietarios no cuentan con el asesoramiento de un Médico Veterinario permanentemente.

En los ranchos La Palma, San Pedro y Terremoto, desde hace algunos años, se aplica al ganado la bacterina antileptospi-  
ral de tipo comercial; debido a que en estudios anteriores (realizados en forma particular), se encontraron títulos de anticuerpos en contra de Leptospiras, por lo que relacionaron algunos problemas de tipo reproductivo con esta enfermedad.

Todos los animales seleccionados para el muestreo fueron vacas adultas con más de una gestación, que en su historia clínica presentaron problemas de tipo reproductivo, como aborto en el último tercio de la gestación; vacas repetidoras con más de 3 servicios sin quedar gestantes y algunas otras con ictericia o hemoglobinuria.

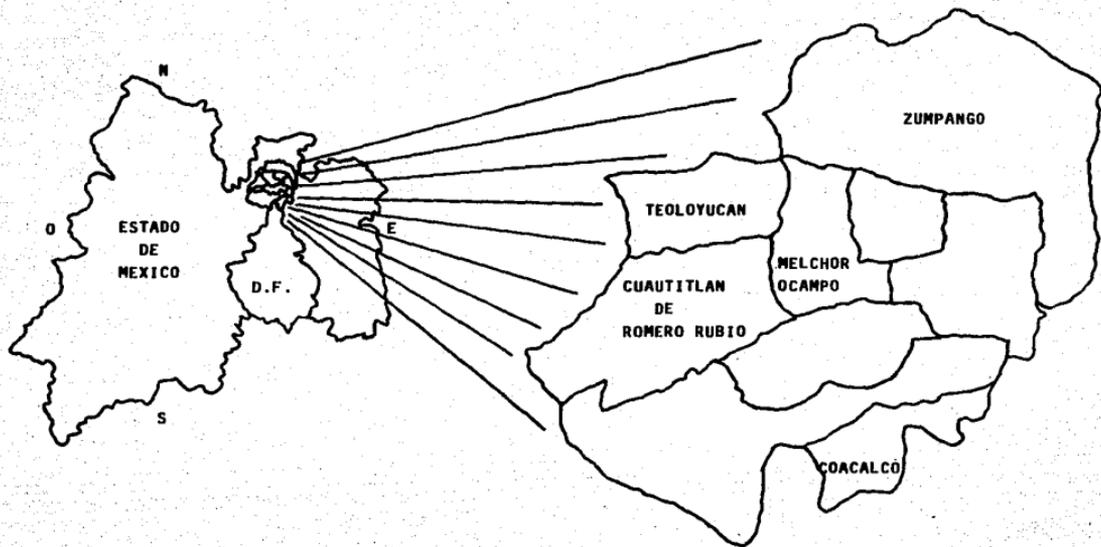


FIGURA No. 1.- Ubicación Geográfica de los Municipios muestreados

Tabla No. 2. Procedencia de las muestras por Explotaciones y Municipios.

EXPLORACION DE PROCEDENCIA	MUNICIPIO	No. DE MUESTRAS	% DE MUESTRAS
Rancho La Palma	Coacalco	71	14.57
Rancho San Pedro	Coacalco	25	5.13
Rancho Terremoto	Cuautitlán de R.R.	31	6.36
Rancho La Virgen	Cuautitlán de R.R.	27	5.54
Granja La Trini	Teoloyucan	35	7.18
Rancho San Francisco	Zumpango	45	9.24
Rancho Los Pirineos	Zumpango	49	10.06
Establos, varios (6)	San Fco. Tenopalco, M.O.	65	13.34
Establos, varios (9)	Villa María, M.O.	95	19.50
Establos, varios (5)	Visitaición, M.O.	44	9.03
<b>TOTAL</b>		<b>487</b>	<b>100.00</b>

#### **OBTENCION DE LOS SUEROS**

1.- Se recolectaron 5 ml. de sangre por vaca, extraída de la vena coccígea media, y depositada en tubos de ensaye - estériles con tapón de hule, previamente identificados con - el nombre de la explotación, número de registro del animal y número progresivo.

2.- Transcurridas 24 hrs. se retiraron los coágulos sanguíneos formados en las muestras, obteniéndose aproximadamente 2 ml. de suero por tubo.

3.- Estos sueros fueron centrifugados a 2500 RPM durante 5 minutos.

4.- Posteriormente, los sueros se decantaron a otros tubos de ensaye estériles, también identificados y se congelaron hasta su uso.

## TRABAJO DE LABORATORIO

Las pruebas de Microaglutinación se realizaron en el Laboratorio de Leptospirosis del Departamento de Bacteriología del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales.

### SEROVARIEDADES UTILIZADAS

Para realizar la presente investigación se utilizaron 10 serovariedades de Leptospira interrogans, cultivadas en medio líquido de Korthof.

SEROVARIEDADES	CEPAS
1.- <u>L. autumnalis</u>	Akiyami A
2.- <u>L. ballum</u>	S 102
3.- <u>L. canicola</u>	Hond Utrecht IV
4.- <u>L. grippotyphosa</u>	Andam CH31
5.- <u>L. hardjo</u>	Hardjoprajitno
6.- <u>L. icterohaemorrhagiae</u>	RGA
7.- <u>L. pomona</u>	Pomona
8.- <u>L. sejroe</u>	Mus 24
9.- <u>L. tarassovi</u>	Perepelicín
10.- <u>L. wolffi</u>	3705

Las cepas L. hardjo Hardjoprajitno, L. icterohaemorrhagiae - RGA y L. pomona Pomona fueron aportadas por el Laboratorio de Leptospirosis de la Sección de Epizootiología del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (I.N.I.P.). Las restantes, fueron aportadas por el Laboratorio de Leptospirosis del Departamento de Bacteriología del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales (I.S.E.T.).

**ELABORACION DE MEDIO LIQUIDO DE CULTIVO KORTHOFF**

- 1.- Mezclar en un lt. de agua destilada 0.8 gr. de peptona - carne, 1.4 gr. de NaCl, 0.02 gr. de NaHCO<sub>3</sub>, 0.04 gr. de KCl, 0.04 gr. de CaCl<sub>2</sub>, 0.24 gr. de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 0.88 gr. de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.
- 2.- Calentar la solución obtenida a 100°C durante 20 minutos.
- 3.- Enfriar y mantener en refrigeración a 4°C.
- 4.- Filtrar la solución en papel Whatman No. 1.
- 5.- Esterilizar en autoclave a 121°C durante 20 minutos y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- 6.- Agregar a esta solución suero estéril de conejo, previamente inactivado en baño María a 56°C durante 30 minutos, en proporción del 8 al 10%.
- 7.- Verificar que el pH del medio terminado sea de 7.2 a 7.6.

**SIEMBRA DE CEPAS**

- 1.- El medio de cultivo nuevo se envasa en tubos de ensaye - estériles con tapón de rosca, 8 ml. por tubo.
- 2.- A cada uno de los tubos se agrega 1.5 ml. del cultivo de *Leptospiras* seleccionado.
- 3.- Se incuban en estufa bacteriológica, a 32°C durante 6 -- días.
- 4.- Se verifica que los nuevos cultivos posean las caracterís ticas necesarias para poder ser utilizados en la prueba - de Microaglutinación.

## TECNICA DE MICROAGLUTINACION (MA)

En este trabajo se desarrolló el método descrito por Miers - (31), con la única diferencia de que para la incubación se utilizaron Micro-placas de 96 pozos de fondo plano, en lugar de porta-objetos.

Para que los antígenos puedan ser utilizados en la prueba de Microaglutinación, deben ser cultivos vivos en medio líquido, tener de 4 a 14 días de crecimiento, sin contaminación ni autoaglutinación y contener aproximadamente de 100 a 200 microorganismos por campo.

- 1.- Descongelar los sueros a temperatura ambiente e inactivar los en baño María, a 56°C, durante 30 minutos.
- 2.- Mezclar en un tubo de ensaye 0.1 ml. de suero con 0.24 ml. de Solución Salina Fisiológica (SSF), para obtener una dilución de 1:25.
- 3.- Poner en los pozos de las micro-placas 0.1 ml. de esta dilución.
- 4.- Agregar 0.1 ml. de antígeno, con lo que se obtiene una dilución de 1:50.
- 5.- Incluir para cada uno de los antígenos de prueba, un pozo control que contenga 0.1 ml. de SSF y 0.1 ml. del antígeno.

- 6.- Incubar durante 60 minutos.
- 7.- Extraer con asa de platino, una gota de la dilución y colocarla sobre un porta-objetos.
- 8.- Leer el porta-objetos en microscopio de campo obscuro, - con el objetivo 40 X.
- 9.- Registrar el grado de aglutinación de cada antígeno, en relación con el antígeno control, según la escala 1+ a - 4+ o negativo:

Negativo = Sin aglutinación e idéntico al antígeno-control.

+ = Aglutinación con 75 % de células libres.  
++ = Aglutinación con 50 % de células libres.  
+++ = Aglutinación con 25 % de células libres.  
++++ = Aglutinación con 0 a 25 % de células libres.

- 10.- Seleccionar todos los sueros positivos a ++ o más.
- 11.- Hacer diluciones dobles de la dilución original 1:25 y - titular.

El título final de anticuerpos en la reacción de MA, es considerado en la máxima dilución del suero, positiva a ++.

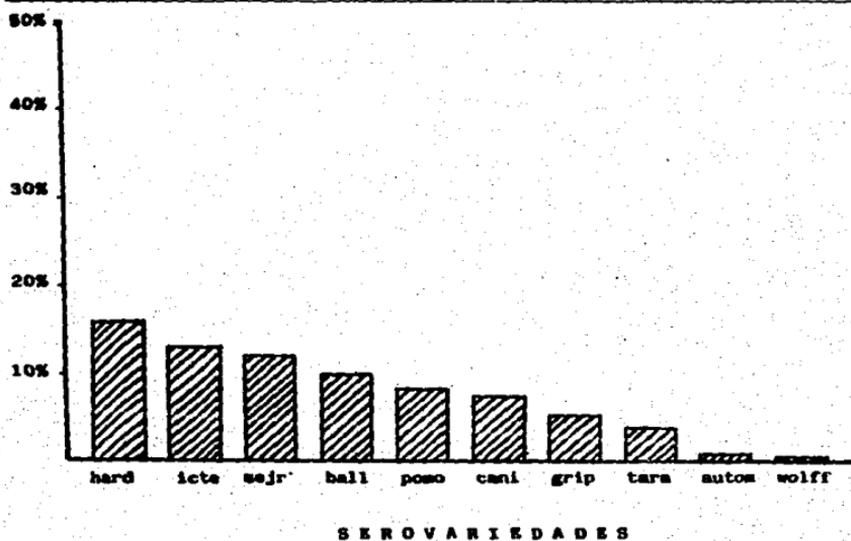
## R E S U L T A D O S

La muestra total correspondió a 487 sueros, de los cuales 171 reaccionaron positivamente a la prueba de MA, a una dilución de 1:100 ó más, y a una o más serovariedades, que fueron en orden de frecuencia: L. hardjo, L. icterohaemorrhagiae, - - - L. sejroe, L. ballum, L. pomona, L. canicola, L. grippotyphosa, L. tarassovi, L. autumnalis y L. wolffi.  
(Tabla No. 3, Gráfica No. 1)

Tabla No. 3. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos de los Municipios de Coacalco, Cuautitlán de R.R., Melchor Ocampo, Teoloyucan y Zumpango, del Estado de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	%	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
hardjo	487	77	15.81	18	22	23	10	3	1
ictero	487	65	13.34	42	10	9	4	-	-
sejroe	487	59	12.11	32	15	9	3	-	-
ballum	487	50	10.26	30	12	5	3	-	-
pomona	487	41	8.41	24	17	6	1	-	-
canicola	487	34	6.98	22	10	7	-	-	-
grippotyphosa	487	27	5.54	14	5	3	1	4	-
tarassovi	487	19	3.90	11	6	2	-	-	-
autumnalis	487	2	0.41	2	-	-	-	-	-
wolffi	487	1	0.20	1	-	-	-	-	-
TOTAL	487	171	35.11						

Gráfica No. 1. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de WA, en 487 sueros de bovino de los Municipios de Coacalco, -- Cuautitlán de R.R., Melchor Ocampo, Teoloyucan y Zumpango, Estado de México.



Del Rancho La Palma, Municipio de Coacalco, Estado de México, se obtuvieron 71 sueros de bovinos, de éstos, 46 fueron positivos a una dilución de 1:100 ó superior, a una o más serovariedades trabajadas y que fueron en orden de frecuencia:

L. hardjo, L. sejroe, L. ballum, L. grippotyphosa, L. pomona, L. canicola, L. icterohaemorrhagiae, y L. autumnalis.

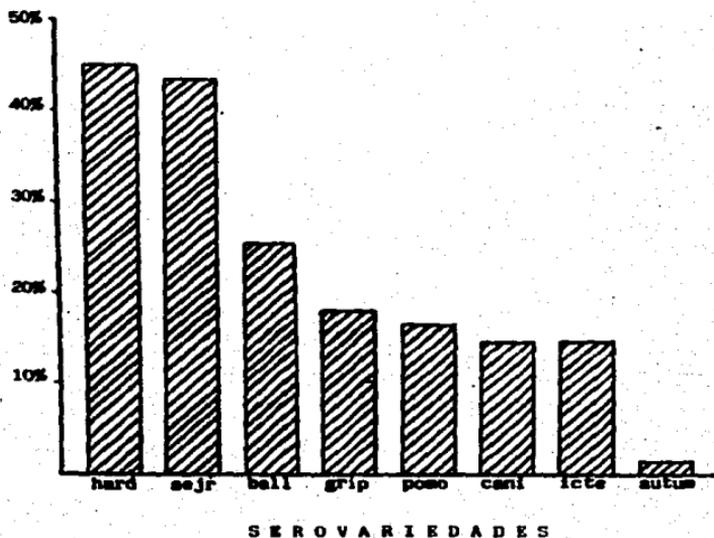
(Tabla No. 4, Gráfica No. 2)

Tabla No. 4. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de NA, en sueros de bovinos del - - Rancho La Palma, Coacalco, Edo. de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	TÍTULOS DE ANTICUERPOS						
			1	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
hardjo +	71	32	45.07	9	10	8	5	-	-
sejroe	71	31	43.66	21	5	5	1	-	-
ballum	71	18	25.35	10	4	3	1	-	-
grippotyphosa +	71	13	18.30	6	3	2	1	1	-
pomona +	71	12	16.90	10	1	1	-	-	-
canicola +	71	10	14.08	4	2	-	-	-	-
ictero +	71	10	14.08	6	1	2	1	-	-
autumnalis	71	1	1.4	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>71</b>	<b>46</b>	<b>64.78</b>						

+ Serovariedades contenidas en la bacteria.

Gráfica No. 2. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de MA, en 71 sueros de bovino del Rancho La Palma, Coacalco, Estado de México.



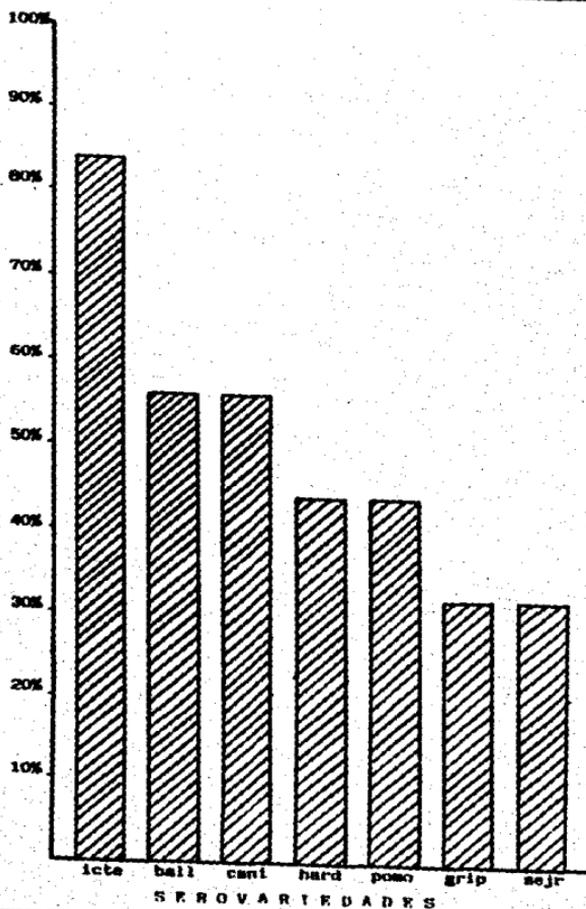
En el Rancho San Pedro, Municipio de Coacalco, Estado de México, de 25 sueros analizados, 22 reaccionaron positivamente a la prueba de MA, a una dilución de 1:100 ó más, a una o más serovariedades, que por orden de frecuencia fueron: - - - -  
L. icterohaemorrhagiae, L. ballum, L. canicola, L. hardjo,  
L. pomona, L. grippityphosa y L. sejroe.  
 (Tabla No. 5, Gráfica No. 3)

Tabla No. 5. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos del Rancho San Pedro, Coacalco, Edo. de México.

SEROVARIIDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	%	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
ictero +	25	21	84.00	9	4	6	2	-	-
ballum	25	14	56.00	6	4	2	2	-	-
canicola +	25	14	56.00	5	4	5	-	-	-
hardjo +	25	11	44.00	3	4	1	3	-	-
ponona +	25	11	44.00	4	5	2	-	-	-
grippityphosa +	25	8	32.00	7	1	-	-	-	-
sejroe	25	8	32.00	4	2	-	2	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>25</b>	<b>22</b>	<b>88.00</b>						

+ Serovariedades contenidas en la bacterina.

Gráfica No. 3. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de MA, en 25 sueros de bovino del Rancho San Pedro, Coacalco, -- Estado de México.



Se analizaron 31 sueros de bovino del Rancho Terremoto, - - - Municipio de Cuautitlán de R.R., Estado de México, 10 reaccionaron a una dilución de 1:100 ó más, a una o más serovariedades que fueron: L. icterohaemorrhagiae, L. pomona, L. hardjo, L. grippotyphosa y L. sejroe.

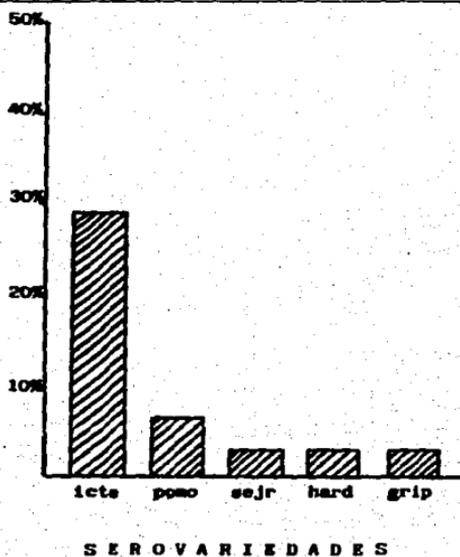
(Tabla No. 6, Gráfica No. 4)

Tabla No. 6. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de NA, en sueros de bovinos del - - Rancho Terremoto, Cuautitlán de R.R., Edo. de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	%	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
ictero +	31	9	29.03	8	1	-	-	-	-
pomona +	31	2	6.45	1	-	1	-	-	-
hardjo +	31	1	3.22	1	-	-	-	-	-
grippotyphosa +	31	1	3.22	1	-	-	-	-	-
sejroe	31	1	3.22	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>31</b>	<b>10</b>	<b>32.25</b>						

+ Serovariedades contenidas en la bacterina.

Gráfica No. 4. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de MA, en 31 sueros de bovino del Rancho Terremoto, Cuautitlán de R.R., Estado de México.

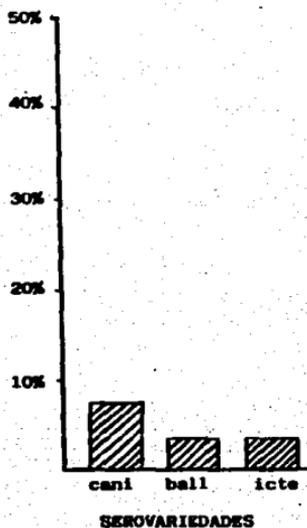


En el Rancho La Virgen, Municipio de Cuautitlán de R.R., Estado de México, de 27 sueros de bovinos, solo 2 reaccionaron positivamente a la prueba de MA. Cada suero reaccionó a dos serovariedades distintas, uno a L. canicola y L. ballum y el otro a L. icterohaemorrhagiae, y L. canicola.  
(Tabla No. 7, Gráfica No. 5)

Tabla No. 7, Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos del - - Rancho La Virgen, Cuautitlán de R.R., Edo. de México.

SEROVARIIDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	Σ	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
canicola	27	2	7.40	1	1	-	-	-	-
ictero	27	1	3.70	1	-	-	-	-	-
ballum	27	1	3.70	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>2</b>	<b>7.40</b>						

Gráfica No. 5. Porcentaje por serovariedades determinadas mediante la prueba de MA, en 27 sueros de bovino del Rancho La Virgen, Cuautitlán de R.R., Estado de México.

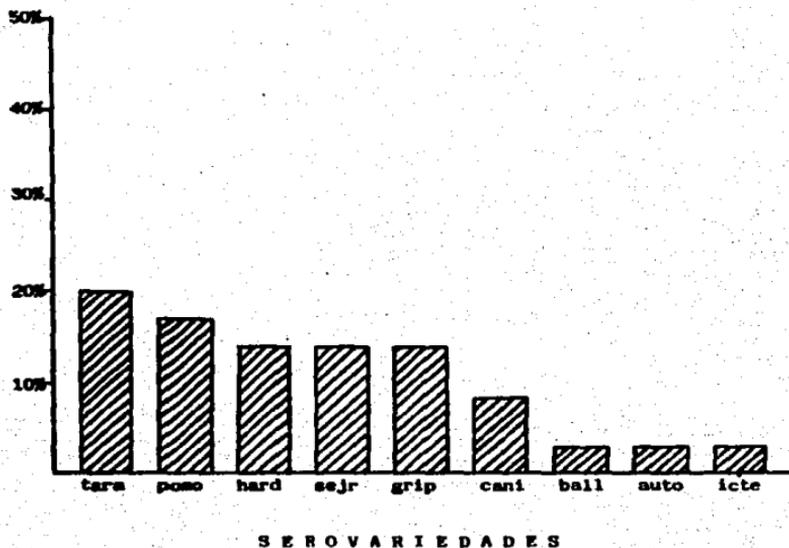


Se analizaron 35 sueros de bovino de la Granja La Trini, - - Municipio de Teoloyucan, Estado de México, 17 fueron positivos a la prueba de MA, a una dilución de 1:100 ó más, a una o más serovariedades, se encontraron 9 de las 10 serovariedades trabajadas, que en orden de frecuencia fueron: L. tarassovi, - - - L. pomona, L. hardjo, L. sejroe, L. grippotyphosa, L. canicola, L. ballum, L. icterohaemorrhagiae, y L. autumnalis.  
(Tabla No. 8, Gráfica No. 6)

Tabla No. 8. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos de la Granja La Trini, Teoloyucan, Edo. de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	TÍTULOS DE ANTICUERPOS						
			%	1:100	1:200	1:400	1:600	1:1600	1:3200
tarassovi	35	7	20.00	5	-	2	-	-	-
ponona	35	6	17.14	3	-	2	-	1	-
hardjo	35	5	14.28	-	-	1	-	3	1
grippotyphosa	35	5	14.28	-	1	1	-	3	-
sejroe	35	5	14.28	3	-	2	-	-	-
canicola	35	3	8.57	3	-	-	-	-	-
ballum	35	1	2.85	1	-	-	-	-	-
ictero	35	1	2.85	1	-	-	-	-	-
autumnalis	35	1	2.85	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>17</b>	<b>48.57</b>						

Gráfica No. 6. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de NA, en 35 sueros de bovino de la Granja La Trini, Teoloyucan, Estado de México.



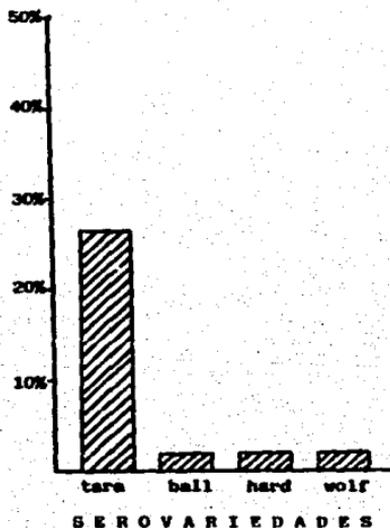
En el Rancho San Francisco, Municipio de Zumpango, Estado de México, se obtuvieron 45 muestras de suero de bovino, se encontraron 12 que reaccionaron en forma positiva a la prueba de MA, a una dilución de 1:100 ó más, a una o más serovariedades, las identificadas fueron: L. tarassovi, L. ballum, - - L. hardjo, y L. wolffi.

(Tabla No. 9, Gráfica No. 7)

Tabla No. 9. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos del - - Rancho San Francisco, Zumpango, Edo. de México.

SEROVARIIDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	%	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
tarassovi	45	12	26.66	6	6	-	-	-	-
ballum	45	1	2.22	1	-	-	-	-	-
hardjo	45	1	2.22	-	1	-	-	-	-
wolffi	45	1	2.22	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>45</b>	<b>12</b>	<b>26.66</b>						

Gráfica No. 7. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de MA, en 45 sueros de bovino del Rancho San Francisco, Zumpango, Estado de México.

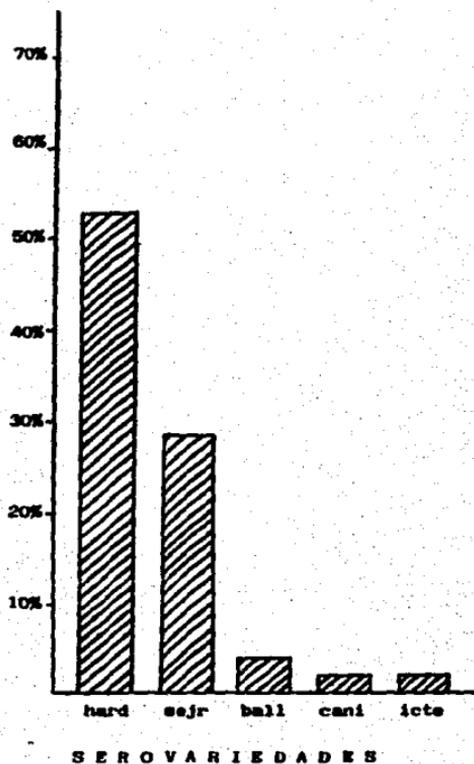


Del Rancho Los Pirineos, Municipio de Zumpango, Estado de México, se obtuvieron 49 sueros de bovinos, de éstos 26 reaccionaron a una dilución de 1:100 ó más, a una o más serovariedades, que fueron por orden de frecuencia: L. hardjo, L. sejroe, L. ballum, L. canicola y L. icterohaemorrhagiae.  
(Tabla No. 10, Gráfica No. 8)

Tabla No. 10. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos del - - Rancho Los Pirineos, Zumpango, Edo. de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	%	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
hardjo	49	26	53.06	4	7	13	2	-	-
sejroe	49	14	28.57	3	8	3	-	-	-
ballum	49	2	4.08	2	-	-	-	-	-
ictero	49	1	2.04	1	-	-	-	-	-
canicola	49	1	2.04	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	49	26	53.06						

Gráfica No. 8. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de WA, en 49 sueros de bovino del Rancho Los Pirineos, Zumpango, Estado de México.



De 65 sueros, provenientes de 6 establos del pueblo de San Francisco Tenopalco, pertenecientes al Municipio de Melchor Ocampo, Estado de México, 8 reaccionaron positivamente a la prueba de MA, a una o más serovariedades, a una dilución de 1:100 ó superiores, que por orden de frecuencia fueron:

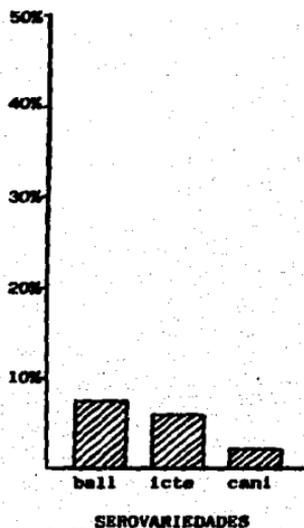
L. ballum, L. icterohaemorrhagiae y L. canicola.

(Tabla No. 11, Gráfica No. 9)

Tabla No. 11. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos de 6 establos del pueblo de San Francisco Tenopalco, Melchor Ocampo, Edo. de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	%	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
ballum	65	5	7.69	2	3	-	-	-	-
ictero	65	4	6.15	4	-	-	-	-	-
canicola	65	1	1.53	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>65</b>	<b>8</b>	<b>12.30</b>						

Gráfica No. 9. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de MA, en 65 sueros de bovino de 6 establos del pueblo de San -- Francisco Tenopalco, Melchor Ocampo, Estado de México.



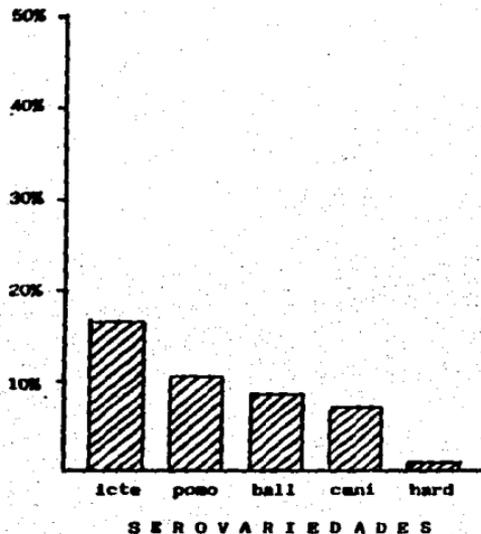
En el Ejido de Villa María, Municipio de Melchor Ocampo, Estado de México, se muestrearon 9 establos de los cuales se obtuvieron 95 sueros de bovino, de éstos, 25 fueron positivos a la prueba de MA, a una dilución de 1:100 ó más, a una o más serovariedades, las encontradas por orden de frecuencia fueron: L. icterohaemorrhagiae, L. pomona, L. ballum, L. canicola, y L. hardjo.

(Tabla No. 12, Gráfica No. 10)

Tabla No. 12. Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra Leptospira, por la prueba de MA, en sueros de bovinos de 9 establos del Ejido de Villa María, Melchor Ocampo, Edo. de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	TÍTULOS DE ANTICUERPOS						
			%	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
ictero	95	16	16.84	10	4	1	1	-	-
pomona	95	10	10.52	6	3	1	-	-	-
ballum	95	8	8.42	7	1	-	-	-	-
canicola	95	7	7.36	6	1	-	-	-	-
hardjo	95	1	1.05	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL:</b>	<b>95</b>	<b>25</b>	<b>26.31</b>						

Gráfica No. 10. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de WA, en 95 sueros de bovino de 9 establos del Ejido de Villa--  
María, Melchor Ocampo, Estado de México.

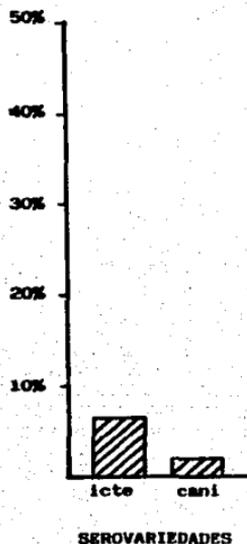


En el pueblo de Visitación, Municipio de Melchor Ocampo, - - Estado de México, se obtuvieron 44 sueros de bovino de 5 establos muestreados, solamente reaccionaron 3 a la prueba de MA. a una dilución de 1:100 ó más, a una o más serovariedades, que fueron: L. icterohaemorrhagiae y L. canicola. (Tabla No. 13, Gráfica No. 11)

Tabla No. 13, Determinación de serovariedades y títulos de Anticuerpos contra *Leptospira*, por la prueba de MA, en sueros de bovinos de 5 establos del pueblo de Visitación, Melchor Ocampo, Edo. de México.

SEROVARIEDADES	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	%	TÍTULOS DE ANTICUERPOS					
				1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
ictero	44	3	6.81	3	-	-	-	-	-
canicola	44	1	2.27	1	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>44</b>	<b>3</b>	<b>6.81</b>						

Gráfica No. 11. Porcentaje por serovariedades, determinadas mediante la prueba de MA, en 44 sueros de bovino de 5 establos del pueblo de Visitación, Melchor Ocampo, Estado de México.



## D I S C U S I O N

La prueba serológica de Microaglutinación utilizada en esta investigación, detecta anticuerpos aglutinantes IgM solo después de la primera semana de la enfermedad, alcanzando títulos máximos alrededor de la tercera o cuarta semana; posteriormente pueden persistir títulos bajos durante meses o años. (31)

En el presente estudio se analizaron 487 sueros de bovino en contra de 10 serovariedades de L. interrogans; se encontró que un 35.11% de estos sueros reaccionaron positivamente en contra de una o más serovariedades a una dilución de 1:100 ó más; porcentaje que entra dentro del rango que va del 10 al 50% de reactores positivos a Leptospirosis bovina, según trabajos realizados dentro de la República Mexicana. (Tabla No. 1)

En los ranchos La Palma, San Pedro y Terremoto, se aplica al ganado la bacterina de tipo comercial que contiene a las serovariedades hardjo, pomona, icterohaemorrhagiae, grippyphosa y canicola, por lo que los anticuerpos presentes en contra de estas serovariedades, fueron considerados de tipo vacunal en las muestras provenientes de los mencionados ranchos; así como las reacciones positivas para L. sejroe, que probablemente son producto de una reacción cruzada con L. hardjo, por pertenecer al mismo serogrupo Sejroe. (2) Además

en las muestras analizadas de los ranchos La Palma y San Pedro, se encontraron anticuerpos en contra de L. ballum, que no tiene relación serológica con ninguna de las serovariedades contenidas en la bacterina, por lo que estos anticuerpos forzosamente son producto de una infección de campo.

En todas las demás explotaciones muestreadas también se encontraron anticuerpos en contra de Leptospiras; en el rancho la Virgen, se encontró el 7.40% de sueros positivos a las serovariedades icterohaemorrhagiae, canicola y ballum; en la granja La Trini el 48.57%, en donde sobresalen las serovariedades tarassovi, pomona, hardjo y grippotyphosa; en el rancho San Francisco el 26.66% a la serovariedad tarassovi principalmente; y en el rancho Los Pirineos se encontró el 53.06%, en donde la serovariedad más importante fue hardjo. En los establos del pueblo de San Francisco Tenopalco se encontró el 12.30% de sueros positivos, identificándose a las serovariedades ballum, icterohaemorrhagiae y canicola; en los establos del Ejido de Villa María el 26.31%, a las serovariedades icterohaemorrhagiae, pomona, ballum, canicola y hardjo; y en los establos del pueblo de Visitación se encontró el 6.81% de sueros positivos a las serovariedades icterohaemorrhagiae y canicola.

En los resultados obtenidos es importante señalar que son varias las serovariedades de Leptospiras que afectan a un mismo hato; que los porcentajes de sueros positivos y las serovariedades también son diferentes entre las explotaciones, aún cuando estén contenidas dentro de una zona con las mismas condiciones climatológicas.

El hallazgo de anticuerpos en contra de Leptospirosis, en -- muestras de sueros de varios animales de un mismo hato, no -- confirma que padezcan la enfermedad en ese momento, pero sí que sufrieron la infección y que el microorganismo se encuentra presente en la explotación.

Los porcentajes de sueros positivos a Leptospirosis en este estudio, se obtuvieron únicamente en base a las 10 serovariedades utilizadas, lo que no indica que los sueros que reaccionaron en forma negativa, estén totalmente libres de infección a otras serovariedades.

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

En base a los resultados encontrados en este trabajo podemos concluir lo siguiente:

- Se demostró la presencia de anticuerpos en contra de Leptospiras en todas las explotaciones de bovinos muestreadas.
- Un mismo animal puede presentar anticuerpos en contra de más de una serovariedad de Leptospiras.
- Todas las explotaciones se encuentran afectadas por más de una serovariedad de L. interrogans.
- Las serovariedades predominantes no son las mismas entre las explotaciones.
- La serovariedad ballum es la de mayor importancia en las muestras obtenidas en hatos vacunados contra Leptospirosis.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1.- **ABDUSSALAM, M., (1976), "Situación Mundial del Problema de la Leptospirosis" VIII Reunión Interamericana sobre el control de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis. Publicación Científica No. 316, Organización Panamericana de la Salud, O.M.S., Guatemala.**
- 2.- **ACHA, P.N., SZYFRES, B, (1986), "Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al Hombre y a los Animales". Publicación Científica No. 503, Organización Panamericana de la Salud, O.M.S.**
- 3.- **AGUILAR, A.J., (1976), "Descripción de un brote de - - Leptospirosis bovina en el Municipio de Tuxpan, Veracruz y detección de L. pomona en sueros sospechosos - por la prueba de aglutinación microscópica". Tesis profesional, Universidad Veracruzana, México.**
- 4.- **ALEJO, C.R., (1982), "Primer muestreo serológico de - Leptospirosis en bovinos lecheros, en la F.E.S.-C., - U.N.A.M. " Tesis profesional, F.E.S.-C. U.N.A.M., México.**
- 5.- **BANDA, R.V.M., (1984), "Determinación serológica y aislamiento de Leptospira en animales domésticos". Tesis profesional, U.A.M., México.**

- 6.- **BOBADILLA A.J.L., (1979), "Estudio serológico de Leptospirosis por la técnica de aglutinación microscópica en ganado bovino en el norte de Sinaloa". Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.**
- 7.- **DIKKEN, H., (1967), "Boletín técnico de Leptospirosis"- Dirección de Sanidad Animal, S.A.G.**
- 8.- **DONALD, C.B., (1976), "Situación Mundial del Problema de la Leptospirosis" VIII Reunión Interamericana sobre el control de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis. Publicación Científica No. 316, Organización Panamericana de la Salud, O.M.S., Guatemala.**
- 9.- **DOXEY, D.L., (1987), "Patología Clínica y Procedimientos de Diagnóstico en Veterinaria". Ed. Manual Moderno, 2ª ed. México, D. F.**
- 10.- **DURFEE, P.T., ALLEN, J.D., (1980), "Serological titres of dairy cows over a 63 week period following natural infection with Leptospira interrogans, serovar hardjo". Austr. Vet. Jou., 56: 574-579.**
- 11.- **ELLIS, W.A., LOGAN, E.F., (1978), "Antibodies to Leptospira in the sera of aborted bovine fetus". Vet. Rec., 103: 237-239.**
- 12.- **ELLIS, W.A., O'BRIEN, J.J., (1981), "Role of cattle in the maintenance of Leptospira interrogans, serotype hardjo infection in Northern Ireland". Vet. Rec., 108: 555-557.**

- 13.- ELLIS, W.A., MONTGOMERY, J.A., (1985), "Dihydroestrep-tomycin treatment of bovine carriers of - - - - -  
Leptospira interrogans serovar hardjo".  
Resch. Vet. Scie. 39: 292-295
- 14.- ELLIS, W.A., CASSELLS, J.A., (1986), "Genital - - -  
Leptospirosis in bulls".  
Vet. Rec., 118: 333
- 15.- ELLIS, W.A., THIERMANN, A.B., (1986), "Isolation of  
Leptospire from the genital tracts of Iowa cows".  
Am. J. Vet. Resch., 47: (8) 1694-1695
- 16.- FAINE, S., (1982), "Guidelines for the control of -  
Leptospirosis".  
World Health Organization, Geneva.
- 17.- FERNANDEZ, S.I., (1963), "Demostración de - - - - -  
Leptospira pomona por anticuerpos fluorescentes en -  
riñón de ganado bovino raza Holstein, sacrificados en  
el rastro del D.F."  
Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.
- 18.- GAUMONT, R., (1983), "La Leptospirosis en el ganado  
de Europa".  
Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 2: (1) 71-77
- 19.- GONZALEZ, D., ORTEGA, L.M., (1972), "Estudio epizootio-  
lógico de la Leptospirosis en México (1968-1970)".  
Organo informativo de la Dirección General de Sanidad  
Animal, S.A.G., época I No. 1, jul-ago. 29-33

- 20.- HIGGINS, R.J., HAURBOURNE, J.F., (1980), "Mastitis and abortion in dairy cattle associated with *Leptospira* of the serotype hardjo".  
Vet. Rec., 107: 307-310
- 21.- LARRONDO, C.A., (1963), "Demostración de *L. pomona* en orina de bovino por el método de anticuerpos - - - fluorescentes".  
Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.
- 22.- LASTRA, D.G., (1968), "Contribución al estudio de la incidencia de Leptospirosis bovina en la Comarca - - Lagunera, mediante el método de aglutinación en placa".  
Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.
- 23.- LEON, L.L., (1976), "Estudio serológico por aglutinación microscópica de Leptospirosis en bovinos y porcinos en México".  
Archivos de la Dirección General de Sanidad Animal, S.A.R.H., México, D.F.
- 24.- MACKINTOSH, C.G., MARSHALL, R.B., (1980), "The use of a hardjo-pomona vaccine to prevent leptospirosis in cattle exposed to natural challenge with - - - - *Leptospira interrogans* serovar hardjo".  
N.Z. Vet. J., 28: 174-177
- 25.- MACKINTOSH, C.G., SCHOLLUM, L.M., (1980), "Epidemiology of Leptospirosis in dairy farm workers in Manawatu Part I: A cross sectional survey and associated - - occupational factors".  
N.Z. Vet. J., 28: 245-250

- 26.- MAILLOUX, M., (1975), "Leptospiroses = Zoonoses".  
Int. J. Zoon. 32: 45-54
- 27.- MARTONE, W.J., (1979), "Leptospirosis in humans in the  
United States."  
Thec. J. of. Infec. Dis., 140: (6) 1020-1022.
- 28.- MENDOZA, A.L.F., (1987), "Prevalencia de reactores  
(+) a Leptospira interrogans, en bovinos Holstein, en  
el Centro Nacional para la Enseñanza, Investigación y  
Extensión de la zootecnia, (F.M.V.Z., U.N.A.M.)."  
Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.
- 29.- MICHNA, S.W., (1970), "Leptospirosis".  
Vet. Rec., 86: 484-496
- 30.- MICHNA, S.W., (1971), "Leptospirosis in British cattle".  
Vet. Rec., 88: 384-386
- 31.- MIERS, D.M., (1985), "Manual de métodos para el diag-  
nóstico de laboratorio de Leptospirosis".  
Organización Panamericana de la Salud, O.M.S.  
Nota Técnica No. 30.
- 32.- MILNER, A.R., WILKS, C.R., (1980), "Leptospirosis - -  
serogroup Hebdomadis infection as an Australian Zoono-  
sis".  
Austr. Vet. Jour., 56: 70-73
- 33.- "Modificaciones al sistema de clasificación climática  
de Koppen". 1981.  
Instituto de Geografía de la U.N.A.M.

- 34.- MORTER, R.L., (1980), "Serology in vaccinated cattle with Leptospirosis bacterine".  
Mod. Vet. Prac., 7: 611-614
- 35.- RODRIGUEZ Y HERE, G., (1969), "Exploración serológica de Leptospirosis y Brucelosis en ganado bovino y porcino con historia clínica de aborto".  
Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.
- 36.- RUBIN, H.L., (1979), "Bovine Leptospirosis".  
Calif. Vet., 11: 27-32
- 37.- SAIZ, A., (1962), "Contribución al estudio de la incidencia de la Leptospirosis en el ganado bovino".  
Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.
- 38.- SAPP, W.J., SIDDIQUE, I.H., (1980), "Histopathologic evaluation of livers of pregnant hamsters infected with Leptospira canicola".  
Am. J. Vet. Resch., 4: 1288-1292
- 39.- STALHEIM, O.H.V., (1969), "Chemotherapy of renal - - Leptospirosis in cattle".  
Am. J. Vet. Resch., 30: (8) 1317-1323
- 40.- STALHEIM, O.H.V., (1971), "Duration of immunity in - cattle in response to a viable, avirulent - - - - Leptospira pomona vaccine".  
Am. J. Vet. resch., 32: (6) 851-854

- 41.- **STALHEIM, O.H.V., (1976), "Quimioterapéutica e inmunización para el control de la Leptospirosis en los animales domésticos".**  
VIII Reunión Interamericana para el control de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis.  
**Publicación Científica No. 316, Organización Panamericana de la Salud, O.M.S., Guatemala.**
- 42.- **SULLIVAN, N.D., (1974), "Leptospirosis in animals and man".**  
**Austr. Vet. Jour., 50: (5) 216-223**
- 43.- **SZYFRES, B., (1976), "La Leptospirosis como problema de salud humana y animal en América Latina y el área del Caribe".**  
VIII Reunión Interamericana sobre el control de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis.  
**Publicación Científica No. 316, Organización Panamericana de la Salud, O.M.S., Guatemala.**
- 44.- **THIERMANN, A.B., (1982), "Experimental Leptospiral infection in pregnant cattle with organisms of the Hebdomadis serogroup".**  
**Am. J. Vet. Resch., 42: (5) 780-784**
- 45.- **TRIPATHY, D.N., SMITH, A.R., (1975), "Immunoglobulins in cattle vaccinated with leptospiral bacterin".**  
**Am. J. Vet. Resch., 36: (12) 1735-1736.**

- 46.- VAZQUEZ, CH., J.C., (1986), "Diagnóstico de prevalencia de Leptospirosis, en el ganado de la Tierra Caliente del Estado de Guerrero, para su prevención y control".  
Tesis profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M., México.
- 47.- VELASCO, O.R., (1976), "Estudio serológico sobre Leptospirosis en bovinos y porcinos del Estado de Veracruz".  
Revista de Investigación en Salud Pública, Vol. 36, I. Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, S.S.A.
- 48.- WOLFF, J.W., (1954), "The Laboratory diagnosis of Leptospirosis".  
Thomas Books, 1st. ed, N.Y., U.S.A.