



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
COORDINACION DE POSGRADO  
MAESTRIA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA



**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO Y FACTORES DE RIESGO DE  
LEPTOSPIROSIS CAPRINA EN EL ESTADO DE SAN LUIS POTOSÍ**

**Por:**

**M.V.Z. Edgar González Ávila**

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de  
Maestro en Producción Agropecuaria**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
COORDINACION DE POSGRADO  
MAESTRIA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA



**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO Y FACTORES DE RIESGO DE  
LEPTOSPIROSIS CAPRINA EN EL ESTADO DE SAN LUIS POTOSÍ**

**Por:**

**M.V.Z. Edgar González Ávila**

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de**

**Maestro en Producción Agropecuaria**

**Asesores:**

**Dr. Jorge Urrutia Morales**

**Dr. Fernando Muñoz Tenería**

**MC Enrique Herrera López**

**MC Dionicio Córdova López**


**Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P**

**Enero 2013**

El trabajo titulado “Estudio epidemiológico y factores de riesgo de Leptospirosis caprina en el estado de San Luis Potosí” fue realizado por: M.V.Z. Edgar González Avila como requisito para obtener el grado de Maestro en Ciencias Agropecuarias y fue revisado y aprobado por el suscrito comité de tesis.

Dr. Jorge Urrutia Morales

Asesor Principal



---

Dr. Fernando Muñoz Tenería

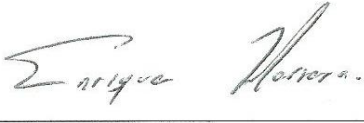
Asesor Interno



---

M. en C. Enrique Herrera López

Asesor Externo



---

Dr. Dionicio Córdova López

Asesor Externo



---

Ejido palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí a los 14 días del mes de Enero de 2013.

## **DEDICATORIAS**

Dedico esta tesis a Claudia por ser mi razón de vida y el calor de mi hogar. Por enseñarme que dos sonrisas juntas forman una gigante. Gracias por tu apoyo, ejemplo, paciencia, aliento y el constante estímulo para cerrar este ciclo que me viste comenzar.

Gracias.

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Al Consejo nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría.

A Claudia por su apoyo incondicional en cada fase de este ciclo.

A mis padres Guillermo y Magdalena por compartir la emoción de este logro.

Al Dr. Jorge Urrutia Morales por su guía, paciencia y tiempo.

Al Dr. Efrén Díaz Aparicio por su apoyo y por permitirme participar en este proyecto.

Al MC. Enrique Herrera López por compartir su espacio y experiencia en el laboratorio.

Al MC. Dionicio Córdova López por su apoyo y enseñanza en el análisis epidemiológico.

A la Dra. Leticia Medina Esparza por su retroalimentación y conocimientos.

A Montse por su paciencia al enseñarme la técnica de laboratorio.

A Quique y a Jorge por su tiempo, cansancio y horas carretera durante el trabajo de campo.

A Oti y a Juan Carlos por estar al frente de la nave durante mis ausencias.

A Pau por su amistad y constante compañía virtual.

## CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
CONTENIDO.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
RESUMEN.....	vii
SUMMARY .....	viii
INTRODUCCIÓN .....	1
Hipótesis.....	2
Objetivos .....	3
General .....	3
Específicos .....	3
REVISION DE LITERATURA.....	4
Historia.....	7
Etiología .....	9
Epidemiología .....	10
Patogenia .....	13
Transmisión.....	14
Factores de riesgo.....	15
Patología.....	17
Inmunología .....	18
Signos y lesiones .....	19
Tratamiento .....	19
Prevención y control.....	20
Vacunas .....	21
Diagnóstico.....	22
Prueba de aglutinación microscópica (MAT) .....	26
Diagnóstico bacteriológico.....	27

Diagnóstico diferencial .....	28
<b>MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>30</b>
Lugar de estudio .....	30
Tamaño de muestra .....	32
Criterios de inclusión: .....	33
Fase de campo .....	34
Material y equipo para muestreo .....	36
Toma de muestras.....	36
Envío de muestras .....	37
Encuestas epidemiológicas.....	38
Base de datos .....	38
Fase de Laboratorio .....	39
Preparación de soluciones y medios de cultivo.....	40
Mantenimiento del cepario de diagnóstico.....	40
Purificación de cepas.....	41
Material .....	42
Diluciones: .....	42
Humanos y evaluación de bacterinas se requiere una dilución 1:20.....	43
Lectura de la técnica de Aglutinación Microscópica MAT .....	45
Procedimiento.....	45
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>63</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>67</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>68</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

1. Total de unidades de producción pecuaria caprina en México (CNOG 2009).
2. Estados con mayor población caprina (CNOG 2009).
3. Estados con mayor producción de carne en canal caprina (CNOG 2009).
4. Tamaño de muestra necesario en la unidad productiva.
5. Relación de comunidades visitadas en los municipios seleccionados.
6. Total de comunidades, unidades de producción y número de muestras obtenidas por región.
7. Mantenimiento del cepario de diagnóstico del CENID microbiología INIFAP.
8. Escala utilizada para el puntaje de aglutinación para la prueba MAT.
9. Número de seropositivos por dilución por serovariedad.
10. Títulos de anticuerpos de las muestras seropositivas a MAT a las diferentes serovariedades por región.
11. Historial de infertilidad y características de los casos de aborto observados por los caprinocultores por unidades de producción pecuaria.
12. Higiene de los corrales en las unidades de producción pecuaria.
13. Origen de los caprinos de las unidades de producción pecuaria.
14. Actividades del manejo de las cabras en las unidades de producción.
15. Especies Animales en contacto con los capirinos de las unidades de producción.



## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Importancia de la caprinocultura en el estado de San Luis Potosí.
2. Inventario caprino en el Estado de San Luis Potosí.
3. Tamaño de muestra y municipios a muestrear.
4. Tamaño de muestra por municipio.
5. Toma de muestra, separación del suero, empaque y envío al laboratorio.
6. Aplicación de la técnica de aglutinación microscópica.
7. Dilución final
8. Formas en que las células se pueden aglutinar.
9. Número y porcentaje de las muestras seropositivas y negativas a MAT a las diferentes serovariedades de *Leptospira interrogans*.

## RESUMEN

Se realizó un estudio epidemiológico en 14 municipios pertenecientes a las zonas centro, media y altiplano del Estado de San Luis Potosí con la finalidad de determinar la prevalencia de Leptospirosis en la región. Se visitaron 55 unidades de producción de ganado caprino realizando un muestreo por colecta de sangre con un total de 704 muestras obtenidas y distribuidas en 41 comunidades rurales. Se realizó el diagnóstico serológico mediante la técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) indicada en la para la detección de anticuerpos contra *Leptospiras spp* y la identificación de las serovariedades presentes en la región. Las muestras colectadas fueron remitidas al laboratorio del CENID Microbiología Animal del INIFAP. Se obtuvieron un total de 320 sueros positivos y 384 negativos con una prevalencia del 45.5% en el estado. Se identificaron 7 serovariedades presentes en esta región. La serovariedad más frecuente fue Palo alto (*Icterohaemorrhagiae*) con 186 positivas (26.42%), seguida de INIFAP con 92 (*Hardjo*) (13.07%), Bratislava 45 (6.39%), Tarassovi 31 (4.40%), *Hardjo* 23 (3.27%), *Wolffi* 20 (2.84%), y *Grippothipossa* 4 (0.57%) Por lo tanto los aislamientos nacionales son los que tienen mayor presencia en el estado. Se aplicaron encuestas epidemiológicas por cada unidad de producción y por cada animal muestreado donde se obtuvo información adicional sobre su estado de salud, manejo sanitario y productivo de los hatos para estimar los factores de riesgo asociados a esta enfermedad; sin embargo, al obtener una totalidad de las unidades de producción positivas para alguna serovariedad de *Leptospira* nos indica una gran distribución de la enfermedad pero no fue posible realizar comparaciones entre poblaciones libres y prevalentes, ni establecer relaciones entre las variables que fueran determinantes para la presencia o no de la enfermedad en los hatos y su relación con los abortos e infertilidad como los principales problemas reproductivos. Con la identificación de las serovariedades por hato, comunidad y municipio es posible establecer calendarios de vacunación específicos contra las serovariedades presentes como principal medida de control recomendada junto con un buen manejo sanitario.

**Palabras clave:** *Leptospira*, serovariedad, Leptospirosis, Caprina, MAT.

## SUMMARY

An epidemiological study was conducted in 14 municipalities in central, middle and high areas of San Luis Potosi, to determine the prevalence of Leptospirosis in the region. 55 units of goat production were visited for blood sampling collection with a total of 704 samples collected and distributed in 41 rural communities for serological diagnosis by microscopic agglutination test (MAT) indicated for the detection of *Leptospira* spp. and serotype varieties in the region. The collected samples were sent to CENID animal microbiology of INIFAP center for their processing. A total of 320 positive and 384 negative samples were obtained with a 100% of seroprevalence of the farms sampled. 7 serovarieties were identified in this region. The most common serovariety was Palo Alto (Icterohaemorrhagiae) with 186 positive cases (26.42%), followed by Inifap with 92 (Hardjo) (13.07%), Bratislava 45 (6.39%), Tarassovi 31 (4.40%), Hardjo 23 (3.27%), Wolffi 20 (2.84%) and Grippothipossa 4 (0.57%). Therefore national isolates are those with the highest presence in the region. Epidemiological surveys were conducted for each production unit and for each animal sampled which yielded additional information about their health status, health and sanitary management of the herds to estimate the risk factors associated with this disease, but to obtain a full production units have seropositive *Leptospira* variety indicates a wide distribution of the disease but it was not possible to make comparisons between free and prevalent populations, or to establish relationships between variables that were decisive for the presence or absence of disease herds and their relationship with abortions and infertility as a major reproductive problems. With the identification of serovarieties per herd, community and municipality may establish specific immunization schedules against this serovarieties as the main control measure recommended along with a good health management.

**Keywords:** *Leptospira*, serovariety, Leptospirosis, Goat, MAT

## INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa aguda, febril, de amplia distribución mundial provocada por Spiroquetas del género *Leptospira* que afecta al hombre, mamíferos silvestres y domésticos como ganado bovino, ovino, equino, caprino y perros de forma endémica (Thiermann, 1984). Se considera la zoonosis más común sobre todo en países subdesarrollados y un riesgo a la salud pública (Ramírez, 2005).

Se transmite principalmente por medio de la orina de roedores infectados, que son el reservorio natural de la enfermedad. Las leptospiras se alojan en los túbulos renales donde se reproducen y son eliminadas de manera crónica a través de la orina (Caino, 2006). La trasmisión se realiza de manera directa al tener contacto la piel o alguna membrana mucosa con orina infectada, sangre o tejidos de animales contaminados. De manera indirecta se puede adquirir a través de suelos húmedos o agua contaminada con la orina infectante (Musacchio *et al*, 2010). Los animales infectados pueden ser portadores durante toda la vida y servir de reservorios de la infección para otros animales y para los humanos (OIE, 2008). Se considera al humano como huésped accidental, aunque la infección es menos frecuente entre el hombre y los animales domésticos (Elias, 2008).

Las Leptospiras tienen una gran diversidad de variantes serológicos, que no presentan especificidad de huésped (Feraud *et al*, 2005). Los huéspedes infectados desarrollan un enfermedad aguda febril que puede ser seguida por una forma más severa y a veces fatal, que incluye la aparición de fiebre, anorexia, ictericia, insuficiencia renal, meningitis, miocarditis, neumonía hemorrágica, hemoglobinuria y colapso hemodinámico (Ibarra *et al*, 2002).

El ganado caprino es una de las especies domésticas menos susceptibles a la acción de *Leptospiras* patógenas; sin embargo, pueden padecer la enfermedad de manera asintomática, infiriendo directamente en la productividad en el rubro de la reproducción provocando mortinatos, abortos y/o nacimientos de animales débiles, baja producción de leche e infertilidad, causando grandes pérdidas económicas (Ciceroni *et al*, 2000).

Una limitante muy importante para establecer un buen manejo sanitario como componente del sistema productivo, es el desconocimiento de las enfermedades presentes en la región, sobre todo de manera documentada y no sólo con base en la experiencia de los productores. Ya que actualmente no hay datos sobre las especies de *Leptospiras* que se presentan en el estado, se torna pertinente la realización de análisis exhaustivos mediante estudios epidemiológicos para determinar la prevalencia de Leptospirosis en la población caprina y su distribución para que las autoridades correspondientes puedan establecer las políticas sanitarias adecuadas para poder tomar acciones más asertivas y establecer las medidas para el control de esta enfermedad.

## **Hipótesis**

La Leptospirosis caprina presenta una elevada prevalencia en las unidades de producción de ganado caprino en el Estado de San Luís Potosí.

## **Objetivos**

### **General**

Determinar la prevalencia y distribución de la Leptospirosis en el ganado caprino en el Estado de San Luis Potosí así como los factores de riesgo asociados a la enfermedad.

### **Específicos**

- Determinar la prevalencia y distribución espacial de la Leptospirosis en el ganado caprino del estado de San Luis Potosí mediante un muestreo polietápico estratificado por colección de sangre en 704 animales pertenecientes a 55 unidades productivas en 41 comunidades rurales en 14 municipios.
- Determinar las serovariedades de *Leptospiras* presentes en el ganado caprino en los municipios Santa María del Río, Villa de Reyes, Armadillo de los Infante, San Nicolás Tolentino, Villa Hidalgo, Guadalcazar, Matehuala, Catorce, Charcas, Venado, Salinas de Hidalgo, Moctezuma, Rio Verde, y Villa de Ramos mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT).
- Determinar si hay relación entre los factores de riesgo asociados a la presencia de esta enfermedad en las unidades de producción caprinas mediante la aplicación y análisis de encuestas epidemiológicas en las unidades productivas visitadas.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### La caprinocultura en San Luis Potosí

La caprinocultura es una de las actividades ganaderas más importantes en el Estado de San Luis Potosí principalmente en los municipios que comprenden la región altiplano y algunos de la zona media y la zona centro. El estado ocupa el quinto lugar del país en unidades de producción pecuaria con 17,552 que constituyen el 6.72% nacional. (Cuadro 1). (CNOG 2009).

**Cuadro 1.** Total de unidades de producción pecuaria caprina en México 2009.

<i>Estado</i>	<i>UP(a)</i>	<i>%</i>
<i>Oaxaca</i>	33123	12.69
<i>Puebla</i>	28353	10.86
<i>Guanajuato</i>	28068	10.75
<i>Guerrero</i>	26849	10.28
<b><i>San Luis Potosí</i></b>	<b>17552</b>	<b>6.72</b>
<i>Hidalgo</i>	14491	5.55
<i>Michoacán</i>	11281	4.32
<i>Edo. de México</i>	11157	4.27
<i>Chihuahua</i>	11010	4.22
<i>Nuevo León</i>	9770	3.74
<i>Zacatecas</i>	9659	3.70
<i>Coahuila</i>	9518	3.65
<i>Durango</i>	6511	2.49
<i>Veracruz</i>	5987	2.29
<i>Tamaulipas</i>	5491	2.10
<b>Total</b>	<b>228820</b>	<b>87.64</b>
<i>Otros</i>	32280	12.36
<b>Total</b>	<b>261100</b>	<b>100</b>

(a) Unidades de Producción Pecuaria Caprina

Los productos y subproductos derivados de esta actividad son una de las fuentes de ingresos y alimentación de mayor importancia para sus productores. Algunos habitantes de los municipios del centro, norte y noroeste del estado, donde se concentra la mayor densidad de población caprina encuentran su sustento básico en esta ganadería. Estos municipios se caracterizan por su clima, que van del templado al semidesértico con las limitantes inherentes que éstas presentan por el tipo de topografía, temperaturas, lluvias y vegetación.

San Luis Potosí ocupa el quinto lugar nacional en población caprina con 610,334 cabezas equivalentes al 6.82% y el sexto lugar total nacional en producción de carne en canal (Cuadros 2 y 3) (CNOG 2009).

**Cuadro 2.** Estados con mayor población caprina 2009

Estado	Población(a)	%
Puebla	1438577	16.07
Oaxaca	1186789	13.26
Guerrero	676613	7.56
Coahuila	656555	7.33
<b>San Luis Potosí</b>	<b>610334</b>	<b>6.82</b>
Zacatecas	562744	6.29
Guanajuato	559239	6.25
Michoacán	482717	5.39
Nuevo León	344962	3.85
Durango	333614	3.73
Hidalgo	267961	2.99
Jalisco	266049	2.97
Tamaulipas	256615	2.87
Chihuahua	228770	2.56
Nayarit	159019	1.78
<b>Total</b>	<b>8030558</b>	<b>89.71</b>
Otros	921586	10.29
<b>Total</b>	<b>8952144</b>	<b>100</b>

(a) Cabezas de ganado.



**Cuadro 3.** Estados con mayor producción de carne en canal 2009

Estado	Lugar
Coahuila	1
Oaxaca	2
Puebla	3
Guerrero	4
Zacatecas	5
<b>San Luis Potosí</b>	<b>6</b>
Michoacán	7
Jalisco	8
Guanajuato	9
Tamaulipas	10

El sistema productivo en la región está constituido por majadas de cabras criollas encastadas con las razas Nubia, Boer, Alpina, Murciana, Saanen, y Toggenburgh, que van de las diez hasta las doscientas cabezas, compuestas principalmente por hembras de dos a ocho años de edad, primaras; uno o dos sementales y con remplazos principalmente nacidos en la misma majada o adquiridos dentro de la misma comunidad o poblaciones cercanas.

Poco se acostumbran las prácticas de suplementación; solo en algunas unidades productivas estabuladas donde se realiza dos veces al año antes de las fechas de empadre y durante el periodo de agostadero en los lugares donde hay carencia de forrajes verdes. El sistema de alimentación es a base del pastoreo y ramoneo extensivo de la vegetación nativa compuesta principalmente de pastos, cactáceas, matorrales, arbustos y rastrojos de zonas cultivadas, haciéndolo durante la mayor parte del día, recorriendo grandes distancias y resguardándose durante la noche en corrales rudimentarios hechos a base de piedras, madera de la región, algunas veces con alambre y sin pendientes para los escurrimientos, desagües y sin corrales para las épocas de parición.

Los empadres son continuos no controlados, los machos andan junto a las hembras todo el año, sin calendarios, con poca rotación y remplazo de los sementales y sin registros productivos.

Los productos principales de esta ganadería son la leche para el autoconsumo y para la elaboración de quesos, cajetas y dulces típicos para su venta en la misma comunidad, la recolección de excremento para su venta como abono o su incorporación al terreno, la venta de la carne, piel y cabrito, siendo estos comercializados en su mayoría mediante intermediarios acopiadores a precios muy bajos al no basarse en una clasificación decanales y ganado en pie. La ordeña y el procesamiento del queso son realizados por los miembros de la familia de manera manual, sin refrigeración ni pasteurización.

Es común la convivencia de los caprinos con otras especies como bovinos, ovinos, aves de corral y perros tanto propios como externos sin restricciones y resaltando el acceso a alimentarse con los desechos del parto. El manejo sanitario es precario y se realiza una o dos veces al año limitándose al uso de bacterinas polivalentes (clostridiums y pasteurellas), vacunas contra Brucelosis sin pruebas de que estén libres de *Brucella* y en ocasiones, desparasitaciones sin el apoyo de un programa preestablecido.

### **Historia**

La Leptospirosis es una enfermedad infecciosa, aguda y febril que afecta a humanos y animales tanto domésticos como silvestres en forma endémica (Thiermann, 1984) especialmente perros, ganado bovino, ovino y equino (Caino, 2006; Moles *et al*, 2002).

Es conocida como enfermedad de Weil, enfermedad de los porqueros, fiebre de los arrozales, fiebre de los cañaverales y otros nombres locales, como enfermedad de Stuttgart (perros) (Laguna, 2000). Adolf Weil describió la Leptospirosis como una enfermedad en el año 1886, su nombre aún es relacionado a la forma severa de la Leptospirosis, también conocida como enfermedad de Weil y que es tradicionalmente atribuida a una infección transmitida por ratas, causada por los serovares Icterohaemorrhagiae y Copenhageni.

Hoy en día, se considera preferible referirse a todas las infecciones con leptospiras como Leptospirosis, independiente de los síntomas y signos clínicos.

El agente también se ha aislado de otros vertebrados, como aves y anfibios (Andicoberry *et al*, 2001). Su distribución es mundial y se considera la zoonosis más común, sobre todo en países subdesarrollados en donde es un problema de salud pública (Ramírez, 2005).

En hatos ganaderas provoca una baja productividad en los animales que se traduce en pérdidas económicas; en el rubro de la reproducción puede provocar mortinatos, abortos (León, 1988) y/o nacimientos de animales débiles e infertilidad y resulta difícil estimar las pérdidas provocadas por esta enfermedad debido a las dificultades inherentes en su diagnóstico (Ellis, 1994). La primera descripción clínica de Leptospirosis fue hecha por Lacereaux en 1802.

En 1883 Landarouzi describió un caso típico con ictericia y hemorragias denominándolo tifus hepático (Laguna, 2000).

En 1866 Weil describió la enfermedad caracterizada por un amplio espectro de manifestaciones clínicas variando desde la infección inaparente a la enfermedad de tipo mortal (Martínez *et al*, 2000).

En 1886, Mathieu en Francia y Weil en Alemania describen cuadros agudos febriles con ictericia y manifestaciones de agresión renal. Goldschmidt en 1887 propuso el nombre de Enfermedad de Weil (Laguna, 2000).

En 1914 los japoneses Inada e Ido encuentran una espiroqueta en el hígado de cobayos infectados, en el aparecieron fenómenos hemorrágicos y es por esta razón que los investigadores japoneses llamaron al agente encontrado Spiroqueta Icterohaemorrhagiae, también fue reconocida en Alemania por Uhlenhuth y Fromme como la causa de la enfermedad que había sido originalmente descrita por Weil (Laguna, 2000; OMS, 2008).

El mismo equipo japonés encontró la relación de este microorganismo con las ratas de desagüe y al estudiarlas encontraron que el 40% de esas ratas eran portadoras de la *Spiroqueta Icterohaemorrhagiae* (Laguna, 2000). En 1917 y 1918 Noguchi estudió varias muestras aisladas en diferentes lugares y propuso la creación del genero *Leptospira* (Laguna, 2000).

En un hospital de Lima en 1917, Arce y Ribeyro describieron el primer caso de Leptospirosis en el Perú. En los años siguientes se aislaron y diagnosticaron varios casos en humanos. Durante una epidemia de fiebre amarilla se consiguió aislar cepas de leptospiras que en ese momento fueron denominadas *Leptospira* Icteroides porque eran diferentes a la *Leptospira* Icterohaemorrhagiae (Laguna, 2000).

La evidencia serológica de infección por leptospiras en cabras ha sido reportado en 1957, con la presencia de anticuerpos demostraba *Leptospira* en 6,5% (dos de 31) de las cabras examinadas; Los dos reactores positivos a la serovariedad Icterohaemorrhagiae. Una incidencia similar de baja infección caprina fue grabado por Farina en 1965 que reveló que sólo uno (2,1%) de los 48 sueros caprinos examinaron anticuerpos conteniendo serovariedades Icterohaemorrhagiae (Ciceroni et al, 2000).

El agente también se ha aislado de otros vertebrados, como aves y anfibios (Andicoberry et al, 2001). Las serovariedades de *Leptospira* en caprinos registrados han sido: Grippytyphosa, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Bataviae, Canicola, Butembo, Sejroe (Ciceroni et al, 2000); sin embargo, aún es insuficiente la información que se tiene sobre esta enfermedad en caprinos.

### **Etiología**

La Leptospirosis es causada por una espiroqueta del género *Leptospira*, que se divide en dos especies: *Leptospira* .interrogans, especie patógena para el ser humano, los animales y de vida parasitaria; *Leptospira* biflexa, especie en la que se engloban todas las saprofitas que se localizan en la superficie del suelo y agua. (Andicoberry et al, 2001) y *Leptospira* illini, esta última considerada de estado taxonómico incierto.

Pertenecen al orden Spirochaetales, familia Leptospiraceae, género *Leptospira*. Se encuentran reunidas antigénicamente en 23 serogrupos y 200 serovariedades para el complejo Interrogans. (NOM-029-SSA2-1999). Están clasificadas en 13 especies patógenas y 4 especies saprófitas, con más de 260 serovariedades patógenas y más de 60 serovariedades saprófitas (Adler, 2010).

Las leptospiras son bacterias aeróbicas o microaeróbicas gram negativas, delgadas, móviles con forma parecida a la de un sacacorchos con ganchos en los extremos que las hacen diferenciar de otras espiroquetas. (Feraud et al, 2005). Miden

cerca de 0.1µm de diámetro y de 6-20µm de largo, se caracterizan por un enrollamiento de la espiral primaria y son helicoidales. Los giros tienen 0,2 a 0,3 µm de diámetro global y 0,5 µm y en medios de cultivo líquidos generalmente presentan los ganchos en ambos extremos (Mahajan et al, 2008). Todas las leptospiras son muy parecidas, con solo algunas diferencias mínimas, por lo cual la morfología no ayuda a diferenciar entre leptospiras patógenas o saprófitas o entre las diferentes leptospiras patógenas. Son demasiado delgadas para ser visibles bajo un microscopio normal por lo que la microscopía de campo oscuro es la más usada para su observación (Pacheco *et al*, 2007).

Son aerobios obligados que crecen y se multiplican a una temperatura óptima de 28 a 30°C en un pH comprendido entre 7.2 y 7.4, en medio enriquecido con vitaminas B1 y B12, ácidos grasos de cadena larga, y sales de amonio (OMS,2008).

Las leptospiras tienen una estructura de doble membrana en la que están estrechamente relacionadas la membrana citoplasmática y pared celular de péptidoglicano, las cuales son rodeadas por una membrana externa.

### **Epidemiología**

La Leptospirosis es considerada como una zoonosis de acuerdo a su reservorio y como una saprozoosis por su mecanismo de transmisión (Gutiérrez, 2000).

Su propagación es causada principalmente por la rata o ratón de alcantarilla (*Rattus norvegicus*) y el ratón negro también denominado ratón del techo (*Rattus rattus*) (Carreiro, 2004) a través de la contaminación por sus excretas y actúan como hospederos de muchas serovariedades en todo el mundo (Burriel, 2003), siendo el ser humano y los animales de explotación económica y social hospederos accidentales (Damude 1979).

Las prevalencias y tasas de incidencias publicadas para esta enfermedad en el mundo varían notablemente según la zona geográfica (Gutiérrez, 2000). Las infecciones en huéspedes accidentales son más comunes durante todo el año en zonas tropicales y subtropicales y pueden llegar a alcanzar valores elevados en las épocas de lluvia (Lilenbaum 2008). Los crecientes desastres naturales con altas descargas de lluvias como en las inundaciones, así como cambios climáticos asociados con el calentamiento

global y el “Efecto Invernadero”, han favorecido el incremento de la Leptospirosis endémica global para el ser humano y enzootias globales para la biodiversidad animal (Bermúdez, 2010).

Ciertas especies de animales vertebrados tienen una relación comensal con las leptospiras en la cual actúan como huéspedes naturales de mantenimiento de las leptospiras patógenas que viven en sus riñones. Estas leptospiras causan poco o ningún daño para estos huéspedes que, sin embargo, mantienen la infección y son conocidos como huéspedes naturales de mantenimiento. (Johnachan, 1986).

Si otros animales que no son huéspedes naturales de mantenimiento (incluyendo los seres humanos) se infectan por la misma *Leptospira* patógena, generalmente se enferman. Si un huésped de mantenimiento para una *Leptospira* en particular es infectado con otro serovar puede desarrollar los síntomas y signos de la Leptospirosis (Everard, 1988).

El conocimiento acerca de la Leptospirosis en pequeños rumiantes es limitado. Esta menor cantidad de información acerca de la enfermedad en el ganado ovino y caprino puede explicarse por factores tales como: una menor edad y menor valor económico atribuido a estos animales (Souza *et al*, 2010).

Las cabras se encuentran entre las especies domésticas que son menos susceptibles a la acción de las leptospiras patógenas. Aunque la mayoría de los casos son brotes asintomáticos, los casos graves se producen con la pérdida significativa de cabras (Myers, 1986).

Los estudios serológicos en varios países demostraron que la infección por *Leptospira spp.* Es común y se asocia en la mayoría de los casos a la presencia del serotipo Hardjo, la mayoría es responsable de pérdidas reproductivas en el ganado y también causando un gran número de abortos en el mismo (Ciceroni *et al*, 2000). La transmisión de este serotipo parece ser independiente de las precipitaciones y de factores ambientales, ejerciendo poca influencia en la transmisión venérea de este serotipo, que puede conducir a una Leptospirosis endémica, lo que hace más difícil su control (Melo *et al*, 2010).

En las pequeñas especies de rumiantes presentan leves a graves síntomas caracterizados por fiebre, anorexia, y en algunos casos, ictericia, hemoglobinuria, anemia, aborto, nacimiento de crías débiles o muertos, e infertilidad (Ciceroni *et al*, 2000; Nascimento *et al*, 2004).

Las serovariedades de *Leptospira* en caprinos registrados han sido: Grippotyphosa, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Bataviae, Canicola, Butembo, Sejroe (Ciceroni *et al*, 2000).

La evidencia serológica de infección por leptospiras en cabras ha sido reportado en 1957, demostrada con la presencia de anticuerpos *Leptospira* en 6,5% (2 de 31) de las cabras examinadas; Los dos reactores fueron positivos a la serovariedad Icterohaemorrhagiae. Una incidencia similar de baja infección caprina fue grabado por Farina en 1965 que reveló que sólo uno (2,1%) de los 48 sueros caprinos examinaron anticuerpos conteniendo serovariedades Icterohaemorrhagiae (Ciceroni *et al*, 2000).

En México la Leptospirosis es una enfermedad endémica. El Instituto Nacional De Referencia Epidemiológica (INDRE) reporto un porcentaje nacional de muestras de suero, positivas para *Leptospira*, de 2.7% en 1991, de 7.9% en 1992, de 9.8% en 1993, de 23.1% en 1994 y de 7.7% en 1995. Aunque la incidencia de la Leptospirosis se estima como relativamente baja en varios países del mundo, esta enfermedad es considerada como la zoonosis más ampliamente distribuida en el mundo (Gutiérrez, 2000).

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, en el periodo de 1989 a 1998, reportó haber procesado 1,746 muestras provenientes de diferentes entidades (Chiapas, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Puebla, Querétaro, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Yucatán) encontrándose que había una positividad de 97% en caprinos (43 muestras) y sus serovariedades más frecuentes en son; Autumnales, Szwajizak y Pomona. (NOM-029-SSA2-1999).

La decisión de la identificación de las serovariedades en algunas regiones dependerá de la información que se requiera. La mayoría de los investigadores probablemente querrán conocer qué cepas están circulando en un área determinada y

cuáles son las probables fuentes de infección y reservorios. En muchas áreas tropicales, diferentes serovares pueden circular y es probable que algunos no hayan sido identificados. Una posibilidad es usar un método que permita la rápida identificación de los aislamientos más comunes mientras los aislamientos raros o inusuales pueden ser enviados a un centro de referencia para su tipificación. La elección del método dependerá de las facilidades técnicas y la experiencia del personal disponible aunque algunos métodos no son claramente apropiados para su uso en laboratorios de rutina.

Cualquiera sea el método de tipificación usado es necesaria la comparación con las cepas de referencia. Los aislamientos locales pueden exhibir características únicas que difieran de aquellas de las cepas de referencia.

La observación de las diferencias entre las cepas de referencia y los aislamientos locales es importante, tanto desde el punto de vista epidemiológico como en la definición de las características particulares que permitirá identificar las cepas locales.

Debido a que actualmente no hay métodos de tipificación disponibles que den siempre resultados satisfactorios, los laboratorios especializados y centros de expertos suelen usar una combinación de métodos serológicos y genéticos para caracterizar un aislamiento (Nascimento *et al*, 2004).

## **Patogenia**

La patogenia de Leptospirosis depende mucho de la serovariedad que se trate y de la especie animal. Los mecanismos por los cuales las leptospiras causan la enfermedad no están bien entendidos, se han sugerido varios factores de virulencia como adhesinas, hemolisinas y toxinas, pero todavía no está claro su efecto (Hernández *et al*, 2005).

Se observa una bacteremia que puede durar más de siete días después de que el organismo entro al cuerpo y es cuando el número de leptospiras alcanza un nivel crítico en la sangre y tejidos aparecen las lesiones y los signos clínicos.

Comienza lesionando el endotelio vascular provocando isquemia en los órganos que conducirá a la necrosis tubular en los riñones, daño hepatocelular y pulmonar,



meningitis, miositis y placentitis. En los casos más severos se llega a observar hemorragia e ictericia.

Cuando aparecen los anticuerpos circulantes van a provocar la remoción de las leptospiras de la circulación sanguínea y de los tejidos afectados excepto, los del tracto genitourinario. Durante la fase crónica se observa una limitada producción en los anticuerpos aunque las leptospiras aún se localizan en el riñón y el tracto reproductivo y es el momento cuando se puede realizar el aislamiento de la bacteria (De la Peña 2010).

El aborto es la resultante del paso a través de la placenta de las leptospiras durante la fase septicémica de la enfermedad lo que produce la muerte del feto, posterior al aborto puede ocurrir una infección aguda, aunque algunos animales no presentan signos clínicos.

La placenta y el feto pueden ser infectados por la serovariedad Hardjo cuando infecta el tracto reproductor de la hembra y en cualquier momento de la gestación puede provocar muerte embrionaria del feto y el subsecuente aborto de manera prematura (Shalfer *et al*, 2007).

La infección *L. Automalis* puede provocar abortos durante el segundo trimestre de la gestación y hay reportes de abortos provocados por *L. Pomona* en el último trimestre.

Al parecer los ovinos tienen un periodo de vulnerabilidad de 2 semanas previas al parto y 1 semana posterior al parto de ser infectadas por *Leptospira spp.* (William, 1994).

### **Transmisión**

La infección se lleva a cabo a través de la piel erosionada, mucosas ocular y nasal así como estar en contacto con agua, suelos húmedos y vegetación contaminada con orina o por manipular fetos, placentas, semen, fluidos vaginales y vísceras de animales infectados (Brandao *et al*, 2008; Ramírez, 2000).

Los ambientes húmedos ligeramente alcalinos, calurosos favorecen la sobrevivencia de las leptospiras, presentándose durante todo el año pero con mayor frecuencia en las épocas de lluvia (Sebek, 1989). El periodo de incubación promedio es

de 10 días durante el cual la espiroqueta viaja por vía sanguínea, se establece en hígado, riñón, pulmón, cerebro y bazo dependiendo de la serovariedad involucrada (Rocha 1990).

Las leptospiras patógenas se alojan en los túbulos proximales de los riñones de los animales infectados, sin embargo otros tejidos y órganos pueden servir como fuente de la infección (Libenbaum, 2007). La presencia de leptospiras en el tracto genital de las vacas se ha reportado desde 1986, desde entonces se considera al tracto genital, especialmente a la vagina, como un órgano de infección. En los toros las leptospiras también se alojan en el tracto genital, especialmente en las vesículas seminales, por ésta situación se ha sugerido que la transmisión venérea juega un papel importante en la epidemiología del microorganismo (Brandao, 2008).

En ovinos y caprinos se ha detectado ADN de *Leptospira spp.* en fluidos vaginales, al igual que en el semen de machos cabríos y ovinos. A pesar de que la transmisión venérea está bien establecida en la leptospirosis bovina, el papel de la transmisión de la enfermedad en caprinos y ovinos no ha sido investigada, la presencia de ADN de *Leptospira spp.* en el semen puede ser por contaminación por orina, sin embargo no se puede descartar la posibilidad de la transmisión venérea en estas especies (Brandao, 2008). Los ovinos y caprinos pueden desarrollar una infección renal crónica y mantener una leptospirosis por tiempo prolongado, las leptospiras también pueden ser encontradas en fetos abortados, mortinatos y descargas vaginales (Ristow *et al*, 2009). La transmisión por exposición directa o indirecta con orina de animales infectados es asociada con factores ambientales y estacionales que facilitan dicha exposición. De forma inversa, la transmisión venérea es menos influenciada por los factores antes mencionados, lo que puede llevar a convertirse en una enfermedad endémica haciéndola más difícil de controlar (Richtzenhain *et al*, 2008)

### **Factores de riesgo**

La Leptospirosis es considerada un problema de salud pública tanto por su amplia distribución, su resistencia ambiental y por ser una enfermedad zoonótica. Su presencia está íntimamente ligada a diferentes factores de riesgo como ambiental, zootécnico, cultural y social (Luna *et al*, 2005).

Estas características hacen que sea considerada como enfermedad profesional

para las personas que trabajan directamente con animales como los ganaderos, pastores, ordeñadores, tablajeros, veterinarios.

Entre los factores dependientes del agente etiológico, el de mayor importancia es el relativo a la resistencia de las bacterias fuera del hospedador. Son microorganismos bastante sensibles a las condiciones ambientales y los factores que determinan su supervivencia en el medioambiente como son: temperatura templada 28-30°C, ambiente húmedo, pH neutro o ligeramente alcalino y presencia de materia orgánica.

Las áreas con lagunas, riachuelos y bebederos en general, que congregan a un gran número de animales, son las que más frecuentemente están implicadas en los focos de Leptospirosis.

Estos factores van a propiciar la existencia de una cierta estacionalidad en la presentación de la enfermedad, principalmente con una mayor incidencia en el verano o época de lluvias y a comienzos del otoño (Andicoberry *et al*, 2001; Caino, 2006).

Últimamente se ha incrementado el número de infecciones relacionadas con actividades recreativas como la caza y la pesca. También se le ha observado en obreros que trabajan en alcantarillas, lavadores, trabajadores de rastros y arroceros (Caino, 2006), en si todos los pobladores dedicados exclusivamente a actividades agrícolas tienen mayor positividad seguido de otras actividades relacionadas con el contacto con suelos y fuentes de agua (Céspedes *et al*, 2001; Alfaro *et al*, 2007).

Se agrava por factores como, las deficiencias en las condiciones de saneamiento y la acumulación de basura, que promueve la expansión de los roedores, los cuales son portadores de la infección (Magalhães *et al*, 2006), los encharcamientos de agua contaminada con orina de animales infectados son un gran foco de transmisión, así como las placentas de animales abortados que se dejan en los corrales o que se llevan los perros de la localidad.

Al no existir un sistema de notificación confiable, es importante que las autoridades de salud pública puedan, sospechando que la Leptospirosis ocurre, investigar la ocurrencia de la enfermedad y su impacto en la salud humana mediante muestras clínicas, especialmente suero, pueden ser obtenidas de pacientes hospitalizados que sufran una enfermedad que se ajusta a la descripción clínica de la Leptospirosis (Musacchio *et al*, 2010).

Estas muestras deben ser examinadas en un laboratorio que ofrezca pruebas para Leptospirosis. De esta forma se obtendrá información sobre la ocurrencia de Leptospirosis severa y se pueden perder los casos leves debido a que es poco probable que estos casos sean hospitalizados.

Los médicos deberían por lo tanto ser invitados a enviar muestras de pacientes de la comunidad con sospecha de tener Leptospirosis a un laboratorio competente, y éstas deberían incluir muestras pareadas de suero (p.ej. con un intervalo de 14 días; por supuesto, el intervalo entre muestras sucesivas puede ser reducido si se necesitan resultados rápidos) y sangre completa (heparinizada) para cultivo.

### **Patología**

La *Leptospira* ingresa al organismo a través de heridas o erosiones de la piel y/o mucosas, produciendo rápidamente una infección sistémica llegando a todos los órganos causando daños tisulares (Albert *et al*, 2009; Caino, 2006), pueden asentarse en los túbulos contorneados de los riñones y ser eliminadas en la orina por un período de pocas semanas a varios meses. El período de incubación es usualmente de 5 -14 días, con un rango entre 2 y 30 días. (OMS, 2008). La movilidad que el microorganismo posee, así como su hialuronidasa lo capacitan para penetrar en los tejidos. Se piensa que toxinas y enzimas producidas por la *Leptospira* contribuyen en su patogenicidad, más estas hasta ahora no han sido aisladas (Laguna, 2000). Entre el quinto y séptimo día, aparecen, los anticuerpos y la eliminación de las leptospiras por la orina, hecho conocido como fase inmune o de leptospiruria (Caino, 2006). Los anticuerpos circulantes opsonizan a la *Leptospira*, provocando el cese de la bacteremia. Mientras los anticuerpos están presentes en la circulación las infecciones localizadas en tejidos y/o fluidos corporales persisten en los túbulos proximales de los riñones, humor acuoso en los ojos, así como en el tracto reproductor (Banda, 2006).

Las manifestaciones hemorrágicas son debidas a vasculitis y plaquetopenia. La hepatopatía se debe a colestasis intrahepática siendo mínima la necrosis hepatocelular. La nefropatía define la gravedad y el pronóstico de la enfermedad, pudiendo haber fallo renal agudo en la segunda semana. El sistema nervioso central se ve afectado a través de una meningoencefalitis (Caino, 2006). Principalmente se localizan en riñones, hígado,

especialmente en los túbulos renales y a nivel de hepatocitos. La presencia en los túbulos renales de las formas leptospirales determinan la fase de leptospiruria de duración variable en las diferentes especies (Feraud *et al*, 2005).

La enfermedad clínica aguda se relaciona con el daño a la glándula mamaria que pueden causar la mayoría de las cepas. La enfermedad crónica, que produce problemas reproductivos, es el resultado de la capacidad de las leptospiras para atravesar la placenta e infectar al feto, generando un aumento en el número de abortos y mortinatos (Ellis, 2001).

### **Inmunología**

Entre el quinto y séptimo día, aparecen, los anticuerpos y la eliminación de las leptospiras por la orina, hecho conocido como fase inmune o de leptospiruria (Caino, 2006). Los anticuerpos IgM aparecen, generalmente, más temprano que los anticuerpos de clase IgG y permanecen usualmente detectables por meses o aún años aunque con bajos títulos (OMS, 2008).

La inmunidad a la Leptospirosis es en gran parte humoral y es relativamente específico, por lo tanto la inmunidad solamente protege contra el serotipo homólogo o antigénicamente similar (Levett, 2001). Se cree que los anticuerpos contra serovar específicos, son protectores y que un paciente es inmune a la reinfección con el mismo serovar mientras que la concentración (título) de anticuerpos sea lo suficientemente alta. Anticuerpos provocados por la infección con un serovar particular no necesariamente protegen contra la infección con otros serovares (OMS, 2005). Por lo que las vacunas deben tener serovariedades presentes en la población a ser vacunada (Levett, 2001).

Dentro de la membrana externa, el lipopolisacárido (LPS) es el antígeno principal de *Leptospira spp*, el cual es estructural e inmunológicamente similar al LPS de organismos Gram-negativos (Adler, 2010).

## **Signos y lesiones**

Los signos de la Leptospirosis son inespecíficos por lo que suele confundirse con otros procesos infecciosos como brucelosis; asimismo en muchos animales cursa asintomáticamente y son considerados como portadores sanos y reservorios del agente infeccioso (Ristow, 2007).

La Leptospirosis puede presentarse con una diversidad de manifestaciones clínicas que pueden variar desde una enfermedad pseudo gripal leve hasta una enfermedad seria que puede llegar a ser fatal. La Leptospirosis también puede mimetizar otras enfermedades, como por ejemplo el dengue y otras enfermedades hemorrágicas virales.

La ictericia, es un signo relativamente común en Leptospirosis pero que también puede ser encontrado en otras enfermedades que involucran el hígado como las diversas formas de hepatitis. Otros signos son menos comunes y no son reconocidos como posibles indicadores de una infección por leptospiras.

La Leptospirosis en humanos puede mostrar una amplia variedad de síntomas y signos que incluyen: fiebre, dolor de cabeza severo, dolores musculares, inyección conjuntival, ictericia, malestar general, rigidez en la nuca, escalofríos, dolor abdominal, anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, oliguria/anuria, hemorragias, erupciones en la piel, fotofobia, tos, arritmia cardíaca, hipotensión, confusión mental, psicosis, delirio.

No existe ningún cuadro clínico de la Leptospirosis que sea característico de la enfermedad, por lo que siempre la sospecha clínica de la enfermedad debe ser confirmada mediante pruebas de laboratorio.

## **Tratamiento**

Se ha reportado que las cabras con enfermedad aguda responden a una combinación de antibióticos de estreptomina con penicilina. Una simple inyección intramuscular (IM) de estreptomina (25mg/kg) puede librar de leptospiras al riñón en la fase leptospiúrica. También la inyección IM de oxitetraciclina de larga acción

(25mg/kg) puede ser efectiva. El tratamiento paliativo con terapia de fluidos se debe de considerar debido a que la anemia y la potencial falla renal pueden desencadenar en nefritis intersticial (Smith *et al*, 2009).

En un estudio realizado en vacas, experimentalmente infectadas con la serovariedad Hardjo, se encontró que tanto la respuesta serológica como la diseminación de la enfermedad en la fase leptospirica fue significativamente menor en las vacas tratadas con estreptomicina en comparación de las no tratadas. Lo que sugiere que el tratamiento puede prevenir la diseminación de la enfermedad a través de la orina en zonas donde la enfermedad es endémica (Gerritsen *et al*, 1993).

### **Prevención y control**

Por causa del gran número de serovares y fuentes de infección y las amplias diferencias en las condiciones de transmisión, el control de la Leptospirosis es complicado y dependerá de las condiciones locales. El control puede ser alcanzado interviniendo el reservorio o reduciendo la infección en las poblaciones de animales reservorio tales como perros o ganado. El control de animales silvestres puede ser difícil. Las medidas preventivas deben estar basadas en el conocimiento de los grupos particularmente vulnerables a la infección y los factores epidemiológicos locales.

La prevención y control deben dirigirse a la fuente de infección la ruta de transmisión entre la fuente de infección y huésped humano y la infección o la enfermedad en el huésped humano.

Es importante establecer qué especies animales constituyen la fuente de infección en un área en particular pueden entonces ser orientadas o dirigidas a las especies de animales reservorios locales. Tales medidas incluyen:

- La reducción de una determinada población animal reservorio, p.ej. ratas.
- La separación de los animales reservorios de las viviendas humanas a través de cercas y mallas
- La inmunización de perros y ganado.

- Eliminación de la basura y mantenimiento de la limpieza en las áreas alrededor de las viviendas humanas.
- Motivación de la personas a no dejar alimentos a su alrededor, especialmente en áreas recreativas, en donde las ratas pueden estar presentes.

Es importante conocer los factores de riesgo para la infección humana y, si es posible, la fuente de infección. El riesgo de infección es minimizado, evitando el contacto con orina animal, animales infectados o un ambiente contaminado.

Donde sea apropiado, debe usarse ropa protectora y cubrir las heridas con ropa impermeable para reducir la probabilidad de infección, especialmente cuando existe la posibilidad de exposición, p.ej. exposición ocupacional o recreativa.

Los animales pueden ser inmunizados con vacunas que consisten en suspensiones de leptospiras muertas; la protección es serovar específica. La inmunización puede prevenir la enfermedad pero no siempre impide la evolución al estado de portador crónico con manutención de las leptospiras en los riñones.

Pequeñas áreas, tales como pisos, pueden ser limpiadas y desinfectadas, pero la desinfección de grandes áreas naturales tales como lagos y ríos no es posible. Las leptospiras mueren rápidamente con desinfectantes y con la desecación; sin embargo, las leptospiras eliminadas en la orina animal pueden sobrevivir en el ambiente desde semanas a meses bajo condiciones apropiadas, como suelos húmedos o aguas superficiales con un pH neutro o levemente alcalino.

### **Vacunas**

Las bacterinas previenen la enfermedad pero no previenen de la infección y diseminación del agente. La inmunidad a leptospirosis es de tipo humoral y es relativamente específica a la serovariedad.

La inmunización protege contra la enfermedad causada por serovariedades homologas o similares antigénicamente, por lo que se deben utilizar serovariedades presentes en la región o serovariedades relacionadas (Hernández *et al*, 2005).



## **Diagnóstico**

En cuanto a este diagnóstico, aislamiento de la *Leptospira*, es necesario mencionar que la fase de la enfermedad en que se encuentra el animal permite determinar el tipo de muestra que debe ser analizada, siendo imprescindible obtenerla en condiciones asépticas, pues la contaminación por otros microorganismos interfiere con el desarrollo de la *Leptospira* (Cisneros *et al*, 2003).

Desde el punto de vista del manejo clínico, es suficiente conocer si el paciente tiene leptospirosis o no. Sin embargo, desde el punto de vista de la salud pública, la tipificación puede dar una indicación de las fuentes de infección y los reservorios, y por tanto delimitar la selección de los métodos para una eventual prevención y control. Existe una cepa de referencia para cada serovar. Las colecciones de estas cepas de referencia son mantenidas en laboratorios de referencia y en otros laboratorios especializados. Además de las cepas de referencia, también se mantienen colecciones de antisueros de referencia. Idealmente todos los aislamientos deberían ser tipificados hasta el nivel de serovar, porque el concepto de serovar y la clasificación de serovares en serogrupos son ampliamente aceptados y usada en epidemiología. En general, determinar el serovar en un aislamiento proporcionará bastante información; complementariamente, la tipificación por métodos genéticos puede ser necesaria para describir adecuadamente una cepa.

La unidad sistemática básica para la clasificación es el serovar. El mismo puede ser determinado mediante la llamada prueba de absorción de aglutinación cruzada usando antisuero de conejo. Esta prueba es complicada y toma tiempo, por lo que no es apropiada cuando se necesitan resultados rápidamente y es utilizada solamente en unos pocos laboratorios especializados.

Varios métodos alternativos de tipificación han sido desarrollados, por ejemplo, existen dos métodos serológicos basados en el reconocimiento de las características antigénicas de las leptospiras que utilizan anticuerpos monoclonales o “suero factor”.

Otros métodos se basan en el examen de las diferencias en el ADN de las leptospiras y sus resultados son comparables en alguna medida con aquellos de la tipificación de los serovares.

Se han preparado anticuerpos monoclonales de conejo que aglutinan leptospiras y los serovares pueden ser identificados con base en patrones característicos de aglutinación. Preparar anticuerpos monoclonales es difícil y toma tiempo, pero usarlos en la MAT para serotipificar es fácil y da resultados rápidos. Actualmente están disponibles anticuerpos monoclonales para tipificar cerca de la mitad de los serovares más comunes actualmente reconocidos.

Los “suero factor” son sueros de conejo, convencionalmente preparados, que tienen una alta especificidad después de ser absorbidos por varias leptospiras. Paneles de “suero factor” pueden ser usados de manera similar a los anticuerpos monoclonales para identificar rápidamente las cepas a nivel de serovar. La preparación de “sueros factor” consume tiempo y la preparación de lotes no siempre conduce a resultados reproducibles.

El ADN de cada organismo viviente es único para ese organismo. Varios métodos de análisis de ADN están disponibles. El ADN puede ser procesado y fragmentos de ADN o productos obtenidos mediante su procesamiento pueden ser separados sobre geles, dando patrones que son, por lo general, característicos de las cepas de leptospiras. Los métodos basados en ADN suelen dar resultados útiles pero algunos son relativamente complicados y requieren de habilidad técnica y equipamiento especializado.

Si los aislamientos son enviados a centros de referencia, puede existir una larga demora en la obtención de los resultados. Además, el envío de aislamientos por correo o mensajería de acuerdo con regulaciones internacionales es costoso debido a las precauciones que deben ser tomadas para evitar derrames y riesgo de contaminación para aquellos que manipulan los especímenes. Por lo tanto sería preferible que la tipificación se realice en el lugar de aislamiento.

El diagnóstico es confirmado con pruebas de laboratorio, pero estas no están siempre disponibles, especialmente en países en desarrollo. Por estas razones la Leptospirosis es pasada por alto y subregistrada en muchas áreas del mundo.

Muestras de sangre aleatorias también pueden obtenerse de grupos de riesgo conocidos y ser examinadas para la presencia de anticuerpos antileptospira. Los miembros de tales grupos deben ser interrogados sobre alguna enfermedad en el pasado que pudiera haber sido deben ser examinadas para determinar seroprevalencia. También pueden tomarse muestras aleatorias de sangre de la población general sana y examinarlas para detectar anticuerpos. Sin embargo, este tipo de muestreo debe ser el menos útil de los métodos mencionados previamente. Es así que, en un estudio realizado en Hawai en un área de alta incidencia, se tomaron muestras de varios cientos de donantes de sangre pero se encontraron muy pocos títulos detectables de anticuerpos; la prevalencia general fue de aproximadamente 0,5%. La evaluación serológica de pacientes hospitalizados y ambulatorios con síndrome febril probablemente suministraría mejores pistas sobre la incidencia de Leptospirosis no reconocida, mientras que las muestras de sangre de personas pertenecientes a grupos de alto riesgo sería útil para evaluar o confirmar niveles endémicos de infección. Tales estudios de seroprevalencia reflejan la exposición pero no necesariamente la ocurrencia actual de la enfermedad. Las fuentes animales pueden ser identificadas por pruebas serológicas y por cultivo de tejidos y/o orina.

Las pruebas serológicas pueden proporcionar resultados rápidos, pero dar solamente una información limitada sobre las tasas de infección y los serovares circulantes. Los animales pueden portar las leptospiras sin presentar anticuerpos detectables.

Los cultivos están sujetos a contaminación y requieren de períodos prolongados de incubación de hasta 6 meses. Sin embargo, los cultivos pueden proveer una identificación definitiva del serovar infectante. Distintas especies animales se afectan de manera diferente por la enfermedad.

Los roedores usualmente no muestran signos de la enfermedad, pero una vez infectados, eliminan los organismos en su orina durante toda su vida. La enfermedad presenta diferentes patrones clínicos en perros, ganado bovino y porcino, los cuáles son considerados los animales domésticos reservorios primarios que pueden transmitir la enfermedad a humanos, si bien los caballos y otros animales también pueden ser afectados clínicamente. Encuestas en animales son útiles para determinar los reservorios primarios en una comunidad, la extensión de la infección en la especie y las posibles variaciones geográficas de las tasas de infección en esa especie.

La mayoría de las pruebas para leptospirosis no han sido evaluadas en profundidad en animales y algunas, como las pruebas de ELISA, requieren conjugados provenientes de la especie animal a ser evaluada, aunque se pueden utilizar la prueba de aglutinación del látex y las pruebas de hemaglutinación indirecta desarrolladas para humanos. La prueba de elección, si está disponible, es la MAT la que también puede proveer de alguna indicación del serogrupo/serovar causante de la infección. Sin embargo, el muestreo serológico en roedores resulta inapropiado ya que muchos de los animales infectados no muestran respuesta de anticuerpos. Para maximizar la sensibilidad del diagnóstico en roedores se requiere tanto de cultivo como de MAT.

Cultivar el tejido de riñón de animales muertos por eutanasia resulta el método más confiable para detectar la infección en animales. Sin embargo, las muestras de riñón (0,5 cm x 0,5 cm) deben ser extraídas asépticamente del animal, maceradas o cortadas en pequeñas secciones con instrumentos estériles e inoculadas en medio de cultivo conteniendo 5-fluorouracil o antibióticos apropiados para suprimir el crecimiento de contaminantes bacterianos, sin afectar la viabilidad de las leptospiras.

El muestreo de roedores requiere la captura de animales vivos, mientras que las encuestas en cerdos y ganado bovino pueden ser llevadas a cabo en mataderos después de haber sido sacrificado el animal y abierta la cavidad abdominal durante la evisceración.

El cultivo de la orina de animales domésticos vivos puede ser llevado a cabo, aunque es difícil y las muestras se contaminan fácilmente. Se debe administrar un

diurético para incrementar la producción de orina. Los genitales pueden ser lavados con una solución desinfectante (chlorohexidene) y deben ser secados con un pedazo de tela limpia y seca. Se debe eliminar la primera orina para prevenir mezclas y la orina ser colectada en un recipiente estéril. La muestra se debe procesar dentro de las dos horas siguientes, ser centrifugada y el sedimento inoculado en un medio de cultivo que inhiba el crecimiento de bacterias contaminantes como se describió arriba para muestras de tejido.

Muestras de agua y suelo pueden ser cultivadas y revisadas para el crecimiento de leptospiras patogénicas. Sin embargo estas pruebas pueden tomar varias semanas o meses y los resultados son por lo tanto retrospectivos y se aplican únicamente al tiempo y lugar en los cuales las muestras fueron obtenidas. Se puede tratar de realizar la PCR, pero las mismas desventajas aplican a las apuntadas en “PCR: ventajas y desventajas”, Animales experimentales han sido usados como centinelas.

La sensibilidad de los muestreos ambientales es pobre. Es importante tener en cuenta que las leptospiras saprofitas pueden vivir en ambientes en donde las leptospiras patógenas pueden ser eliminadas por animales y, por lo tanto, interferir en la detección de las leptospiras patógenas.

### **Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)**

Las pruebas serológicas constituyen el medio más ampliamente utilizado para el diagnóstico de la Leptospirosis, y la prueba de aglutinación microscópica (MAT) es la prueba serológica estándar. Los antígenos seleccionados para su utilización en la MAT deben incluir las cepas representativas de los serogrupos que se sabe que existen en la región concreta, además de aquéllos que se sabe que persisten en la especie objeto de estudio. Los enzimoimmunoensayos (ELISA) también pueden ser útiles para la detección de anticuerpos contra *Leptospira* spp. Se han elaborado numerosos ensayos que se utilizan principalmente para la detección de infecciones recientes, pero animales que han sido vacunados pueden dar resultados falsos positivos, dificultando la interpretación de los resultados (OIE, 2009).

La identificación de los aislamientos son realizados por laboratorios de referencia

especializados. El aislamiento seguido de la tipificación a partir de portadores renales es muy útil en los estudios epidemiológicos para determinar qué serovariedades están presentes en un grupo concreto de animales, en una especie animal o en una región geográfica, por lo que no se debe utilizar como una prueba de rebaño (OIE 2009).

### **Diagnóstico bacteriológico**

Se supone que las leptospiras saprofitas no causan enfermedad; aunque es posible encontrarlas, ocasionalmente, en cultivos provenientes de material clínico, el significado de su presencia es incierto. Su mayor importancia en microbiología médica es como contaminante de materiales supuestamente estériles o al menos libres de saprofitas. Pueden encontrarse en cultivos cuando no se pudo mantener la esterilidad durante la preparación del medio de cultivo, cuando se utilizaron ingredientes no estériles en la preparación del medio de cultivo o cuando las muestras clínicas no fueron obtenidas asépticamente.

Los métodos comúnmente usados para diferenciar leptospiras saprofitas y patógenas son los siguientes:

- Crecimiento en presencia de 8-azaguanina (225 mg/l) (Jonson & Rogers, 1964);
- Crecimiento a 13° C (Jonson & Harris, 1967);
- Conversión a formas esféricas en 1M NaCl (Jonson & Faine, 1984).

El crecimiento a 13° C en presencia de 8-azaguanine y la conversión a formas esféricas en 1M NaCl sugieren que las leptospiras son saprofitas. La prueba de ELISA, donde solo los antígenos de las leptospiras patógenas reaccionan con el anticuerpo monoclonal F9-4 puede ser también usada.

Algunas técnicas basadas en PCR han sido desarrolladas, las que distinguen entre *Leptospira* patógena y saprofita presentes en el agua (Murgia et al, 1997). La habilidad para distinguir entre leptospiras patógenas y saprofitas en el ambiente puede ser de gran valor para propósitos epidemiológicos y de salud pública.

## **Diagnóstico diferencial**

Debido a las variantes que pueden aparecer en las presentaciones de Leptospirosis en las distintas especies se debe diferenciar según las manifestaciones clínicas predominantes observadas dentro de la historia clínica, antecedentes particulares y animales patológicos de 15 a 20 días anteriores a la aparición de la enfermedad prestando mayor atención a las enfermedades febriles agudas y a las abortivas (Savio, 2002).

Se debe diferenciar la forma aguda y subaguda de la rickettsiosis, anaplasmosis, hemoglobinuria basilar, borreliosis, toxoplasmosis, envenenamiento por colrizada, hemoglobinuria post parturienta, anemia hemolítica aguda en crías.

La presencia de sangre en la leche es un signo característico que diferencia Leptospirosis de otras enfermedades (FAO, 2000).

Es muy importante la diferenciación con las enfermedades abortivas como brucelosis, en donde produce placentitis necrótica y los abortos suelen ocurrir al final de la gestación y es la enfermedad de la que se tiene mayor conciencia entre los caprinocultores del estado, sin embargo, se deben tomar en cuenta otras como:

Aborto enzootico, producido por *Chlamydophila abortus*, esta enfermedad produce abortos, mortinatos y nacimientos de crías débiles, el aborto se puede encontrar en cualquier momento de la gestación. (Diab et al, 2007).

Campilobacteriosis producido por *Campylobacter fetus*, que producen abortos y nacimiento de crías débiles. A diferencia de los bovinos, en el cual es una enfermedad venérea, la infección genital en cabras y ovejas ocurre luego de la infección intestinal y posterior bacteriemia. Los abortos se observan sobre todo en la segunda mitad de la gestación.

Listeriosis producida por *Listeria monocytogenes* puede producir abortos, por lo general sobre el fin de la gestación, o nacimiento de crías débiles.

La fiebre Q la cual es producida por *Coxiella burnetti*, provoca abortos y/o nacimiento de crías débiles, los abortos por lo general ocurren en la segunda mitad de la gestación.

Toxoplasmosis, producida por el *Toxoplasma gondii* que parasita las células endoteliales y es una común causa de muerte embrionaria y abortos en ovejas y cabras. Los abortos pueden ocurrir durante toda la gestación, pero son más frecuentes hacia el final de la misma. Para el diagnóstico diferencial de Leptospirosis en humanos hay un listado de enfermedades para considerar como: rickettsiosis, fiebre tifoidea, influenza, enfermedades entéricas, dengue, hepatitis virales, malaria, dengue hemorrágico, fiebre de origen desconocido (FOD), pielonefritis, infecciones por hantavirus, seroconversión primaria por VIH, meningitis aséptica, envenenamiento por alimentos, síndrome pulmonar por hantavirus, enfermedad de los legionarios, síndromes de dificultad respiratoria, toxoplasmosis, fiebre amarilla, mononucleosis infecciosa, enfermedades hemorrágicas de origen viral, faringitis y envenenamiento por químicos. (Vega *et al*, 2011).



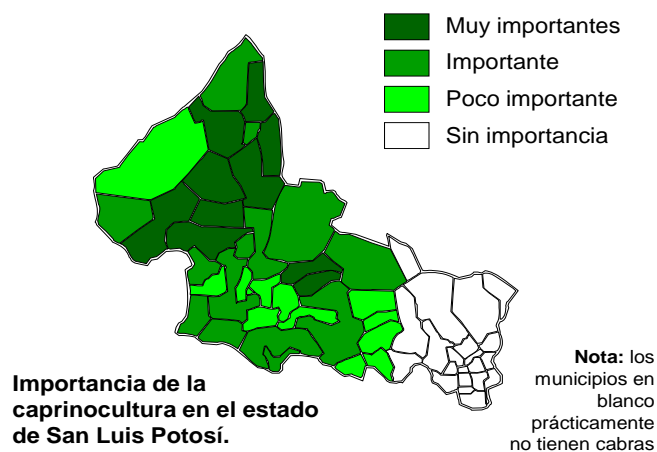
# MATERIALES Y MÉTODOS

## Lugar de estudio

El estado de San Luis Potosí se encuentra localizado en la altiplanicie central mexicana; sus coordenadas geográficas externas son: al norte 24°29', al sur 21°10' de latitud norte, al este 98°20', al oeste 102°18' de longitud oeste. La superficie total del estado es de 60,546.79 km<sup>2</sup> y representa aproximadamente el tres por ciento de la superficie total del país. (Sistema Integral de Información Geográfica y Estadística, año 2000 editado por el INEGI).

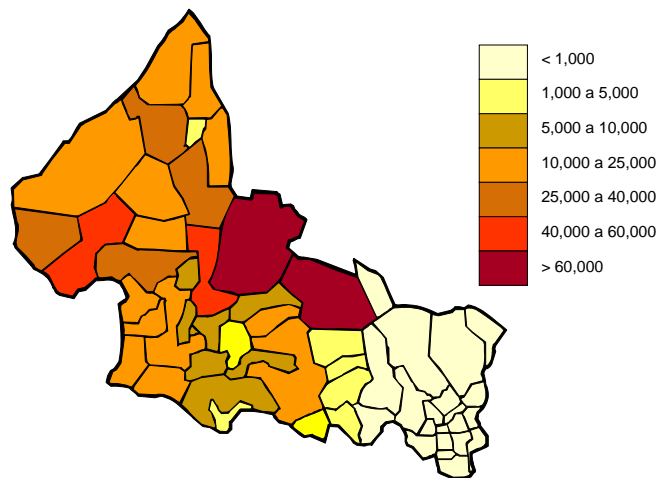
El estado está conformado por 58 municipios distribuidos y agrupados en 4 regiones geográficas conocidas como zona centro, región altiplano, zona media y zona huasteca, que difieren entre sí por su tipo de suelo, clima, vegetación, fauna, precipitación, etc.

El estudio epidemiológico se realizó en 15 municipios elegidos al azar entre los municipios con mayor inventario caprino (Figura 1) pertenecientes a las zonas centro, media y altiplano donde en general, se concentra la mayor densidad de población caprina en el estado. La zona Huasteca se considera sin importancia para esta ganadería. (fig.2).



**Figura 1.** Importancia de la caprino-cultura en el estado de San Luis Potosí. (INEGI 2007)

## INVENTARIO CAPRINO



**Figura 2.** Inventario caprino en el estado de San Luis Potosí. (INEGI 2007)

Los municipios seleccionados para el estudio fueron:

- **Zona Centro:** Santa María del Río, Villa de Reyes y Armadillo de los Infantes.
- **Zona Media:** Río Verde, San Nicolás Tolentino y Ciudad del Maíz.
- **Zona Altiplano:** Catorce, Charcas, Matehuala, Moctezuma, Guadalcázar, Salinas de Hidalgo, Venado, Villa Hidalgo y Villa de Ramos.

El municipio de Ciudad del Maíz, fue excluido del estudio por razones de seguridad, debido a que durante la fase de muestreo dicho municipio se consideró de alto riesgo de tipo social por la alta presencia de grupos delictivos en la zona.

Las muestras colectadas fueron enviadas para su procesamiento en el laboratorio de Leptospirosis en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID) en Microbiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), km. 15.5 Carretera México Toluca, Col. Palo Alto Cuajimalpa D.F. C.P. 05110.

### Tamaño de muestra

El número de muestras para el estudio se determinó de acuerdo con la metodología propuesta para el “Muestreo polietápico estratificado”. (Silva L.C. 2000).

Este es un proceso azaroso tomando como base los municipios que pertenecen a las 3 regiones (centro, media y altiplano) que integran la zona de mayor densidad caprina en el estado (Fig.3).

	2004	"n"		"n"		"n"		
CATORCE	30.380	30.380 **55	AHUALULCO	14.525	14.525	ALAIQUES	1.255	1.255
CDRAL	23.234	53.614	ARMADILLO DE LOS INFANTE	8.500	23.025 **16	CARDENAS	1.255	2.510
CHARCAS	19.019	72.633 **35	CERRO DE SAN PEDRO	5.150	28.175	CERRITOS	6.914	9.424
GUADALCAZAR	69.199	141.832 **128	MEXQUITIC DE CARMONA	32.100	60.275	CIUDAD DEL MAIZ	87.467	98.861 **159+159
MATEHUALA	19.667	181.519	SAN LUIS POTOSI	14.820	75.065	CIUDAD FERNANDEZ	5.600	102.691
MOCTEZUMA	38.900	200.319 **71	SANTA MARIA DEL RIO	8.900	83.665 **16	LAGUNILLAS	1.216	103.907
SALINAS DE HIDALGO	50.210	250.529 **91	SOLEDAD DE GRACIANO SANCHEZ	8.750	92.645	RAYON	1.772	105.679
SANTO DOMINGO	12.300	282.829	TIERRANUEVA	4.400	97.045	RIO VERDE	18.084	123.753
VANEGAS	17.401	280.230	VILLA DE ARRIAGA	25.700	122.745	SAN CIRO DE ACOSTA	1.200	124.863
VENADO	20.051	300.261 **37	VILLA DE REYES	22.350	145.065 **41	SAN NICOLAS TOLENTINO	1.720	126.663 **4
VILLA DE ARISTA	8.550	308.831	ZARAGOZA	5.500	150.585	SANTA CATARINA	793	127.476
VILLA DE GUADALUPE	25.182	334.013		150.585		VILLA JUAREZ	10.635	138.111
VILLA DE RAMOS	35.153	388.169 **94						
VILLA HIDALGO	50.910	420.076						
VILLA LA PAZ	2.698	422.774						
	422.774							

\*\*Ciudad del Maiz tiene el doble de tamaño muestral en base a la población caprina reportada.

Figura 3. Tamaño de muestra y municipios a muestrear.

Se eligió primero al azar a nivel de municipio, posteriormente a nivel de comunidad y luego a nivel de explotación. El proceso azaroso se ve interrumpido a nivel de explotación donde se realiza a nivel de productor cooperador.

Se retoma el azar dentro de cada explotación al realizar la selección de los animales a muestrear de la población caprina existente al momento de la visita donde se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión.

### **Criterios de inclusión**

Se muestrearon solamente hembras mayores al año de edad, así como los sementales y machos jóvenes.

Todos los animales en la muestra estaban clínicamente sanos y fueron elegidos al azar al momento de la visita y no se tuvo preferencia por animales que hayan abortado o que hayan tenido problemas reproductivos.

Los caprinos que integraron la muestra fueron obtenidos de la población encontrada al momento de la visita y que cumplió con los criterios de inclusión establecidos, esto es, si de 200 caprinos solo 90 cumplen con los criterios, el muestreo se realizará tomando en cuenta solo esos 90 y en base a la tabla de muestreo que se adjunta. "n" (Cuadro 4).

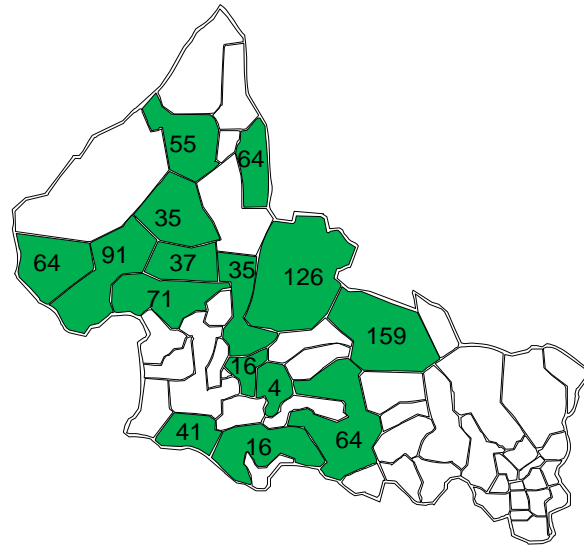
El tamaño de muestra dentro de la explotación visitada se realizó mediante la fórmula de Cannon y Roe en la cual proporciona los tamaños requeridos de muestra para detectar la presencia de enfermedades con un 95% de confiabilidad para muestrear por lo menos a un animal si la enfermedad se encuentra presente a nivel especificado.

#### **Cuadro 4.** Tamaño de muestra necesario en la unidad productiva.

Bajo una prevalencia del 20%

Población	"n"
1- 5	Todos
6-7	6
8-9	7
10 – 11	8
12 – 15	9
16 – 21	10
22 – 32	11
33 – 58	12
59 – 189	13
190 o más	14

**Municipios que se muestrean y cantidad de muestras en cada municipio**



Municipio	No muestras
Catorce	55
Charcas	35
Venado	37
Moctezuma	71
Salinas	91
Villa de Ramos	64
Villa de Reyes	41
Sta María del Río	16
Armadillo de los Infante	16
San Nicolás Tolentino	4
Matehuala	64
Guadalcazar	126
Cd del Maíz	159
Río Verde	64
Villa Hidalgo	35

**Figura. 4.** Tamaño de muestra por municipio

**Fase de campo**

Se realizaron visitas calendarizadas a los municipios para elegir las comunidades contactando a los productores de manera directa y en algunas ocasiones a través de los comisarios ejidales y encargados de los programas de desarrollo agropecuario de algunas presidencias municipales y personal técnico de los distritos de desarrollo rural de la SAGARPA.

Durante las visitas se invitó a los productores a participar en los muestreos, se instruyó sobre la finalidad del estudio y se establecieron las fechas y horas de la visita.

Se recabaron datos para la preparación del material de muestreo de manera anticipada mediante etiquetas de identificación y se establecieron las fechas de visita.

Los muestreos se realizaron durante los meses de mayo del 2010 a enero del 2011 con un total de 704 muestras en 41 comunidades rurales y 55 unidades productivas visitadas (Cuadros 4 y 5).

**Cuadro 5.** Relación de comunidades visitadas en los municipios seleccionados.

Región	Municipio	Comunidades
<b>Zona Altiplano</b>	Charcas	Noria de Cerro Gordo
	Catorce	Ej. Tanque de Dolores, Lavaderos
	Villa Hidalgo	El Coyote
	Matehuala	Buenavista, Hernández Morin, Maravillas,
	Venado	Ejido venado, Santa Rita, Coronado, Zona de riego, El ranchito
	Salinas de Hidalgo	San Juan sin agua, La Lomita, El Alegre, La Mielera, Las Minas,
	Moctezuma	Santa Catarina, Morados, Santa Rita
	Guadalcazar	Fuerte del lobo, Fuerte de la bota, Las Negritas, El Chilar, El Realejo, El Peyote
	Villa de Ramos	Emiliano Zapata, Ejido San Pablo, Ejido Pocitos
<b>Zona Centro</b>	Armadillo de los Infante	Pozo del Carmen, Puerta del refugio
	Villa de reyes	Col. San ignacio, Zotolillo
	Santa María del río	San Juan Capistrano
<b>Zona Media</b>	Rio verde	La Divina Pastora, El Chamizal, San Pablo, 20 de Noviembre
	San Nicolas Tolentino	Cabecera Municipal

**Cuadro 6.** Total de comunidades, unidades de producción y número de muestras obtenidas por región.

Región	Municipio	Comunidades	Unidades de producción	No. De muestras
<b>Zona Altiplano</b>	Charcas	1	3	35
	Catorce	1	3	55
	Villa Hidalgo	1	1	35
	Matehuala	3	5	64
	Venado	5	5	37
	Salinas de Hidalgo	5	7	92
	Moctezuma	3	6	71
	Guadalcazar	6	9	126
	Villa de Ramos	3	3	48
	<b>TOTAL</b>	<b>28</b>	<b>42</b>	<b>563</b>
<b>Zona Centro</b>	Armadillo de los Infante	2	2	16
	Villa de reyes	4	4	41
	Santa María del río	2	2	16
	<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>73</b>
<b>Zona Media</b>	Rio verde	4	4	64
	San Nicolas Tolentino	1	1	4
	<b>TOTAL</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>68</b>

## **Material y equipo para muestreo**

Agujas calibre 21, tubos con sistema de vacío sin anticoagulante de 13x100mm., porta agujas, gradillas para tubo de ensayo, torundas con alcohol, cubre bocas, guantes de látex, cinta adhesiva, marcador indeleble punto fino, etiquetas de identificación adheribles pre-marcadas, crayón para marcar ganado, mesa plegable, hielera plástica para conservación y transporte de muestras, bolsas de plástico, contenedor plástico para desechos, hieleras de unicel para envío de muestras, refrigerantes, tabla de apoyo, encuestas epidemiológicas por unidad de producción y por animal a muestrear, sobres de papel tamaño carta, equipo GPS para tomar coordenadas de las unidades de producción, centrífuga, congelador, palillos de madera para hisopo, viales Ependorf, guías de tránsito pre pagadas para mensajería.

## **Toma de muestras**

Se realizó mediante venopunción identificando la vena yugular en el animal a muestrear, limpiando el área con una torunda con alcohol en dirección ventro craneal y posteriormente en dirección cráneo ventral. Se introdujo la aguja en dirección ventro-craneal en ángulo de 45°; al caer las primeras gotas de sangre de la aguja se colocó el tubo vacutainer evitando perder el vacío. Una vez colectados 5 mililitros se retiró el tubo, la aguja y se identificó con las etiquetas auto adheribles con el número consecutivo de muestra y se marcó al animal con el crayón.

Se colocó la muestra de sangre en la gradilla y dentro de la hielera plástica dejando el tubo de forma horizontal y a la sombra por un par de horas sin refrigerar para que la muestra coagulara y soltara suficiente suero evitando que se hemolizara. Se armaron paquetes con las muestras separadas e identificadas de cada unidad de producción.

Posterior a las 2 horas se refrigeró en hielera de plástico con refrigerantes a 4° C para su traslado al laboratorio. (Fig. 5)



**Figura. 5.** Toma y envío de muestras Tamaño.

### **Envío de muestras**

La extracción del coágulo se realizó posterior a las dos horas de haber tomado la muestra de sangre, colocando el tubo en forma vertical, abriéndolo lenta y cuidadosamente para que el coágulo se adhiriera al tapón (cuando está en posición horizontal) y pudiera ser extraído con un palillo largo de madera (regularmente utilizados para hacer hisopos). Para la obtención de suero totalmente limpio se centrifugaron las muestras de 3 000 a 5 000 rpm durante 10 min.

El suero centrifugado se extrajo con pipetas Pasteur y una bombilla de goma y se vació en viales de plástico Ependorf de 2 ml identificando la muestra con etiquetas adheribles con fecha, lugar, identificación del animal, sexo e identificación de la explotación, protegiendo la etiqueta con cinta adhesiva transparente y formando paquetes identificados por unidad de producción en bolsas de plástico para su congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Los sueros congelados se empacaron con refrigerantes en hieleras de unicel previamente identificadas con su guía de tránsito para su envío por sistema de mensajería al CENID Microbiología animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias INIFAP en Palo alto México, D.F para su análisis. (Fig. 10)



## **Encuestas epidemiológicas**

Mientras se realizaba el muestreo se levantaron los datos para las encuestas epidemiológicas utilizando una encuesta general con los datos del productor, ubicación de la explotación, tipo de producción, tamaño de la majada, manejo, hábitos de alimentación, procedencia, épocas de parición, empadres, antecedentes de abortos, enfermedades, malformaciones y mortalidad; producción de leche, métodos y condiciones de ordeña, conservación y destino de los productos; inmunizaciones, desparasitaciones, manejo sanitario, convivencia de la majada con otras especies, manejo de desechos, tipo de corral, hábitos de limpieza de estos, y control de roedores.

Se utilizó una cédula individual por cada animal muestreado conteniendo datos como ubicación, número de identificación para el muestreo, número de arete, edad, sexo, peso, raza, tipo de animal, condición corporal, origen, antecedentes de enfermedades, tratamientos, abortos, inmunizaciones, desparasitaciones, producción de leche, últimos calores y empadres y si se prestaba a otros productores.

Se realizó el geo posicionamiento registrando la ubicación de la unidad productiva mediante el uso de un equipo GPS para su posterior mapeo.

Por medio de los cuestionarios se obtuvieron los datos necesarios para el análisis de las variables que pudieran estar relacionados con la prevalencia de Leptospirosis en las unidades productivas muestreadas.

## **Base de datos**

Se capturaron y codificaron los datos recabados en las encuestas epidemiológicas en dos bases de datos, una para los cuestionarios generales y otra para los individuales.

Una vez completada se utilizó el programa Stata versión 7 para su análisis, obtención de la prevalencia de Leptospirosis y la relación entre las variables consideradas en las encuestas.

## **Fase de Laboratorio**

Se realizó en el laboratorio de Leptospirosis del departamento de Microbiología Animal en las instalaciones del Centro Nacional de Investigaciones CENID del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias INIFAP en Palo Alto, México D.F.

El procedimiento e interpretación de la prueba se realizó como se describe en el Manual del Laboratorio de Leptospirosis, CENID-Microbiología Animal, INIFAP durante los meses de Junio del 2010 a Julio del 2011.

El diagnóstico serológico indirecto de las diferentes serovariedades se realizó a las 704 muestras colectadas por medio de la Técnica de Aglutinación Microscópica MAT conforme fueron llegando al laboratorio.

Se realizó al suero una dilución inicial en 1:10 y posteriormente diluciones dobles seriadas a partir de 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, y 1:320 de todas las muestras de suero obtenidas empleando una batería de 4 serovariedades de *Leptospira interrogans* de referencia internacional que se encuentran entre las mayor prevalencia en el ganado caprino (Bratislava, Hardjo, Tarasovi, y Wolffi) y dos aislamientos Nacionales: la cepa “Inifap” (serovariedad Hardjo) y la cepa “Palo Alto” (serovariedad Icterohaemorrhagiae) que fue obtenida de un canideo de 3 meses de edad, que presentó un cuadro clínico de Leptospirosis aguda (Luna *et al*, 2008).

El antígeno empleado fue tomado asépticamente del cepario de diagnóstico en turno (cuadro 7) y fue verificado en el microscopio de campo oscuro revisando que el 100% de las leptospiras estuvieran viables y libres de aglutinación.

Concluidas las diluciones se realizaron las lecturas considerando las muestras como negativos a los sueros con 0 % de aglutinación, sospechosos a los sueros que a la dilución 1:20 menores tuvieron 25% de aglutinación y positivos aquellos sueros que a la dilución 1:40 o superior, mostraron 50 % de aglutinación o desaparición de células del campo a la observación con el microscopio de campo oscuro.

### **Preparación de soluciones y medios de cultivo**

Se preparó una solución Amortiguadora de fosfatos o PBS, reactivo rojo de fenol, medio de Cox modificado, y Suero de conejo filtrado y purificado para mantener el cepario de diagnóstico y antes de realizar la prueba de aglutinación microscópica MAT.

### **Mantenimiento del cepario de diagnóstico**

El objetivo fue la conservación de las características antigénicas del cepario para el diagnóstico de leptospirosis en animales y humanos. (Cuadro 7).

Se limpió con una solución de alcohol al 66% el área de trabajo, colocando en cada extremo un mechero. Se rotularon los tubos con 10 ml del medio de Cox con fecha y serovariedad y preparados para trabajar en condiciones de esterilidad, se agregó 1 ml de suero estéril de conejo a cada tubo. Tras la prueba de esterilidad se agregó 1ml del medio de cultivo del cepario anterior al nuevo medio de cultivo. Las cepas fueron incubadas por 4-7 días a una temperatura de 28 a 30°C en la estufa bacteriológica. Se comprobó el crecimiento de las bacterias a través del microscopio de campo oscuro al finalizar el periodo de incubación. El cepario fue almacenado en un lugar fresco y oscuro, haciendo la resiembra cada 21 días.

**Cuadro 7.** Mantenimiento del cepario de diagnóstico del departamento de microbiología del CENID INIFAP.

<b>Especie</b>	<b>Serogrupo</b>	<b>Serovariedad</b>	<b>Cepas</b>
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	Jes-Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Sejröe	Wolffi	3707
<i>L. interrogans</i>	Sejröe	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
<i>L. interrogans</i>	Sejröe	Hardjo	Hardjoprajitno H-89*
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Palo Alto*
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Portland-vere	Sinaloa ACR *

\* Aislamientos nacionales.

### **Purificación de cepas**

Se llevó a cabo con el objetivo de mantener la pureza de los cultivos, libres de agentes contaminantes. Con una jeringa estéril se tomaron 3 ml del cultivo contaminado, se retiró la aguja y se colocó en un filtro Millipore (swinex) con una membrana de 0.22 $\mu$ . El filtro se colocó sobre un tubo estéril y se presionó el embolo de la jeringa hasta pasar todo su contenido.

Se revisó el filtrado a través del microscopio de campo oscuro para verificar que no existieran contaminantes. Se sembró en medio de Cox e incubar a 28-30°C hasta obtener un buen crecimiento. Para verificar que el cultivo estaba puro, se sembró una caja de gelosa sangre y una de agar Sabourand.

La caja de gelosa sangre se colocó a 37°C durante 24 a 72 horas, mientras que la caja de agar Sabourand a 20 °C durante una semana. En caso de no existiera contaminación el cultivo de *Leptospira* se mantendría a temperatura ambiente, hasta su uso.

### **Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT)**

El objetivo de esta prueba serológica es evaluar la presencia de anticuerpos para Leptospirosis.

### **Material**

Tubos de ensaye	Gradillas
Canaletas con tapa	Solución de alcohol al 66%
Microplacas serológicas de 96 pozos.	Micropipeta multicanal
Pipetas	Mecheros
Puntas	Cepario de diagnóstico

### **Diluciones:**

- Animales de laboratorio, producción, mascotas y fauna silvestre se requiere de una dilución 1:50.
  1. Tomar una pipeta con 2.4 ml de PBS (solución amortiguadora de fosfatos) y depositarlo en un tubo de ensaye.
  2. Del suero a evaluar tomar 0.1 ml y agregarlo en un tubo con PBS.

Obteniendo así una dilución inicial de 1:25, la cual será transformada en la placa posteriormente a 1:50

### **Humanos y evaluación de bacterinas se requiere una dilución 1:20.**

1. Tomar una pipeta con 1.8 ml de PBS (solución amortiguadora de fosfatos) y depositarlo en un tubo de ensaye.
2. Del suero a evaluar tomar 0.2 ml y agregarlo en un tubo con PBS. Obteniendo así una dilución inicial de 1:10, la cual será transformada en la placa posteriormente a 1:20
3. Una vez que se obtiene la dilución inicial; se procede a colocar en la micro placa serológica 50 micro litros ( $\mu$ l) de PBS en el segundo y tercer pozo con la micro pipeta multicanal y puntas, dejando el primer pozo vacío. También se deberá colocar 50  $\mu$ l de PBS a los pozos destinados para el control.
4. Posteriormente el contenido del tubo de ensaye “dilución inicial” se vierte en una tapa.
5. Se cambian las puntas de la micro pipeta y se toman 50  $\mu$ l de la dilución y son depositados en el primer pozo, se toman otros 50 $\mu$ l y se revuelven en el segundo pozo tomando 50  $\mu$ l que pasaran al tercer pozo donde se revuelven y se toman nuevamente 50 $\mu$ l los cuales serán desechados (figura 6).
6. Encender dos mecheros cada uno con un radio de cobertura de 15 a 20 cm entre ellos. Y limpiar con una solución de alcohol al 66%.
7. Llevar a esta área la micro placa preparada y el cepario de diagnóstico.
8. Se toma asépticamente 0.7 ml o la cantidad que sea necesaria de la cepa a evaluar, se vacía en una canaleta (se va a cambiar de pipeta para cada toma de diferente cepa).
9. Adicionar 50 $\mu$ l de la cepa a cada uno de los pozos correspondientes a la cepa incluyendo el control (No revolver). Realizar el mismo procedimiento para cada una de las cepas restantes, cambiando de puntas para cada una (figura 7).
10. Se someten a un periodo de incubación de una 1 hora en la cámara húmeda.
11. Al término de la incubación se procede a realizar la lectura de la prueba.

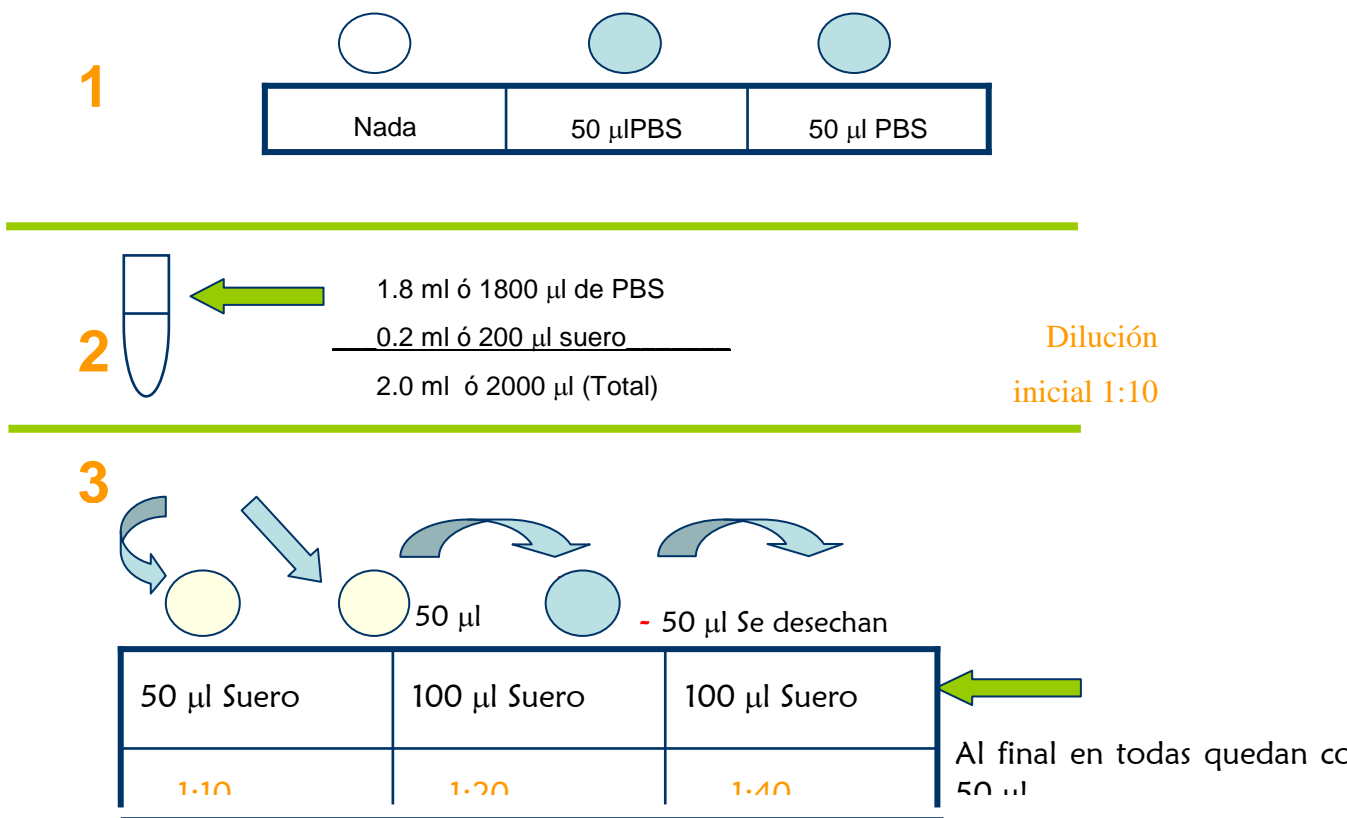


Figura 6. Dilución inicial 1:10. Aplicación de la técnica de aglutinación microscópica.

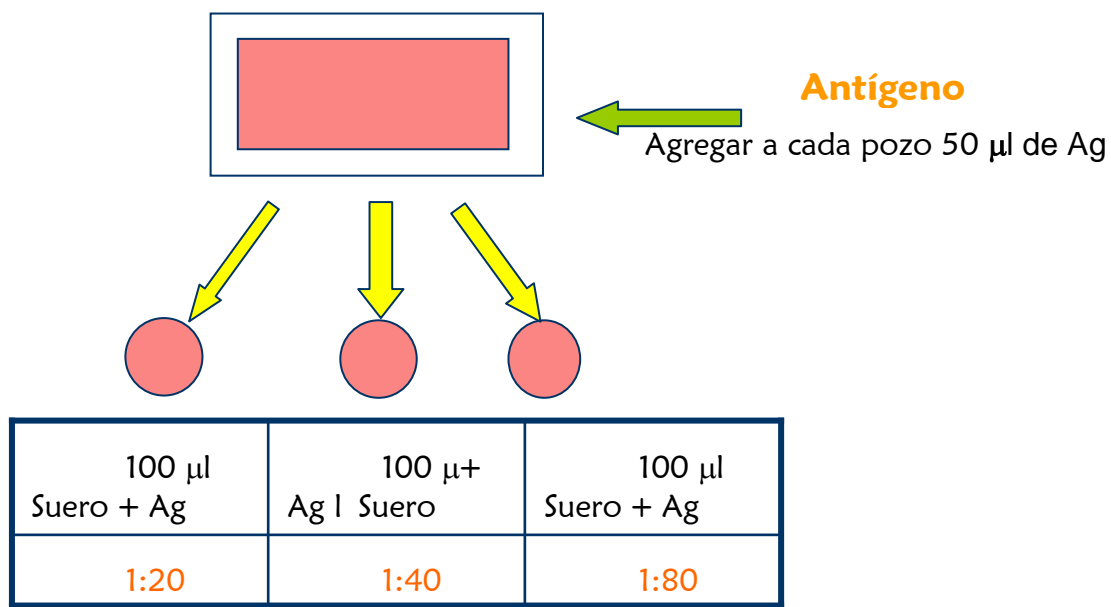


Figura 7. Dilución final 1:20 al añadir el antígeno a los pozos de la microplaca.

## Lectura de la técnica de Aglutinación Microscópica (MAT)

Tiene como objetivo registrar el grado de aglutinación de cada antígeno en relación con el antígeno control según la escala.

### Procedimiento

Para la interpretación de la prueba de MAT, se observan las aglutinaciones en el microscopio de campo oscuro (10x) empleando una escala arbitraria en la cual recibe un puntaje, según el grado de aglutinación o desaparición de células y el porcentaje de leptospiras libres.

**Cuadro 8.** Escala utilizada para el puntaje de aglutinación para la prueba MAT.

<b>0</b>	Negativo o control sin aglutinación	100% de Leptospiras libres
<b>1</b>	25% de aglutinación	75% de Leptospiras libres
<b>2</b>	50% de aglutinación	50% de Leptospiras libres
<b>3</b>	75% de aglutinación	25% de Leptospiras libres
<b>4</b>	100% de aglutinación	0% de Leptospiras libres

La lectura se realiza calculando la desaparición de células libres/en el campo así como la detección de la aglutinación, que puede ser en forma de "Cabezas de medusa" o como "red desgarrada".

(Imágenes tomadas del manual de Leptospirosis CENID-Microbiología Animal).



aglutinación común  
cabeza de medusa



otro tipo de aglutinación

**Figura 8.** Formas en que las células se pueden aglutinar



## RESULTADOS

En el presente estudio de las 704 muestras obtenidas y procesadas se encontró que el 45.45% (320/704) de la población muestreada presentó títulos de anticuerpos contra al menos una de las serovariedades de *Leptospira interrogans* en las diferentes regiones del estado de San Luis Potosí (Fig. 10).

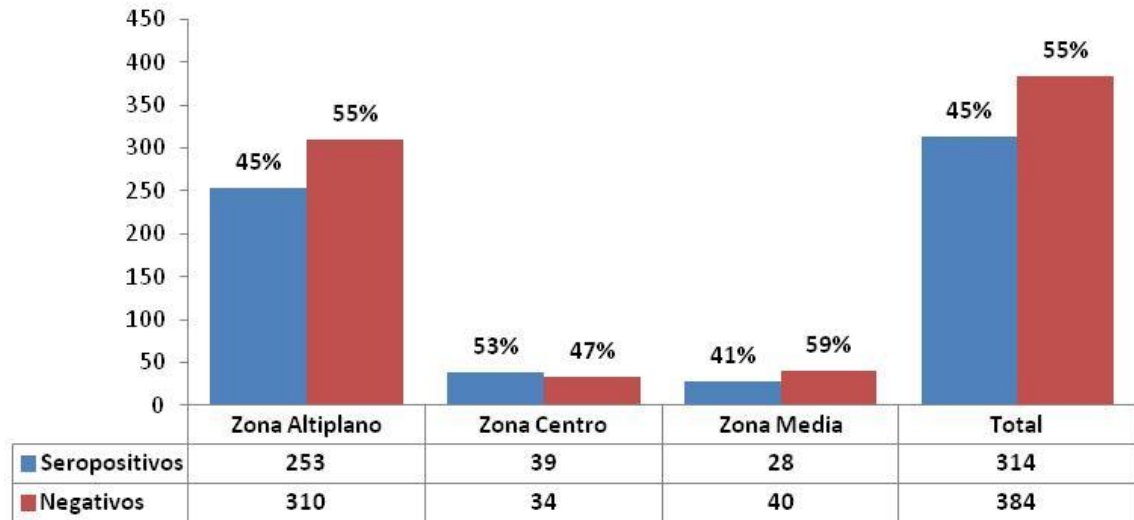


**Figura 10.** Número y porcentaje de muestras seropositivas y negativas a la prueba de aglutinación microscópica MAT a las diferentes serovariedades de *Leptospira interrogans* en el Estado de San Luis Potosí.

Se observó que en la Zona Altiplano, región donde se concentra la mayor densidad de población caprina en el estado, de las 563 muestras obtenidas, 253 (44.94%) resultaron positivas al menos una serovariedad de *Leptospira interrogans* con 310 (55.06%) negativos a la prueba de aglutinación microscópica MAT.

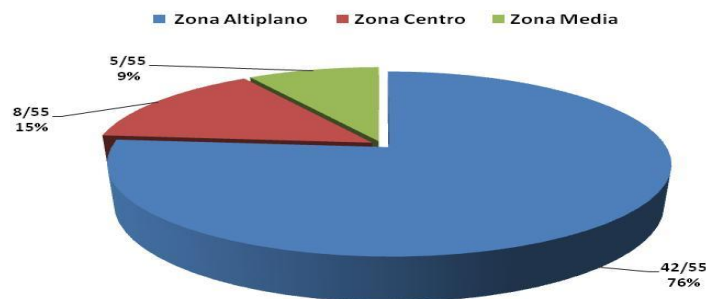
En la Zona Centro de 73 muestras, 39 (53.43%) resultaron seropositivas al menos a una serovariedad de *Leptospira interrogans* con 34 (46.57%) muestras negativas a la prueba de aglutinación microscópica MAT.

En la zona media de 68 muestras, 28 (41.18%) resultaron seropositivas al menos a una serovariedad de *Leptospira interrogans* con 40 (58.82%) muestras negativas a la prueba de aglutinación microscópica MAT (Fig. 11).



**Figura 11.** Número y porcentaje de muestras seropositivas y negativas a la prueba de aglutinación microscópica MAT para a las diferentes serovariedades de *Leptospira interrogans* por región.

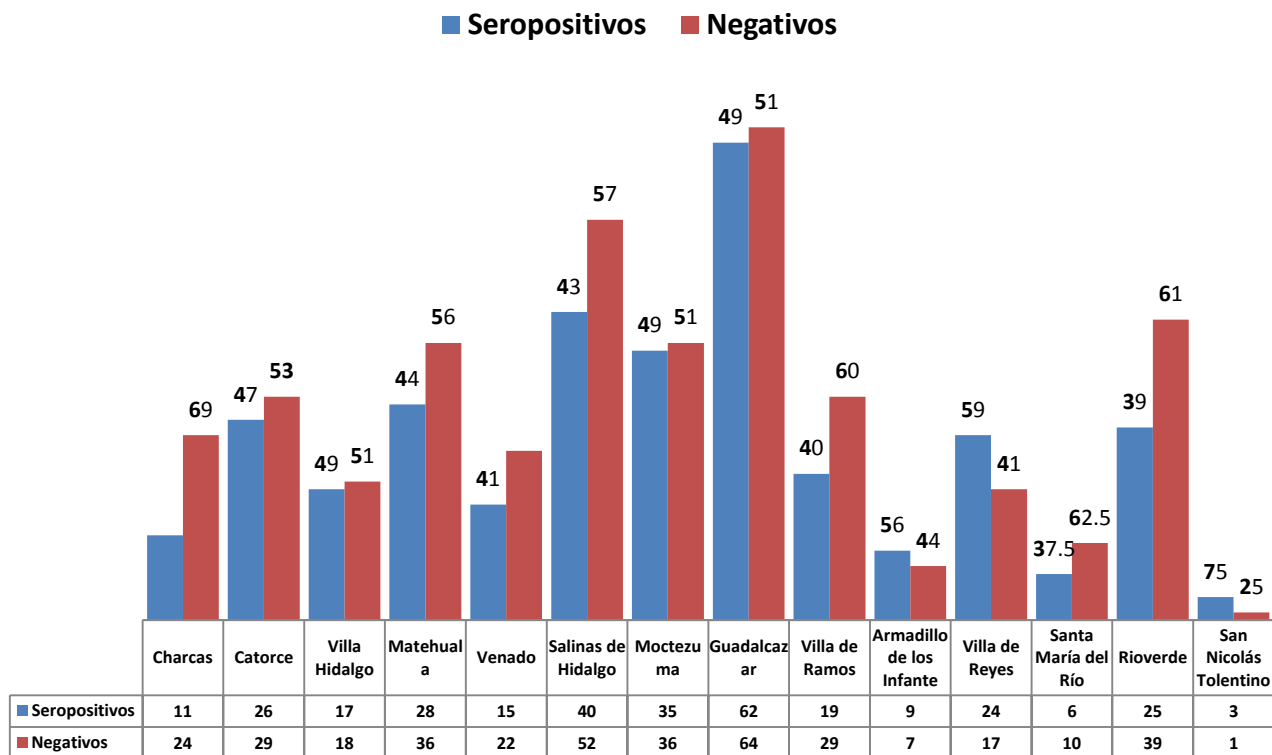
En la Zona altiplano las 42 unidades de producción visitadas (76.36%) resultaron positivas, de igual manera en la Zona Centro con 8 (14.54%) en la Zona media (9.09%) también se encontraron positivas al menos a una serovariedad de *Leptospira Interrogans*. (Fig. 12)



**Figura 12.** Porcentaje de unidades de producción seropositivas a la prueba de aglutinación microscópica MAT para *Leptospira Interrogans* por región.

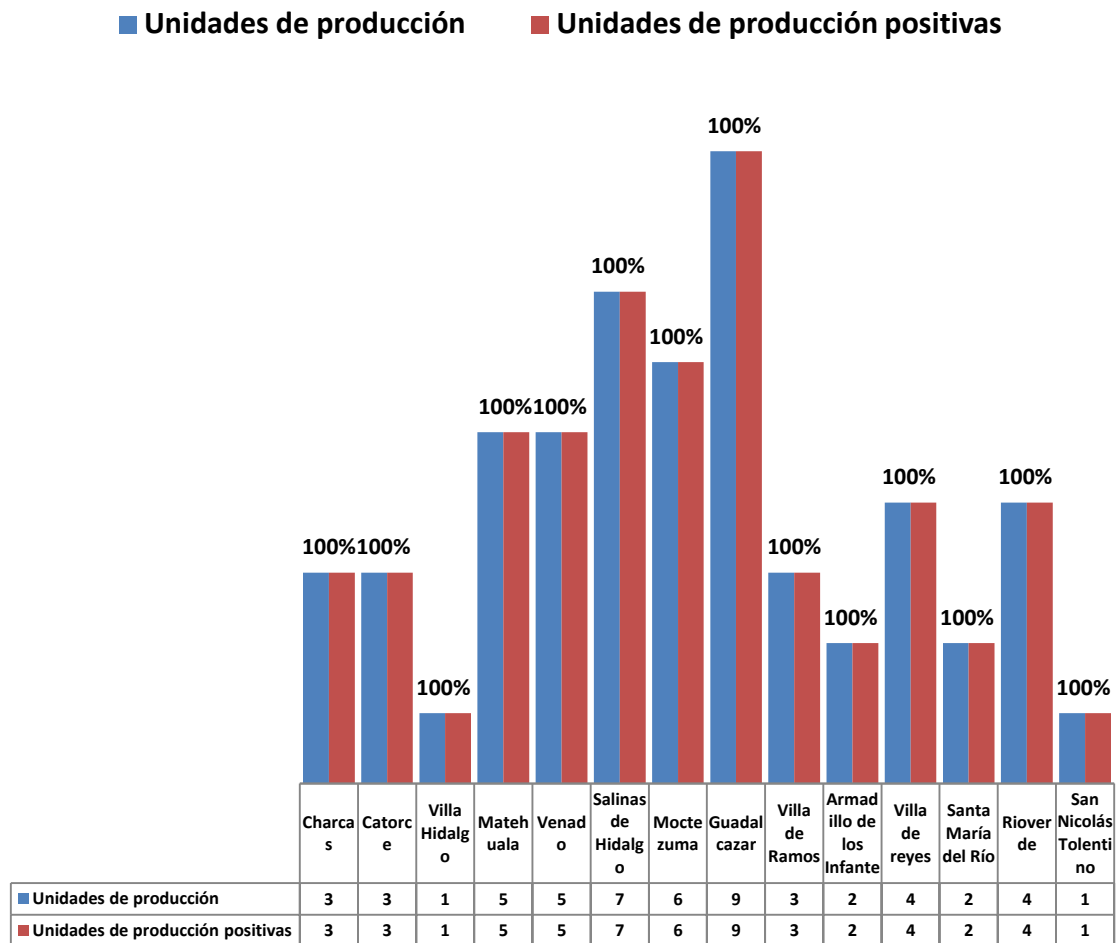
Podemos afirmar que tanto la zona altiplano, la zona centro y la zona media son seropositivas a por lo menos una serovariedad *Leptospira interrogans*. A nivel de municipios pertenecientes a las 3 regiones seleccionadas para este estudio, al total de los catorce se les considera seropositivos a la prueba de aglutinación microscópica (MAT) (100%) al menos a una serovariedad de *Leptospira Interrogans*.

Se encontró un porcentaje de 31.43% de las muestras seropositivas en Charcas (11/24), 47.27% en Catorce (26/29), 48.57% en Villa Hidalgo (17/18)), 43.75% en Matehuala (28/36), 40.54% en Venado (15/22), 43.48% en Salinas de Hidalgo (40/52), 49.3% en Moctezuma (35/36), 49.21% en Guadalcazar (62/64), 39.58% en Villa de Ramos (19/29), 56.25% en Armadillo de los Infante (7/9), 58.54% 24 en Villa de Reyes (24/17), 37.5% en Santa María del Río (6/10), 39.06% en Rio Verde (25/39) y 75% en San Nicolás Tolentino (1/3). (Fig. 13)

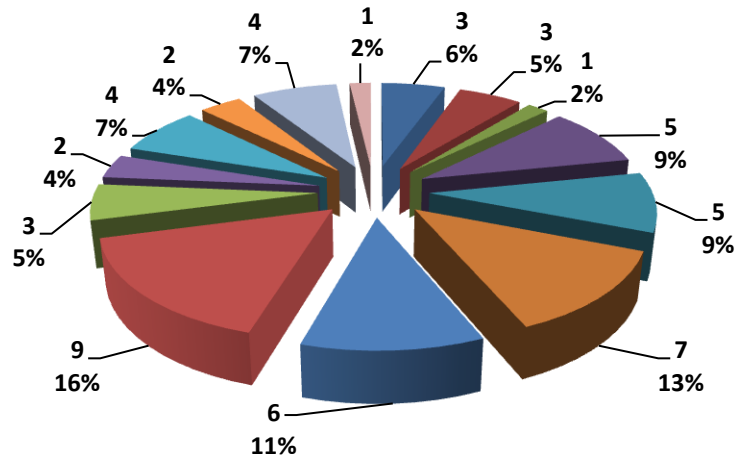
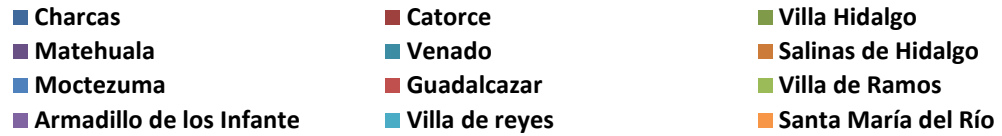


**Figura 13.** Número de seropositivos y negativos a la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para *leptospira interrogans* por municipio. Los valores encima de las barras están en porcentaje (%)

A nivel de unidades de producción, del total de las 55 unidades visitadas las 55 dieron positivas al menos a una serovariedad de *Leptospira Interrogans* a la prueba de aglutinación microscópica MAT, equivalentes al 100% del total (Fig. 14).



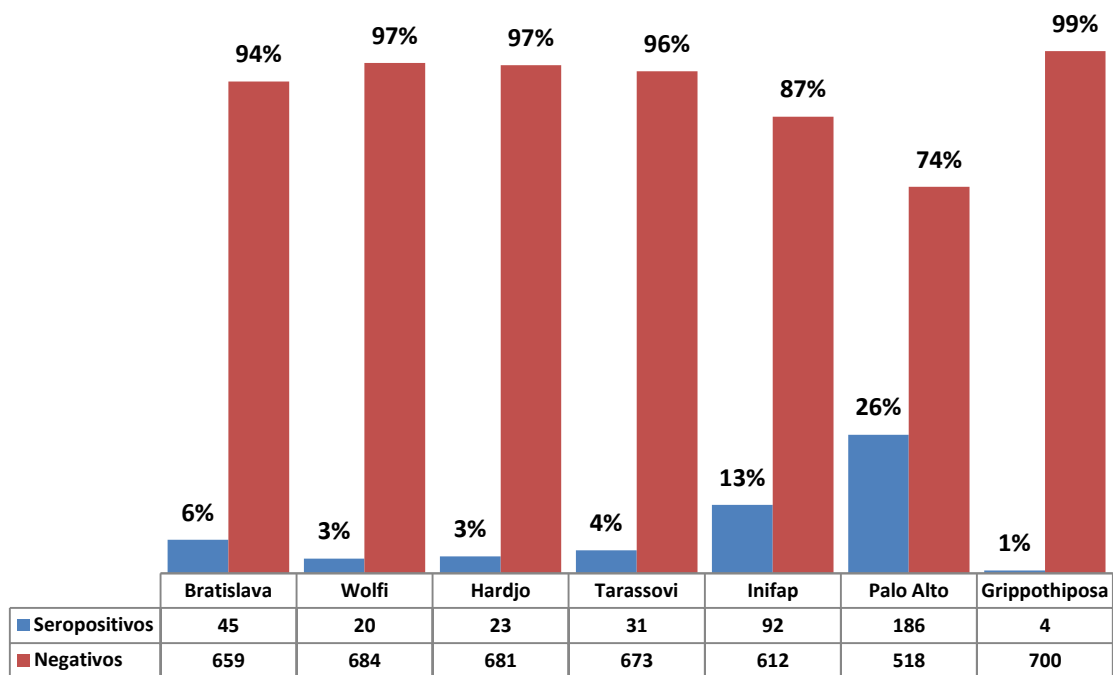
**Figura 14.** Número de unidades de producción seropositivas a la prueba de aglutinación microscópica MAT para *Leptospira Interrogans* por Municipio.



**Figura 15.** Porcentaje de unidades de producción seropositivas a la técnica de aglutinación microscópica MAT para *Leptospira interrogans* por municipio.

Después de realizar la técnica MAT a las 704 muestras, 7 fueron las serovariedades que se encontraron en la población muestreada, estas son Bratislava con un total de 45 positivas (6.39%), Wolffi con 20 (2.84%), Hardjo con 23 (3.27%), Tarassovi con 31(4.4%), Inifap (Hardjo, aislamiento nacional) con 92 (13.07%), Palo Alto (Icterohaemorrhagiae) con 186 (26.42%) y Grippothiposa con 4 (0.57%).

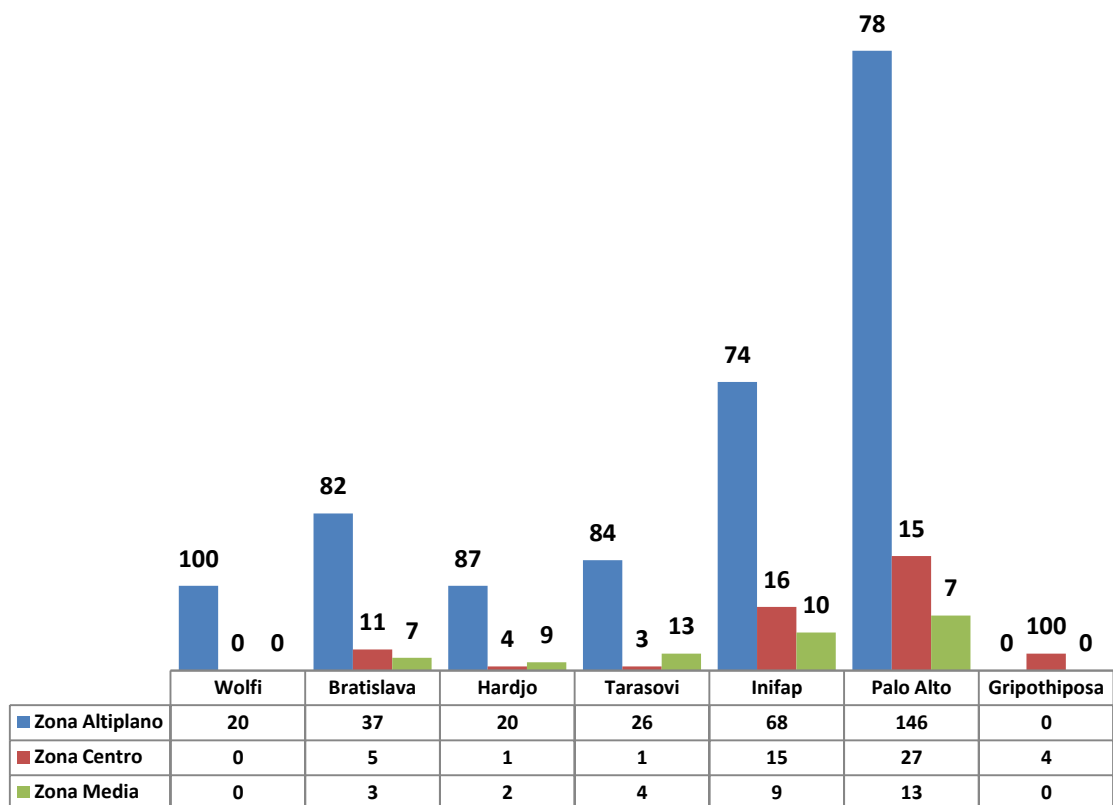
La serovariedad Palo Alto (Icterohaemorrhagiae) fue la que se encontró con mayor frecuencia con 186 seropositivos mientras que la de menor frecuencia fue Grippothiposa con solo 4 seropositivos (Fig. 18).



**Figura 16.** Número de seropositivos y negativos por serovariedad a la técnica de aglutinación microscópica MAT para *Leptospira spp.*

A nivel región casi todas las 3 zonas tuvieron presencia de la mayoría de las serovariedades mencionadas en las unidades productivas con algunas particularidades.

En la Zona Altiplano se identificaron las serovariedades Wolffii, Bratislava, Hardjo, Tarassovi, Inifap y Palo Alto; en la Zona Centro no hubo aislamientos para la serovariedad Wolffii pero si para el resto y fue la única zona donde hubo aislamientos de la serovariedad Grippothiposa; en la Zona Media no hubo aislamientos de las serovariedades Wolffii ni Grippothiposa pero si para Bratislava, Hardjo, Tarassovi, Inifap y Palo alto. (Fig. 17)



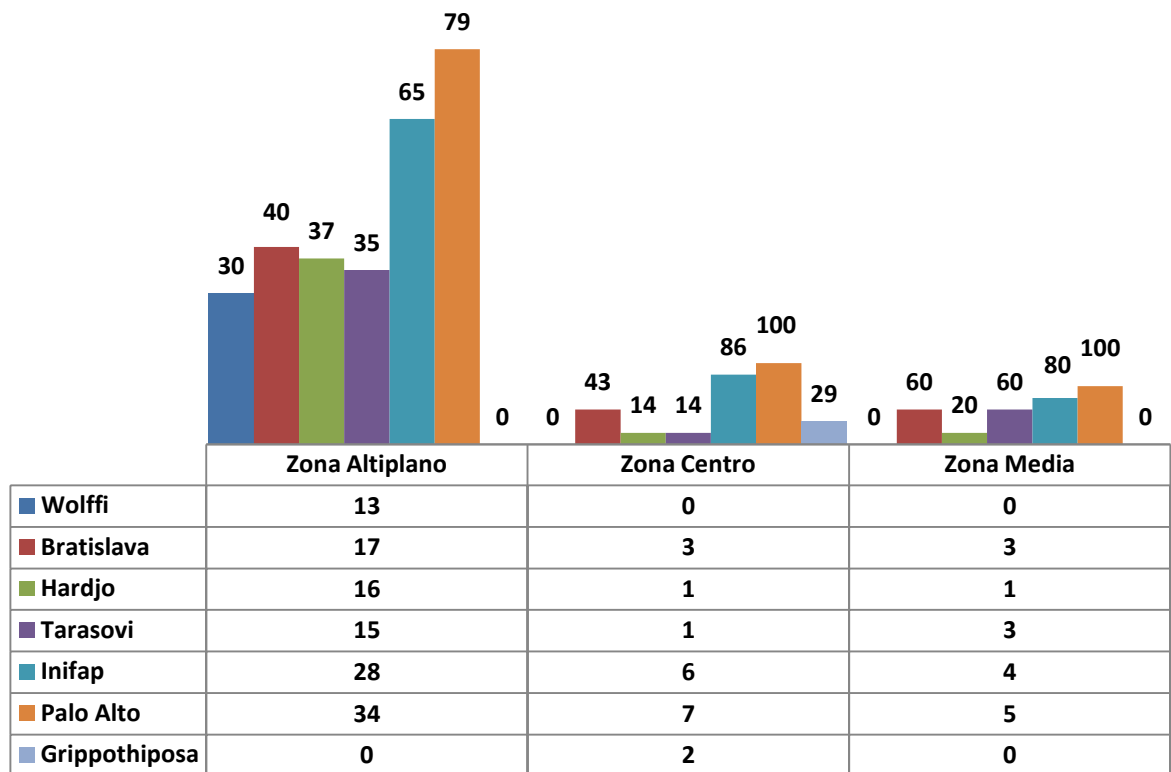
**Figura 17.** Muestras seropositivas a la técnica de aglutinación microscópica MAT para serovariedades de *Leptospira* spp. por Región. Los valores de las barras están en porcentaje (%)

La serovariedad Palo Alto fue la que tuvo mayor cantidad de muestras seropositivas en las 3 regiones Palo Alto con 186, seguida de Inifap con 92, Bratislava con 45, Tarassovi con 31, Hardjo con 22, Wolffi con 20 y Grippothiposa con 4.

A nivel de región se observa un comportamiento similar entre las tres zonas en donde la serovariedad Palo Alto (*Icterohaemorrhagiae*) fue la que tuvo mayor cantidad de muestras seropositivas, seguida de las serovariedades Inifap, Bratislava, Tarassovi, y Hardjo.

Los aislamientos para la serovariedad Wolffi solo se encontraron en la zona Altiplano, mientras que los aislamientos para la serovariedad Grippothiposa solo en la zona centro. (Fig. 17)

A nivel de Unidades de producción por región, se mantuvo la tendencia donde la serovariedad Inifap (*Icterohaemorrhagiae*) con 46 unidades productivas (83.6%) fue la que tuvo mayor cantidad y porcentaje de seropositivos, seguida de las serovariedades Inifap con 38 (69.09%), Bratislava con 23 (41.81%), Tarassovi con 19 (34.54%), Hardjo con 18 (32.72%), Wolffi con 13 (23.63%) y Grippothiposa con 2 (3.63%). (Fig. 18)



**Figura 18.** Frecuencia de unidades de producción seropositivas a serovariedades de *Leptospira spp.* por región. Los valores de las barras están en porcentaje (%)

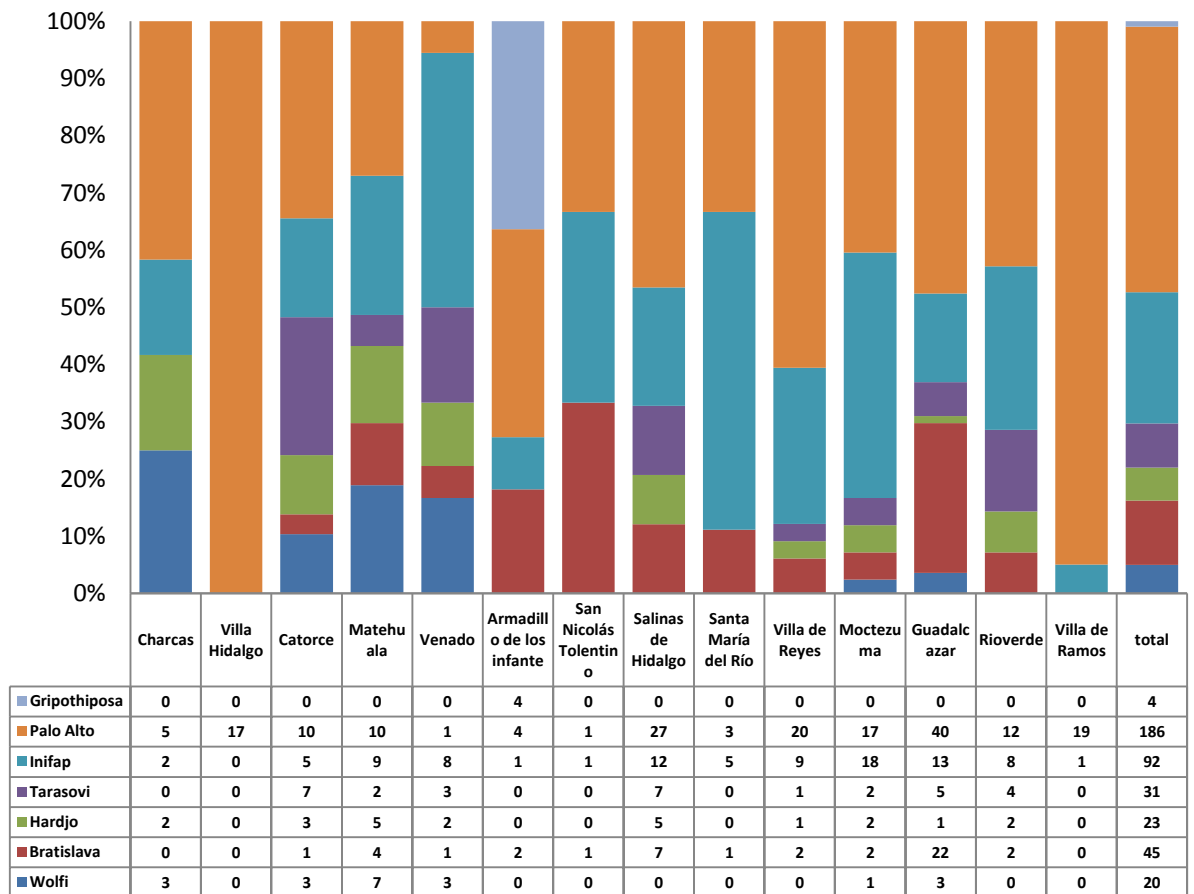
A nivel de municipios todos resultaron positivos a la serovariedad Palo Alto (*Icterohaemorrhagiae*), el municipio que tuvo mayor número de seropositivos fue Guadalcazar con 40.

La serovariedad Inifap se mantuvo como la segunda con más municipios seropositivos destacando Moctezuma con 18 y Villa Hidalgo que no tuvo seropositivos. La serovariedad Bratislava no se presentó en Charcas, Villa Hidalgo y Villa de Ramos, su mayor número de seropositivos fue en Guadalcazar con 22.



Las serovariedades Tarassovi y Hardjo se comportaron de manera muy similar tanto en los municipios seropositivos y seronegativos, excepto en Charcas donde no hubo positivos a Tarassovi. Para la serovariedad Wolffi, solo hubo seropositivos en Charcas, Catorce, Venado, Moctezuma y Guadalcazar.

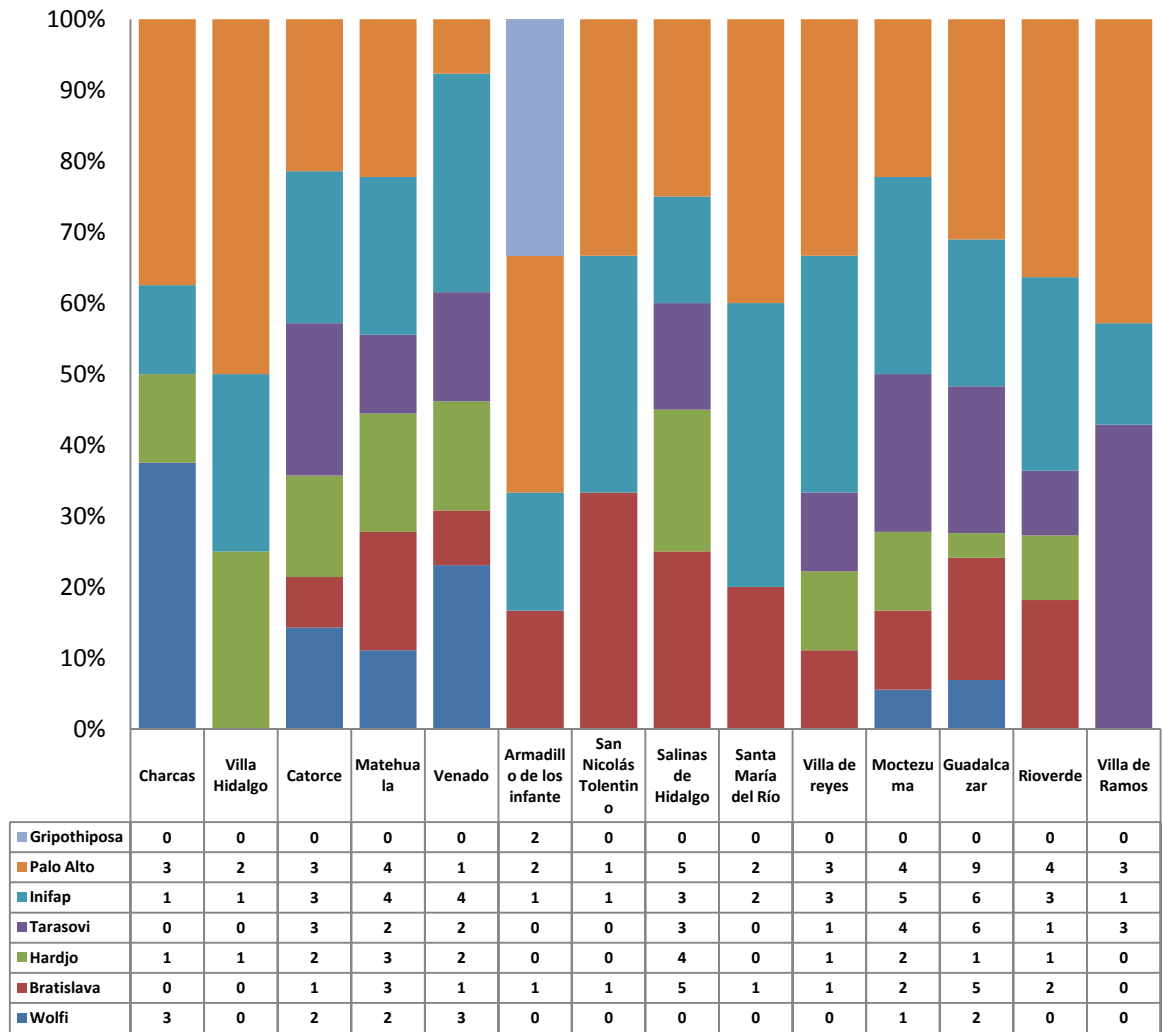
La serovariedad Grippothiposa solo se presentó en el municipio de Armadillo de los Infante. (Fig. 19 y 20).



**Figura 19.** Número de muestras seropositivas a la técnica de aglutinación microscópica MAT para *Leptospira spp.* por municipio.

A nivel de unidades de producción el municipio de Guadalcazar presentó la mayor cantidad de unidades seropositivas con 9 para la serovariedad Palo Alto y 6 para la serovariedad Inifap, que se mantuvieron como las serovariedades más altas con 46 y 38 unidades. La serovariedad Inifap tuvo la segunda mayor cantidad con 38 unidades.

Hubo una mayor cantidad de unidades productivas positivas a Tarassovi con 36 mientras que Bratislava bajo al cuarto lugar con 23 unidades. Los municipios más altos para estas serovariedades fueron Guadalcazar y Salinas de Hidalgo. Hardjo, Wolff y Grippothiposa se mantuvieron con el mismo comportamiento. (Fig.. 20)



**Figura 20.** Número de unidades de producción seropositivas a la técnica de aglutinación microscópica MAT para *Leptospira spp.* por municipio.

La mayor parte de las muestras procesadas por la Técnica de Aglutinación Microscópica MAT presentaron títulos aglutinantes por lo menos frente a una de las serovariedades (Bratislava, Wolffi, Tarassovi, Hardjo, Inifap, Palo Alto y Grippothiposa), considerándose positivas solo las reactores a los títulos de anticuerpos aglutinantes: 1:40, 1:80, 1:60 y 1:320. (Cuadro 9.)

**Cuadro 9.** Títulos de anticuerpos de las muestras seropositivas a la Técnica de Aglutinación Microscópica Mat por serovariedad de *Leptospira spp.*

Serovariedad	Títulos de Aglutinación				Total
	1:40	180	160	320	
Bratislava	31	7	6	1	45
Wolffi	17	4	1	0	22
Tarassovi	23	8	0	0	77
Hardjo	22	2	0	0	73
Inifap	62	12	8	10	92
Palo Alto	71	61	27	25	184
Grippothiposa	2	1	0	1	4

La serovariedades Palo Alto (*Icterohaemorrhagiae*) e Inifap (*Hardjo*) tuvieron la mayor cantidad de seropositivos con 71 y 61; 62 y 12 en títulos aglutinantes 1:40 y 1:80 respectivamente, y fueron las que tuvieron más seropositivos en los títulos 1:320.

Palo Alto, Inifap y Bratislava fueron las tres serovariedades que tuvieron títulos aglutinantes en todas las diluciones.

La serovariedad Bratislava tuvo seropositivos más altos en los títulos 1:40. Las serovariedades Tarassovi y Hardjo presentaron seropositivos en los títulos 1:40 y 1:80. Las serovariedades Wolffi y Grippothiposa tuvieron seropositivos en tres de las cuatro diluciones.

**Cuadro 10.** Títulos de anticuerpos de las muestras seropositivas a la Técnica de Aglutinación Microscópica Mat a las diferentes serovariedades de *Leptospiras spp.* por región

<b>Zona Altiplano</b>					
<b>Serovariedad</b>	<b>1:40</b>	<b>1:80</b>	<b>1:160</b>	<b>1:320</b>	<b>Subtotal</b>
Bratislava	23	7	6	1	37
Wolffi	17	4	1	0	22
Hardjo	18	2	0	0	20
Tarassovi	19	7	0	0	26
Inifap	42	8	8	10	68
Palo Alto	57	44	19	25	146
Grippohiposa	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>178</b>	<b>73</b>	<b>34</b>	<b>37</b>	<b>319</b>

<b>Zona Centro</b>					
<b>Serovariedad</b>	<b>1:40</b>	<b>1:80</b>	<b>1:160</b>	<b>1:320</b>	<b>Subtotal</b>
<b>Bratislava</b>	5	0	0	0	5
<b>Wolffi</b>	0	0	0	0	0
<b>Hardjo</b>	1	0	0	0	1
<b>Tarassovi</b>	0	1	0	0	1
<b>Inifap</b>	11	4	0	0	15
<b>Palo Alto</b>	8	10	9	0	27
<b>Grippohiposa</b>	2	1	1	0	4
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>16</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>53</b>

<b>Zona Media</b>					
<b>Serovariedad</b>	<b>1:40</b>	<b>1:180</b>	<b>1:160</b>	<b>1:320</b>	<b>Subtotal</b>
<b>Bratislava</b>	3	0	0	0	3
<b>Wolffi</b>	0	0	0	0	0
<b>Hardjo</b>	3	0	0	0	3
<b>Tarassovi</b>	4	0	0	0	4
<b>Inifap</b>	9	0	0	0	9
<b>Palo Alto</b>	6	7	0	0	13
<b>Grippohiposa</b>	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>32</b>

A nivel región en la Zona Altiplano la serovariedad Palo Alto (Icterohaemorrhagiae) tuvo seropositivos altos en todas las diluciones, y fue la única región donde hubo seropositivos a la serovariedad Wolffii; y no hubo seropositivos a Grippothiposa.

En la Zona Centro no hubo seropositivos a Wolffii; las serovariedades Hardjo y Tarassovi solo tuvieron un seropositivo respectivamente; Bratislava tuvo seropositivos únicamente en los títulos 1:40; Inifap solo tuvo seropositivos en los títulos 1:40 y 1:80, Palo Alto se mantuvo como los seropositivos más altos y hubo 4 seropositivos a Grippothiposa.

En la Zona Media las serovariedades Bratislava, Tarassovi, Hardjo e Inifap solo tuvieron seropositivos en los títulos 1:40; no hubo presencia de la serovariedades Wolffii y Grippothiposa; Palo Alto solo tuvo seropositivos en los títulos 1:40 y 1:80.

**Resultados de las encuestas epidemiológicas relacionadas con actividades que pueden incrementar la trasmisión de enfermedades infecciosas.**

En los siguientes cuadros se describen algunos datos relacionados con las observaciones de las actividades que realizan los caprinocultores dentro de la unidad productiva que tienen que ver directamente o indirectamente con los factores de riesgo relacionados con la prevalencia de Leptospirosis dentro del presente estudio.

**Cuadro 11.** Historial de Infertilidad y características de los casos de aborto observados por los caprinocultores por unidades de producción pecuaria.

Historial de infertilidad	Frecuencia	Porcentaje
Si	21	38.18%
No	33	60%
No sabe	1	1.81%
Antecedentes de aborto *		
Si	42	76.36%
No	13	23.64%
Origen de las cabras que han abortado		
Las nacidas en la unidad productiva	31	73.81%
Las compradas	4	9.52%
Nacidas en la unidad productiva y las compradas	5	11.90%
No recuerda	2	4.76%
Número de parto de las cabras que han abortado		
Primer parto	21	51.22%
Segundo parto	3	7.32%
Tercer o más partos	2	4.88%
En cualquier parto	15	36.59%
Apariencia de los fetos abortados		
Muy pequeños	22	53.66%
Bien formados	15	36.59%
Normales	1	2.44%
No recuerda	1	4.88%
Crías débiles		
Si	32	58.18%
No	23	42.82%

\* De Enero del 2010 a la fecha

**Cuadro 12.** Higiene de los corrales en las unidades de producción pecuaria

Realiza limpieza de los corrales	Frecuencia	Porcentaje
Si	52	94.55%
No	2	3.64%
A veces	1	1.82%
Frecuencia de la limpieza de los corrales		
Todos los días	5	9.26%
Cada tercer día	11	20.37%
Cada semana	14	25.93%
Cada dos semanas	11	20.37%
Mensual	7	12.96%
Trimestral	4	7.41%
Semestral	2	3.70%
Destino del excremento		
Lo vende	13	24.53%
Lo incorpora al terreno	34	64.15%
Composta	6	7.55%
Eliminación de la placenta en época de partos		
La dejan en el lugar del parto	0	0%
Se la dan a los perros	55	100%
La quema	0	0%
Le posan cal encima	0	0%
Prestan al semental		
Si	16	30%
No	28	52%
A veces	10	19%
Control de roedores		
Si	0	0%
No	55	100%

**Cuadro 13.** Origen de los caprinos de las unidades de producción pecuaria

Origen de las cabras	Frecuencia	Porcentaje
Solo nacidas en la unidad productiva	43	78.18%
Solo compradas de otra unidad productiva	7	13%
Nacidas y compradas	5	9.09%
Introducción de caprinos nuevos 2009		
Si	11	20%
No	44	80%
Introducción de caprinos nuevos 2010		
Si	8	15.09%
No	44	83.02%
No sabe	1	1.89%
Caprinos introducidos		
Sementales	1	11.11%
Cabritos y sementales	2	22.22%
Sementales, cabritos y Hembras	6	66.67%

**Cuadro 14.** Actividades del manejo de las cabras en las unidades de producción.

Pastoreo	Frecuencia	Porcentaje
Pastoreo todo el día	3	5.46%
Pastoreo medio día	46	83.64%
Todo el día en los corrales	6	10.91%
Cuidador		
Empleado	1	1.89%
Personalmente	38	71.70%
Familiares	10	18.87%
Empleado y personalmente	2	3.77%
Personalmente y familiares	2	3.77%
Ordeña		
Empleado	2	4%
Personalmente	36	72%
Familiares	9	18%
Empleado y personalmente	1	2%
Personalmente y familiares	3	4%



**Cuadro 15.** Especies animales en contacto con caprinos de las unidades de producción.

<b>Especie</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Perros		
Si	51	92.73%
No	4	7.27%
Bovinos		
Si	9	16.36%
No	46	83.64%
Borregos		
Si	21	38.18%
No	34	61.82%
Cerdos		
Si	4	7.27%
No	51	92.73%

Los datos obtenidos del análisis de las encuestas epidemiológicas tanto a nivel general por unidades de producción como a nivel individual por caprinos, son fundamentales para establecer la relación entre las distintas variables en torno el sistema productivo que se asocian a los factores de riesgo para Leptospirosis y así establecer parámetros más precisos que sirvan de ayuda para concretar la toma de decisiones en las medidas de control sanitario para esta enfermedad en las unidades de producción; sin embargo, al tener una prevalencia del 100% de las unidades productivas como seropositivas a alguna serovariedad de *Leptospira spp.* tanto a nivel regional, municipal, por comunidades rurales y por unidades de producción caprinas, no se tuvieron elementos suficientes para comparar con alguna población sana y así, demarcar alguna situación específica con valor significativo.

## DISCUSIÓN

En el Estado de San Luis Potosí poca importancia se le ha dado a ampliar el conocimiento y comportamiento de la Leptospirosis en caprinos. En general no se tiene noción de su existencia entre los caprinocultores y no ha habido estudios enfocados a conocer esta enfermedad a tal grado que aún entre las autoridades e instituciones se tiene la percepción es que no es de importancia; sin embargo una creciente tendencia de investigaciones tanto a nivel nacional como internacional se están desarrollando con el objetivo de destacar la importancia sobre el conocimiento de esta enfermedad y su efecto e impacto en la productividad del ganado caprino y por el riesgo a la salud de las personas que conviven directamente con los portadores de esta enfermedad.

Por las características del sistema productivo observadas durante el presente estudio es preciso resaltar dentro del manejo sanitario el diagnóstico de las enfermedades infecciosas que provocan abortos, ya que las crías, que son el producto final del trabajo de un año, se pierden afectando de manera significativa a los caprinocultores.

Algunas enfermedades abortivas que hay que considerar son las provocadas por agentes infecciosos como Brucella, listeria, salmonela, Campylobacter, toxoplasma, y herpesvirus caprino.

La Técnica de Aglutinación Microscópica MAT está indicada para el diagnóstico de la Leptospirosis, de acuerdo a la Norma Oficial mexicana NOM-029-SSA-1999 que se refiere a la Campaña Nacional contra la Leptospirosis. Esta prueba diagnóstica está dirigida a la detección de anticuerpos en varias especies de mamíferos, principalmente en los domésticos y el hombre, al tener una sensibilidad de 85% cuando la infección tiene 30 días o más de haberse iniciado (Flores *et al*,2009). La MAT detecta tanto anticuerpos tipo IgM como IgG pero no distingue entre las inmunoglobulinas que pudiera detectar la infección temprana a diferencia de la prueba de ELISA. Los anticuerpos IgM generalmente aparecen en etapas más tempranas y permanecen detectables a bajos títulos durante meses o años.

La detección de anticuerpos IgG es más variable y algunas veces pueden no ser detectables en absoluto, o pueden detectarse por períodos relativamente cortos de tiempo o por años. (William, 1994). El aislamiento de leptospiras patógenas es la única prueba directa y definitiva para la detección de la infección. (OMS 2008).

En el presente estudio los resultados obtenidos indican una seroprevalencia del 45.5% en la muestra de caprinos para el Estado de San Luis Potosí encontrándose anticuerpos de aislamientos principalmente contra los serovares Palo Alto (*Icterohaemorrhagiae*), Inifap (Hardjo de aislamiento nacional), Bratislava, Tarassovi, Hardjo, Wolffi y Grippothiposa. Con títulos de anticuerpos a 1:40 principalmente y a 1:80, 1:160 y 1:320 en menor grado.

Debido a que en las tres regiones que se estudiaron hay variantes climáticas entre ellas es de destacarse que la prevalencia de la enfermedad (44.94%) fue mayor en la zona Altiplano a pesar de que en esta región el clima es semidesértico casi sin lluvias, lo cual se contraíndica con la referencia de que las *Leptospiras* se desarrollan mejor en ambientes húmedos; lo que implica que es a nivel de unidad de producción, donde el ambiente se mantiene húmedo en los corrales, la falta de prácticas de control de roedores, la contaminación del agua y los alimentos y el deficiente manejo sanitario podrían ser los factores de la trasmisión entre las poblaciones caprinas ya que en esta zona es donde se concentra la mayor densidad de caprinos y por ende fue donde se obtuvieron mayor número de muestras seropositivas.

De manera contraria, la zona media, que se caracteriza por tener un clima más húmedo pero con menor concentración de población caprina la prevalencia fue menor (41.18%). En la Zona Centro quizás lo más destacable fue la detección de la serovariedad Grippothiposa en el municipio de Armadillo de los Infante, el cual se sitúa geográficamente en el inicio de una cadena montañosa lo cual podría permitir el aislamiento natural de la serovariedad.

Estudios similares se han realizado en varios países del mundo como Brasil, Haití, Estados Unidos, Jamaica, Nueva Zelanda, España, Italia, e Israel, donde se han reportado casos de infección por *Leptospira spp.* en caprino (Brandao *et al*, 2008).

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, en el periodo de 1989 a 1998, reportó haber procesado 1,746 muestras provenientes de diferentes entidades (Chiapas, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Puebla, Querétaro, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Yucatán) encontrándose que había una positividad de 97% en caprinos (43 muestras) y sus serovariedades más frecuentes en son; *Autumnalis*, *Szwajizak* y *Pomona*. (NOM-029-SSA2-1999).

Los signos de la Leptospirosis son inespecíficos por lo que suele confundirse con otros procesos infecciosos como brucelosis; asimismo en muchos animales cursa asintómicamente y son considerados como portadores sanos y reservorios del agente infeccioso (Ristow, 2007).

Investigaciones realizadas en algunos estados de la república mexicana indican resultados semejantes o mayores del 50% de prevalencia; como los que se han realizado en Querétaro, Veracruz (13.74%), la Comarca Lagunera (60%), Guerrero (64.25%).

La identificación de estas serovariedades, su prevalencia y distribución, son datos de suma importancia para la elaboración de vacunas específicas contra las serovariedades encontradas en cada localidad; ya que la inmunización contra esta enfermedad es una práctica nula en las explotaciones caprinas del estado, aunado, a que no se cuentan con ellas a nivel comercial y que solo se vacuna contra brucelosis por medio de la campaña nacional, más como requisito para la obtención de algunos apoyos estatales y federales o por las restricciones para la comercialización impuestas, que por la concientización de su relevancia en el manejo sanitario como una de las causas que provocan enfermedades abortivas y el riesgo de su transmisión al ser una enfermedad zoonótica (Andicoberry *et al*, 2001);

Al conocer las serovariedades frecuentes se pueden fabricar vacunas específicas para cada serovariedad e incorporarse de manera regular a los calendarios de vacunación dentro de las prácticas de manejo sanitario y de comunicación social para la sensibilización de los productores a la importancia del control de esta enfermedad.

El control de roedores que también es nulo en las unidades de producción caprinas muestreadas, es una de las prácticas que se deben implementar, ya que la serovariedad más frecuente detectada en el estado fue la Palo Alto (*Icterohaemorrhagiae*) con una prevalencia del en las unidades de producción y debido a que su transmisión principal es a través de la orina de los roedores infectados, el control del vector puede ser significativo.

El evitar la convivencia de las cabras con otras especies como bovinos en el mismo espacio físico en la unidades de producción es importante, ya que las serovariedades Hardjo y Wolffii también se encuentran presentes en ambas especies y puede ser factor para la transmisión de la enfermedad.(Libenbaum *et al*, 2007).

El control de los perros propios como vecinos y la práctica de eliminar correctamente los residuos de las placentas en las épocas de parto para evitar sean ingeridas por los perros, son acciones que pueden ser significativas como medidas de control para evitar que los perros puedan ser infectados por la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* y otras enfermedades infecciosas.

Junto con la vacunación específica contra las serovariedades locales, la profilaxis sanitaria, el control de roedores, el tratamiento, la eliminación de portadores, y los hábitos de higiene del personal que está en contacto con los rebaños.

## CONCLUSIONES

Se concluye el presente estudio afirmando que la Leptospirosis es un proceso infeccioso con alta prevalencia del 45.5% en los 704 caprinos muestreados y del 100% a nivel estatal, regional (zona altiplano, zona centro, y zona media), municipal (14 municipios), comunidades rurales (41) y por unidades de producción pecuarias (55) en el estado de San Luis Potosí.

Se debe generar más información en el tema mediante estudios epidemiológicos que permitan observar y dar seguimiento al comportamiento de la enfermedad en las poblaciones caprinas.

La implementación de la Técnica de Aglutinación Microscópica MAT en los laboratorios oficiales regionales es fundamental como herramienta para el diagnóstico y monitoreo los casos de esta enfermedad en las unidades productivas caprinas.

La fabricación de vacunas con cepas específicas por serovariedades presentes en cada región debe considerarse la medida principal de control para esta enfermedad, así como la evaluación de los parámetros productivos y reproductivos en las majadas para tratar de medir el impacto que ocasiona tener un programa de prevención y control hacia Leptospirosis en caprinos.

Se deben sumar acciones al mejoramiento de la higiene sanitaria, prácticas de manejo, control de vectores nocivos y de las especies domésticas susceptibles que conviven con las cabras, así como la capacitación del personal que convive directamente con las cabras.

Se debe realizar una campaña de difusión social estratégica que permita concientizar a los productores, pastores, comerciantes, profesionistas, instituciones educativas y autoridades gubernamentales sobre esta enfermedad que impacta en la productividad de la caprinocultura, tan importantes para la ganadería y poblaciones del estado y como problema de salud pública.

## LITERATURA CITADA

- Andicoberry Alonso, F.J. García-Peña, L.M. Ortega-Mora, 2001. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Prod. Sanid. Anim. Vol. 16 (2).
- Ciceroni, L. Lombardo, D., Pinto, A., Ciarrocchi, S., & Simeoni, J. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. Department of Bacteriology and Medical Mycology, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy.
- Damude, D., Jones, C., & Myers, D. (1979). A study of leptospirosis among animals in Barbados W.I. Trans R Soc Trop Med Hyg., 73(2):, 161-168.
- Everard, C., Cawich, F., Gamble, P., & Everard, J. (1988). Prevalence of leptospirosis in Belize. Trans R Soc Trop Med Hyg., 82(3), 495-499.
- Hernández L. Leptospirosis, en: Díaz E, Aguilar F, Vázquez J. Manual para el Diagnóstico de Enfermedades en Ovinos y Caprinos en México, 2005. Consejo Técnico Consultivo Nacional de Sanidad Animal. México. 2005; 72-77.
- Gerritsen MJ, Koopmans MJ, Olyhoek T. Effect of streptomycin treatment on the shedding of and the serologic responses to *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* subtype *hardjobovis* in experimentally infected cows. Veterinary Microbiology. 1993; 38: 129-138
- Johnachan, P., Smith, G., Grant, G., & Hugh-Jones, M. (1990). Serological survey for leptospiral antibodies in goats in St Elizabeth Parish, Jamaica, 1985-1986. Trop Anim Health Prod, 22(3), 171-177.
- Leon-Vizcaino, L., Hermoso de Mendoza, M., & Garrido, F. (1987). Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. Comp Immunol Microbiol Infect Dis., 10(2), 149-153.

Levett, P., Whittington, C., & Camus, E. (1996). Serological survey of leptospirosis in livestock animals in the Lesser Antilles. *Ann N Y Acad Sci.*, 791, 369-377.

Lilenbaum, W., de Souza, G., Ristow, P., Moreira, M., Fráguas, S., Cardoso Vda, S., et al. (2007). A serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis-encephalitis virus and *Leptospira* in dairy goats in Rio de Janeiro, Brazil. *Vet J.* , 173 (2), 408-412. .

Lilenbaum, W., Vargas, R., Brandão, F., Cortez, A., de Souza, S., Brandão, P., et al. (2008). Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. *Theriogenology.*, 69(7), 837-842.

Lilenbaum, W., Vargas, R., Medeiros, L., Cordeiro, A., Cavalcanti, A., Souza, G., et al. (2008). Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. *Res Vet Sci.*, 84(1), 14-17.

Lilenbaum W, V. R., Medeiros L, Cordeiro AG, Cavalcanti A, Souza GN, Richtzenhain L, Vasconcellos SA. (2008). Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. *Res Vet Sci.*, 84(1), 14-17.

Motto, A., & Myers, D. M. (1986). leptospirosis in sheep and goats in guyana. *Trop. Anita. Hlth Prod.*, 18, 113-114.

Nguyen, T. N., & Nguyen, N. T. A study on the occurrence of Leptospirosis in the goat population in Northern Vietnam. Serology Section, The National Veterinary Diagnostic Center, Hanoi, Vietnam, 93-96.

. Organización Mundial de Sanidad Animal (Oficina Internacional de Epizootias OIE).  
Manual de la OIE Sobre los Animales Terrestres 2008. Capítulo 2.1.9.  
Leptospirosis [en línea 2009; citado el 14 abril 2011] disponible en:

[http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf\\_es\\_2008/2.01.09.%20Leptospirosis.pdf](http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.01.09.%20Leptospirosis.pdf)

Ristow, P. (2007). Leptospirosis: current challenges of an old disease. 4(160), 267.



- Rocha. (1998). A review of leptospirosis in farm animals in Portugal. *Rev Sci Tech.*, 3, 699-712.
- Rodríguez Alonso, B., Gómez de Haz, H. J., & Cruz de la Paz, R. (2000). Leptospirosis humana: ¿un problema de salud? *Rev Cubana Salud Pública*, 26(1), :27-34.
- Sadow, K., & Ramírez, W. (2005). Leptospirosis (Leptospirosis). *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, Vol. VI, nº 06, 1-61.
- Sebek Z, Six, I. W., Reinthaler, F., Valová, M., Schneeweiss, W., Stünzner, D., et al. (1989). Results of serological examination for leptospirosis of domestic and wild animals in the Upper Nile province (Sudan). *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* , 33(3), 337-345.
- Smith MC, Sherman DM. Blood, Lymph, and Immune Systems, en: Smith MC, Sherman DM. *Goat Medicine*. 2<sup>nd</sup> Ed. Wiley-Blackwell. Estados Unidos de América. 2009; 275-318.
- Vanasco, N. B., Lottersberger, J., Schmeling, M. F., Gardner, I. A., & Tarabla, H. D. (2007). Diagnóstico de leptospirosis: evaluación de un enzimoimmunoensayo en fase sólida en diferentes etapas de la enfermedad *Rev Panam Salud Publica*, 21(6), 388-395
- Adler B, de la Peña-Moctezuma A, *Leptospira* and Leptospirosis. *Veterinary Microbiology*. 2010; 240: 287-296.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Leptospirosis Humana: Guía para el Diagnóstico, Vigilancia y Control [en línea 2008; citado el 14 abril 2011] disponible en:  
<http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/guia-esp.pdf>