



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS VERACRUZ**

POSTGRADO EN AGROECOSISTEMAS TROPICALES

**DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA  
LEPTOSPIROSIS BOVINA EN VERACRUZ, MÉXICO**

**ANABEL CRUZ ROMERO**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTORA EN CIENCIAS**

TEPETATES, MANLIO FABIO ALTAMIRANO, VERACRUZ

2013

La presente tesis, titulada: **Distribución espacial y factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en Veracruz, México**, realizada por la estudiante: **Anabel Cruz Romero**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS  
AGROECOSISTEMAS TROPICALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:



\_\_\_\_\_  
DRA. SILVIA LÓPEZ ORTIZ

DIRECTORA:



\_\_\_\_\_  
DRA. DORA ROMERO SALAS

ASESOR:



\_\_\_\_\_  
DR. ZEFERINO GARCÍA VAZQUEZ

ASESOR:



\_\_\_\_\_  
DR. ADALBERTO ROSENDO PONCE

ASESOR:



\_\_\_\_\_  
DR. FRANCISCO JUÁREZ LÓPEZ

Tepetates, Veracruz, México, 9 de diciembre de 2013

# **DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA LEPTOSPIROSIS BOVINA EN VERACRUZ, MÉXICO**

Anabel Cruz Romero, Dra.  
Colegio de Postgraduados, 2013

## **RESUMEN**

Los objetivos de esta investigación fueron determinar la distribución espacial e identificar los factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en el estado de Veracruz, México. Se obtuvieron muestras de sangre de 3,454 bovinos de 54 municipios de las regiones Norte, Centro y Sur del estado, de febrero 2008 a diciembre de 2011. Los sueros se analizaron por medio de la técnica de aglutinación microscópica utilizando 12 serovariedades de *Leptospira interrogans*, se estimaron las seroprevalencias y los factores de riesgo. La seroprevalencia general fue del 3.9%; sin embargo, entre municipios varió de 0 y 44%. La mayoría de las UP con casos positivos se encontraron en la zona centro de Veracruz, y en los municipios de Cuitláhuac, Papantla, Tlacotalpan y Tlalixcoyan se incrementa el riesgo de presentar leptospirosis bovina, también el que las perras y gatas tengan acceso a parir en los comederos incrementa el riesgo de presentar la enfermedad. Se concluye que la leptospirosis bovina está presente en el estado de Veracruz con mayor distribución en la zona centro del estado, y las serovariedades más prevalentes fueron Hardjo, Lai Lai, Canicola, Tarassovi y Pyrogenes.

Palabras clave: estudio transversal, bovinos, serología, epidemiología.

**SPATIAL DISTRIBUTION AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH BOVINE  
LEPTOSPIROSIS IN VERACRUZ, MEXICO**

Anabel Cruz Romero, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2013

The objectives of this investigation were to determine the spatial distribution and identify the risk factors associated with bovine leptospirosis in the state of Veracruz, Mexico. During February 2008 to December 2011, blood samples were collected from 3,454 cows from 54 municipalities in the northern, central and southern regions of the state. The sera were analyzed using microscopic agglutination tests and included 12 serovars of *Leptospira interrogans*. General and specific seroprevalence were estimated, and risk factors were identified. The overall seroprevalence was 3.9% and varied between 0 and 44% among municipalities. Most of the positive sites were found in central Veracruz. The risk factors associated with leptospirosis in the state were municipalities (Cuitlahuac, Papantla, Tlacotalpan, and Tlalixcoyan), and dogs and cats birthing in feeding troughs. Bovine leptospirosis is present in the state of Veracruz with most of its distribution in the central part of the state. The most prevalent serovars were Hardjo, Lai Lai, Canicola, Tarassovi and Pyrogenes.

Keywords: cross-sectional study, bovines, serology, epidemiology.

## **DEDICATORIAS**

### **A Dios**

Señor, te agradezco la oportunidad de estudiar un doctorado y haber conocido a muchas personas que fueron parte importante de este logro, pero sobre todo te agradezco todo lo que aprendí durante esta etapa, en la cual crecí en carácter, perseverancia, fe, amor, paciencia, perdón y sobre todo aprendí a conocer uno de mis propósitos en la vida.

### **A mis padres**

Arcelia Romero López y Marcelino Cruz Espinoza, quienes han sido pilares en mi vida tanto en lo emocional como en lo profesional, ustedes siempre me han enseñado a luchar por mis sueños, siendo honesta y respetando a los demás. Los amo y admiro mucho.

### **A mi abuela**

Graciela López Rojas, le agradezco todo lo que ha hecho por mí, su amor me sostuvo en momentos difíciles en mi vida y siempre la tuve cuando más la necesité. La amo abuela de mi corazón.

### **A mis hermanos**

Melissa Cruz Romero y Carlos A. Cruz Romero, ustedes son una de las principales motivaciones en mi vida, los dos son parte de mis logros y siempre quiero que lo sigan siendo en el futuro, gracias por su paciencia. Los amo mucho.

### **A Moisés Pérez Carvajal**

Moisés Pérez Carvajal, no tengo palabras para agradecerte todo lo que me apoyaste durante esta etapa de mi vida, gracias por ser mi atalaya y ser ese ser humano ejemplar.

### **A Christian Bautista Piña**

Chris, eres una amiga muy especial, la cual en ocasiones veo más como una hermana que como una amiga, siempre he sentido tu apoyo sincero y palabras de aliento cuando quería desmayar.

Te quiero.

### **A mi asesora y amiga**

Dra. Dora Romero Salas, le agradezco a Dios por ponerla en mi camino y a pesar que hubo momentos difíciles durante esta etapa, siempre aprendimos a superarlos y nos sirvió para fortalecer nuestra amistad.

### **A mi tío Crispín Cruz Espinoza y familia**

Tío, sin su ayuda esto no hubiera sido posible, usted es un ejemplo a seguir y estoy orgullosa de tenerlo en mí familia. Gracias y le estoy eternamente agradecida.

### **A mis amigos y familia**

No terminaría la lista de amigos y familia de quienes me han apoyado durante esta etapa, pero sin duda alguna hay personitas que me dieron consejos, abrazos, apoyo, y principalmente sus oraciones. Los quiero mucho.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los millones de mexicanos que pagan sus impuestos, quienes a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados, han financiado parte de mi formación.

Al Colegio de Postgraduados, que me dio la oportunidad de ser estudiante de Doctorado en Ciencias directo de licenciatura y darme las herramientas para ser investigadora. Agradezco a todos los profesores del Campus Veracruz y Campus Tabasco.

A los profesores integrantes de mi Consejo Particular por el esfuerzo, la dedicación y el apoyo que me han brindado, pero sobre todo por la infinita paciencia para conmigo.

A la Dra. Silvia López Ortíz, gracias por enseñarme a sacar lo mejor de mí y a pesar de que tuvimos diferencias siempre admiré su dedicación a la ciencia y estoy orgullosa de haberla tenido de Consejera, es muy grato saber que tuve a una mujer exitosa en su área.

Al Dr. Zeferino García Vázquez, usted es un ejemplo a seguir no solo por la parte académica sino por la humana, usted muestra humildad cuando transmite el conocimiento y eso no se ve muy seguido en esta área. Lo admiro y respeto, sinceramente gracias.

Al Dr. Adalberto Rosendo Ponce, gracias por estar siempre accesible en cualquier circunstancia y por su apoyo.

Al Dr. Francisco Juárez López, gracias por su apoyo y consejo cuando lo necesité.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana, quien me brindó la oportunidad de realizar mi investigación en sus instalaciones específicamente en el Laboratorio de Parasitología e Inmunología, quienes estaban como responsables durante ese tiempo; la Dra. Dora Romero Salas y el Dr. Alejandro De Miguel Valera.

A Animal Population Health Institute de Colorado State University por brindarme la oportunidad de realizar una estancia pero principalmente al Dr. Mo Salman, Dr. Francisco Olea-Popelka, Dra. Valeria Scorza y al Dr. Michael Lappin quienes me apoyaron en mi estancia no solo académicamente, sino que me brindaron su confianza y tiempo.

Al laboratorio Cordobés, que nos brindó capacitación para realizar el diagnóstico de laboratorio.

Al CENID-Microbiología, en especial al Dr. Dionicio Córdoba López quien nos brindó información para poder llevar a cabo el proyecto de investigación en cuestiones de epidemiología veterinaria.

Este trabajo de investigación fue financiado por los Fondos Mixtos y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (FOMIX y CONACYT) y el gobierno de Veracruz, Proyecto 37066, Enfermedades Causantes Abortos en Bovinos (Brucelosis, Leptospirosis, Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueitis Infecciosa, Neosporosis) del estado de Veracruz, Prevalencias y Factores de Riesgo Asociados.

A mis compañeros de generación y amigos, Gerardo Aguilar, Blanca Flor Solís, Karla Magaña, Lupita Arcos, Bernardino Candelaria, Carolina Flora, Hugo Rodríguez, Ricardo Serna y Manuel Mena.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Antecedentes históricos de la leptospirosis.....	4
2.2. Taxonomía y microbiología.....	5
2.3. Generalidades de la enfermedad.....	7
2.3.1. Vías de infección.....	7
2.3.2. Ecología y factores de riesgo de la leptospirosis.....	8
2.3.3. Virulencia y patogenicia.....	13
2.3.4. Inmunidad.....	16
2.4. Técnicas diagnósticas.....	18
2.4.1. Diagnóstico indirecto.....	18
2.4.2. Diagnóstico directo.....	19
2.5. Epidemiología de la leptospirosis.....	20
2.5.1. Epidemiología de la leptospirosis bovina a nivel internacional.....	21
2.5.2. Epidemiología de la leptospirosis bovina a nivel nacional.....	23
2.5.3. Epidemiología de la leptospirosis bovina a nivel estatal.....	27
2.6. Sistemas de Información Geográfica aplicados en Epidemiología.....	28
2.7. Los agroecosistemas ganaderos en el estado de Veracruz.....	30
<b>3. SITUACIÓN PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>35</b>
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>36</b>
4.1. Hipótesis general.....	36

4.2.	Hipótesis específicas.....	36
<b>5.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
5.1.	Objetivo general.....	37
5.2.	Objetivos específicos.....	37
<b>6.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
6.1.	Área de estudio.....	38
6.2.	Diseño del estudio.....	39
6.3.	Tamaño de muestra.....	40
6.4.	Variables.....	41
6.5.	Toma de muestras de sangre.....	41
6.6.	Diagnóstico serológico.....	42
6.7.	Epidemiología espacial.....	43
6.8.	Análisis estadístico.....	43
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>45</b>
7.1.	Seroprevalencias de leptospirosis bovina en Veracruz, México.....	45
7.2.	Frecuencia de las serovariedades de <i>Leptospira spp</i> .....	58
7.3.	Factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en Veracruz, México.....	63
7.4.	Distribución espacial de la leptospirosis bovina en el estado de Veracruz, México.....	68
<b>8.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>72</b>
<b>9.</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>74</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>85</b>

## LISTA DE CUADROS

		<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b>	Serovariedades de <i>Leptospira interrogans</i> que afectan animales domésticos.....	<b>11</b>
<b>Cuadro 2.</b>	Número de poblados con casos positivos a leptospirosis bovina en Veracruz, México.....	<b>45</b>
<b>Cuadro 3.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis bovina por zona ganadera en Veracruz, México.....	<b>46</b>
<b>Cuadro 4.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis bovina en municipios de tres regiones ganaderas de Veracruz, México.....	<b>47</b>
<b>Cuadro 5.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis por estrato etario de bovinos a nivel estatal.....	<b>48</b>
<b>Cuadro 6.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis por estrato etario en las zonas Norte, Centro y Sur de Veracruz, México.....	<b>49</b>
<b>Cuadro 7.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis por tipo de ganadería a nivel estatal.....	<b>50</b>
<b>Cuadro 8.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis de acuerdo al tipo de ganadería en las zonas Norte, Centro y Sur de Veracruz.....	<b>51</b>
<b>Cuadro 9.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis en bovinos <i>Bos taurus</i> , <i>Bos indicus</i> y sus cruzas en Veracruz.....	<b>52</b>
<b>Cuadro 10.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis en genotipos bovinos <i>Bos taurus</i> , <i>Bos indicus</i> y sus cruzas por zona ganadera.....	<b>53</b>
<b>Cuadro 11.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis de acuerdo a la aplicación de bacterinas (vacunación).....	<b>54</b>
<b>Cuadro 12.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis de acuerdo al uso de bacterinas (vacunación) en contra la enfermedad a nivel estatal.....	<b>55</b>
<b>Cuadro 13.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis en bovinos que conviven con otras especies animales.....	<b>56</b>
<b>Cuadro 14.</b>	Seroprevalencia de leptospirosis bovina de acuerdo a la convivencia	

	con ratones en las unidades de producción.....	<b>57</b>
<b>Cuadro 15.</b>	Frecuencia de bovinos reactivos por cada serovariedad de <i>Leptospira</i> spp (título $\geq 1:100$ ) por zona y municipio.....	<b>59</b>
<b>Cuadro 16.</b>	Frecuencia de bovinos reactivos positivos a <i>Leptospira</i> spp por serogrupo y serovariedad en Veracruz, México.....	<b>62</b>
<b>Cuadro 17.</b>	Factores de riesgo asociados a leptospirosis bovina por medio del análisis bivariado.....	<b>64</b>
<b>Cuadro 18.</b>	Factores de riesgo como resultado del análisis multivariado.....	<b>66</b>
<b>Cuadro 19.</b>	Factores de riesgo asociados a <i>Leptospira interrogans</i> en poblaciones de bovinos en el estado de Veracruz, México.....	<b>67</b>

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Concepto de Sistema Agrario: los cuatro niveles y sus relaciones.....	<b>32</b>
<b>Figura 2.</b> Representación de las tres zonas ganaderas del estado de Veracruz, México .....	<b>39</b>
<b>Figura 3.</b> Seroprevalencia de leptospirosis bovina en el estado de Veracruz, México.....	<b>69</b>
<b>Figura 4.</b> Seroprevalencia de leptospirosis bovina en los municipios seleccionados de Veracruz, México.....	<b>70</b>
<b>Figura 5.</b> Seropositividad de leptospirosis bovina en el estado de Veracruz, México.....	<b>71</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis distribuida en todo el mundo excepto la Antártida; es causada por la bacteria *Leptospira* spp. (Faine, 2000; Quinn *et al.*, 2002). Ésta enfermedad es considerada endémica en países con climas tropicales húmedos y subhúmedos (Vado *et al.*, 2002, Villanueva *et al.*, 2010). La bacteria crece a temperaturas entre 28 y 30°C, puede permanecer por largos periodos en agua o suelo, con un pH de 6.1 a 6.2 y 15.2-31.4% de humedad (Faine, 2000; Céspedes *et al.*, 2006). Sin embargo, la prevalencia varía de acuerdo a factores ambientales y de manejo, algunos de estos factores son la edad, el sexo, la densidad de población y el tipo de sistema de producción, los cuales favorecen la transmisión de la enfermedad en bovinos (Miller *et al.*, 1991; Orjuela *et al.*, 1991). En condiciones tropicales se han encontrado seroprevalencias entre 20.8 y 80.4% (Andicoberry *et al.*, 2001; Leal-Castellanos *et al.*, 2003; Koizumi *et al.*, 2008).

Existen diversas serovariedades que pueden infectar al ganado bovino, las más frecuentes son Hardjo-bovis, Pomona y Grippotyphosa, aunque también puede ser infectado por Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Hebdomadis, Kremastos, Tarassovi, Autumnalis, Australis, Sejroe, Canicola y Bataviae (Faine, 2000). La infección en bovinos se ha clasificado en dos grupos etiológicos: el primero está formado por cepas adaptadas y mantenidas por el ganado, y el segundo grupo lo componen los hospederos accidentales, ya sea adquirido de otros animales domésticos o silvestres (Salinas-Meléndez *et al.*, 2007).

Los bovinos son hospederos de mantenimiento de la serovariedad Hardjo, considerada como una de las principales que afecta a esta especie (Moles *et al.*, 2002; Salinas-Meléndez *et al.*, 2007).

La cual ocasiona baja fertilidad, abortos y disminución en la producción de leche (Faine, 2000; Lilenbaum y Souza, 2003; lo que trae como resultado pérdidas económicas importantes en la ganadería de carne y leche (Aguilar *et al.*, 2006). La transmisión de las enfermedades infecciosas como la leptospirosis, está estrechamente vinculada a los conceptos de espacio, espacio-temporal y proximidad, debido a que la transmisión es más probable que ocurra si los individuos que se encuentran en situación de riesgo tienen mayor cercanía (Ostfeld *et al.*, 2005). En un análisis epidemiológico se debe tomar en cuenta tanto el espacio y el tiempo, dado que el principio básico es examinar la dependencia entre observaciones con relación a estas dos dimensiones, para ello se necesita aplicar métodos de análisis estadísticos y el uso de Sistemas de Información Geográfica (Pfeiffer *et al.*, 2008).

La epidemiología de las enfermedades infecciosas trata de comprender los factores de riesgo o los efectos de causalidad (Thrusfield, 2005). Lo cual se puede centrar en los atributos de las observaciones, así como en la situación de la enfermedad; se necesita de la vigilancia epidemiológica, si se realiza un monitoreo de la enfermedad con el registro de la ubicación geográfica, el patrón espacial del problema epidemiológico pueden ser investigado y planteado de una forma más clara (Pfeiffer *et al.*, 2008). La epidemiología espacial proporciona las herramientas necesarias para la evaluación estadística, aunque muchas de estas herramientas son relativamente desconocidas para su correcta aplicación en el ámbito epidemiológico (Ostfeld *et al.*, 2005).

El estado de Veracruz tiene condiciones climáticas que favorecen el crecimiento de la bacteria, principalmente porque el clima que predomina es cálido, y esto favorece tanto la incidencia

como la prevalencia de la leptospirosis en el ganado bovino (García, 1988; Freitas *et al.*, 2004). Cabe mencionar que el estado ocupa el primer lugar en la producción de carne bovina, con 234 mil ton de carne y el sexto lugar en la producción de leche con 700 millones de litros anuales, siendo el principal productor de ganado bovino en el país (Gobierno del Estado de Veracruz, 2009). Sin embargo, a pesar de la importancia que tiene la ganadería bovina en el estado de Veracruz no existen estudios relacionados con la epidemiología espacial de la leptospirosis bovina y se desconoce su situación epidemiológica (SAGARPA, 2009). Por ello, los objetivos de este trabajo fueron identificar y posicionar los focos de infección, estimar la seroprevalencia e identificar los factores de riesgo asociados a leptospirosis bovina en el Estado de Veracruz, México.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Antecedentes históricos de la leptospirosis

La historia de la leptospirosis está ligada a la fiebre amarilla, mucho tiempo después de que Weil en 1886 descubriera la ictericia infecciosa, la cual lleva su nombre “enfermedad de Weil” (Stimson, 1907). En Nueva Orleans, durante una epidemia de fiebre amarilla, se analizó un riñón de una persona muerta, por fiebre amarilla, y se encontró dentro del mismo una leptospira típica a la cual se le dio el nombre de *Leptospira interrogans* por presentar sus extremos curvos (Inada *et al.*, 1916).

No fue hasta el año 1920, que el investigador japonés Noguchi, encontró esta misma leptospira en Guayaquil, Ecuador, en sangre y materiales de autopsia de casos que se diagnosticaron con fiebre amarilla, y le dio por primera vez el nombre *Leptospira icteroides*.

Los estudios de Noguchi sobre *Leptospira* fueron confirmados por Pérez Grovas en 1921, ya que en la ciudad de Veracruz, se aislaron leptospiras en pacientes que habían sido diagnosticados con fiebre amarilla (Gavaldón *et al.*, 2003).

En México, los primeros casos de leptospirosis fueron identificados por Gastélum en Mazatlán, quien cultivó leptospiras de *Rattus norvegicus* de Veracruz, por su parte Bustamante descubrió casos de leptospirosis en Tampico publicado por Castañeda en 1928 (Carrada-Figueroa *et al.*, 2002). En 1930, Varela y Vázquez reanudaron las investigaciones de leptospirosis encontrando bovinos infectados en la ciudad de México (Varela y Roch, 1995). Martell *et al.*, (1969), aislaron

una cepa de leptospira a partir de un feto de bovino, proveniente de la región de Coacalco, Estado de México, a la cual le dieron el nombre de La Palma perteneciente al serogrupo Sejröe.

Posteriormente, aislaron del riñón de un feto bovino el serovar Hardjo, Hardjoprajtino, cepa H-89 (Salomón *et al.* (1989). Estudios serológicos posteriores han demostrado que es una cepa que se encuentra ampliamente distribuida en México y es responsable de los problemas reproductivos que afectan al ganado bovino (Andicoberry *et al.*, 2001). En algunos otros países como Irlanda, los factores de riesgo asociados a *L. Hardjo* en hatos lecheros incluye: hatos grandes, co-pastoreo con ganado infectado y borregos, acceso del ganado a fuentes de agua contaminada, monta directa y hembras de reemplazo (Ryan *et al.*, 2012). Sin embargo, no se ha confirmado que tipo molecular de Hardjo es la que se encuentra en México

## **2.2 Taxonomía y microbiología**

Las leptospiras son bacterias helicoidales móviles, miden 0.1 x 6-12 µm, y tienen extremos en forma de gancho. Aunque son Gram negativas, no se tiñen mediante los colorantes bacteriológicos convencionales, por lo que se visualizan por medio de la microscopía de campo oscuro (Quinn *et al.*, 2002).

El género *Leptospira* fue dividido en dos especies: *L. interrogans*, que comprende todas las serovariedades patógenas y *L. biflexia*, la cual comprende a las serovariedades saprófitas aisladas del ambiente (Levett, 2001; Rodríguez-Vivas, 2005). La *L. biflexia* fue diferenciada de *L. interrogans* por su crecimiento a 13°C en presencia de azaguanina (Faine, 2000). *Leptospira interrogans* se clasifica en 23 serogrupos y 200 serovariedades (Faine, 2000; Levett, 2001).

Actualmente, la clasificación de leptospiras se realiza mediante homología del ADN y son llamadas genomoespecies, dentro de cada especie se diferencian las serovariedades según su reacción serológica (Ellis *et al.*, 1991; Faine, 2000; Adler y De la Peña Moctezuma, 2010). El genoma de las leptospiras consiste en dos cromosomas circulares largos, comparado con el de otras espiroquetas como *Treponema* spp. y *Borrelia* spp., lo cual le confiere su habilidad de vivir en diversos ambientes: *hospederos* animales y libremente en el ambiente (Barthi *et al.*, 2003).

La clasificación genotípica está basada en estudios de hibridación de las cuales 20 genomoespecies han sido identificadas con nueve genomoespecies patógenas, que son: *L. borgpetersenii*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. interrogans sensu stricto*, *L. kirschneri*, *L. meyeri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* y *L. weili* (VKE, 2011). En la última década, *L. kmetyi* fue aislada del suelo en Johor Malasia, la cual no tiene correlación entre genomoespecies y serovariedades (VKE, 2011; Barthi *et al.*, 2003).

Las leptospiras son microorganismos aerobios estrictos, cuya temperatura óptima de crecimiento está comprendida entre 29 y 30°C, su tiempo medio de generación es de unas 12 horas, el medio favorable de crecimiento es el suero de conejo (en concentraciones  $\leq 10$  por ciento), esto debe ser incorporado con distintas soluciones tales como solución salina fisiológica, mezcla de peptonas, vitaminas, electrolitos y sustancias tampón (buffer) (Biberstein y Chung, 1994). Estas crecen en una atmósfera de oxígeno microaerofílica y aeróbica, utilizando como principal fuente de energía y carbono a los ácidos grasos de cadena larga, aunque también utilizan los de cadena corta; no obstante, los ácidos grasos pueden ser tóxicos, por lo tanto deben liberarse con lentitud al medio

de cultivo, utilizando un desintoxicante como la albúmina bovina, el monoleato de polioxietileno y sorbitán (Faine, 2000).

Existen otros medios de cultivo que tienen mejores resultados en el crecimiento de las bacterias, como los creados por Ellinghausen y McCullough, los cuales fueron probados en estudios previos sobre la nutrición de micobacterias y treponemas; estos estudios ayudaron a ser probados en leptospiras, se asumió que crecerían mejor en medios con ácidos grasos de cadena larga, utilizando como compuesto nutricional medio de albumina modificado por Johnson y Harris (EMJH), esto es importante porque ya no era necesario utilizar el suero completo de otros animales, como el de conejo (Faine, 2000).

### **2.3 Generalidades de la enfermedad**

La leptospirosis una enfermedad sistémica de humanos y animales, afecta principalmente a perros, bovinos y cerdos (Levett, 2001), se caracteriza generalmente por fiebre, insuficiencia renal y hepática, manifestaciones pulmonares y falla reproductiva (Escamilla *et al.*, 2007). Los signos clínicos son variables, muchos de los casos son probablemente inadvertidos y asociados con las serovariedades del hospedero de mantenimiento (Cuadro 1) (Adler y De la Peña-Moctezuma, 2010).

#### **2.3.1 Vías de infección**

Las vías de infección son de dos formas; directa e indirecta (Ingraham e Ingraham, 1998). La transmisión directa entre los animales se da a través de la orina contaminada, fluidos uterinos post aborto, placenta infectada, contacto sexual o infección en útero (Howeorth *et al.*, 1994). Las

fuentes de contagio son de gran importancia en las infecciones causadas por la serovariedad *L. interrogans* Hardjo, los brotes causados por esta serovariedad se presentan en forma independiente en la época de lluvias y no están determinados por los sistemas de manejo de las unidades de producción (Kita y Anusz, 1991).

La transmisión indirecta juega un papel muy importante en las infecciones esporádicas que ocurren cuando hay una exposición en un ambiente contaminado con material infectado y esto favorece la sobrevivencia de la bacteria fuera del hospedero, así como por un sistema de manejo que facilita el contacto entre el portador y los animales susceptibles (Acha y Szyfres, 2001).

### **2.3.2 Ecología y factores de riesgo de la leptospirosis**

Las leptospiras pueden permanecer fuera del hospedador por periodos largos en condiciones de calor y pH cerca del neutro. Sin embargo, el periodo de tiempo fuera del hospedero depende de la serovariedad (Miller *et al.*, 1991). En las zonas tropicales donde las épocas secas son marcadas, la escasez de agua aumenta el uso de fuentes inapropiadas para el consumo de agua, con ello se desencadena un incremento de la concentración de organismos patógenos en aguas de los abastecimientos lo que trae consigo un problema de salud pública (Ballester *et al.*, 2006). Sandow y Ramírez (2005) aseguran que a medida que las lluvias disminuyen durante el año, el número de casos positivos de leptospirosis aumentan. Esto se puede deber al cambio de régimen de las precipitaciones, las cuales pueden influir en el transporte y la diseminación de agentes infecciosos y al incremento de la temperatura ( $\geq 30^\circ$ ), en donde el crecimiento y la supervivencia pueden disminuir, lo cual es favorable para la transmisión del patógeno. Esto indica que los casos positivos se pueden encontrar en ambas condiciones, sea en época de lluvias o en época de

sequias (Freitas, 2004). *Leptospira interrogans* vive en los túbulos renales de los mamíferos, por ello la excreción de leptospiras de mamíferos portadores es la fuente principal de contaminación en el ambiente (Faine, 2000). Ballesteros *et al.* (2006) reporta que también ha sido aislada de aves, reptiles, anfibios e invertebrados (Biberstein y Chung, 1994). El principal problema que se deriva al mantener la infección en un hato es la presencia de animales enfermos, aunque existe la posibilidad de que cuando lleguen a recuperarse de la enfermedad, éstos permanezcan como portadores asintomáticos el resto de su vida. El mantenimiento de la enfermedad en un hato también ocurre en los animales susceptibles, y tiene lugar en la práctica de retirar los terneros machos y hembras después del nacimiento para criarlos en áreas apartadas y reintegrarlas al hato al estar gestantes, algunos animales no adquieren inmunidad aunque hayan sido vacunados (Carroll y Campbell, 1987; Guerreiro *et al.*, 2001).

Las infecciones por leptospirosis en animales de acuerdo al tipo de serovariedad se pueden clasificar en dos grupos: el primero consiste a serovariedades adaptadas y provenientes de los reservorios, las cuales son independientes de la región o el periodo de lluvia; el segundo consiste en infecciones incidentales causadas por serovariedades provenientes de otros animales domésticos y de vida libre, los cuales son dependientes de los factores ambientales y del manejo de las unidades de producción (Lilenbaum *et al.*, 2007). Los reservorios más importantes de acuerdo a la serovariedad que alojan, son las ratas (*Icterohaemorrhagiae*), perros (*Canicola*), cerdos, bovinos (*Pomona*), bovinos (*Hardjo*) y animales silvestres (*Grippothyphosa*, *Australis* y *Ballum*); sin embargo, existen otras especies que pueden ser infectadas accidentalmente con otras serovariedades tales como los perros, bóvidos, cerdos, fauna silvestre (*Icterohaemorrhagiae*), bovinos, cerdos, roedores silvestres (*Canicola*), perros, animales

silvestres (Pomona), ovinos (Hardjo), animales domésticos (Grippothyohisa, Australis, Ballum), cerdos, caballos y bovinos (Bratislava) (Faine, 2000; Freitas, 2004).

Ciertas serovariedades están asociadas frecuentemente con uno o más reservorios (Guerreiro *et al.*, 2001). Sin embargo, algunos animales pueden infectarse con una cepa virulenta de varias serovariedades, aunque todavía no está claro si estas relaciones surgen a partir de las coincidencias geográficas y ecológicas o de propiedades biológicas relacionadas entre sí (Levett, 2001). El ganado bovino puede ser infectado por diferentes serovariedades (Cuadro 1) tales como Hardjobovis, Pomona y Grippotyphosa. Aunque también es susceptible a Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Hebdomadis, Kremastos, Tarassovi, Autumnalis, Australis, Sejroe, Canicola y Bataviae (Faine, 2000). De tal forma que las serovariedades Hardjo, Grippothyphosa y Pomona son las más comunes causantes de abortos, infertilidad, ictericia, fiebre, agalactia, hemoglobinuria y nacimiento de becerros prematuros (Carroll y Campbell, 1987; Faine, 2000).

**Cuadro 1.** Serovariedades de *Leptospira interrogans* que afectan animales domésticos.

Serovariedad	Especie Hospedera	Condiciones clínicas
<i>L. borgpetersenii</i> Hardjo	Bovinos, ovinos Humanos	Abortos, mortinatos, agalactia. Características clínicas parecidas a la influenza; ocasionalmente daño hepático y renal.
<i>L. borgpetersenii</i> Tarassovi	Cerdos	Falla reproductiva, abortos y parto prematuro.
<i>L. interrogans</i> Bratislava	Cerdos, caballos, perros	Falla reproductiva, abortos y parto prematuro.
<i>L. interrogans</i> Canicola	Perros	Nefritis aguda en cachorros. Enfermedad renal crónica en adultos.
	Cerdos	Abortos y muertes prematuras. Enfermedades renales en cerdos jóvenes.
<i>L. interrogans</i> Grippytyphosa	Bovinos, cerdos, perros	Enfermedad septicémica en animales jóvenes, abortos.
<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae	Bovinos, ovinos, cerdos Perros, humanos	Enfermedad septicémica en becerros, lechones y terneros. Enfermedad hemorrágica periaguda, hepatitis aguda con ictericia.
<i>L. interrogans</i> Pomona	Bovinos, ovinos Cerdos Caballos	Enfermedad hemolítica aguda en becerros y terneros, abortos Falla reproductiva, septicemia en lechones. Abortos y oftalmia periódica.

Fuente: Quinn *et al.* (2002).

Algunas especies de animales silvestres actúan como reservorios para *Leptospira* tales como: roedores ferales, marsupiales y aves; además se han aislados leptospiras de riñones de ranas, aunque sin evidencia patológica. El rol de los peces como potencial vector ha sido ignorado, solo existe un estudio experimental en peces dorados (Everard y Everard, 1993). Sin embargo, las formas clínicas de leptospirosis son raras en ellos (Dierauf *et al.*, 1985), la forma clínica más

común en mamíferos silvestres es el aborto (Guerreiro *et al.*, 2001). Se han reportado brotes de leptospirosis en leones marinos y rinocerontes en cautiverio (Dierauf *et al.*, 1985; Jessup *et al.*, 1992; Godínez *et al.*, 1999).

La excreción de leptospiras en la orina pueden contaminar el suelo, agua o alimento. Esta excreción de leptospiras es de forma intermitente o regular (Godínez *et al.*, 1999); por ejemplo, los rangos de excreción en ganado bovino varían por animal y tiempo, desde pocos mililitros a 108 ml de orina (Thiermann, 1982; Ellis *et al.*, 1982; Faine *et al.*, 1999). Éstos animales son una fuente importante de infección, no sólo para otros bovinos sino para los seres humanos (Waitkins, 1986).

Existen factores de riesgo importantes que facilitan la infección, tales como la introducción poco controlada de animales de la misma especie que conlleva el riesgo de comprar animales portadores asintomáticos, la convivencia de los bovinos con otras especies domésticas, como por ejemplo, los ovinos que favorecen la presentación de brotes de leptospirosis causados por la serovariedad Hardjo, como en el caso de la maquila de sementales y el acceso del ganado a los ríos y arroyos que pueden estar contaminados con orina de animales infectados (Zieris, 1991).

En el sector pecuario, los roedores son los principales portadores y diseminadores de la bacteria, los cuales contaminan los comederos y bebederos de los bovinos que se encuentran en sistemas de producción intensivos a través de su orina y esto incrementa el riesgo de presentar la enfermedad (Faine, 2000; Sepúlveda *et al.*, 2001). Los perros son portadores de la serovariedad Canicola, y son otra fuente importante de diseminación de la bacteria y de la transmisión de la

enfermedad al ganado bovino; su presencia incrementa el riesgo de adquirir la enfermedad debido a que en las zonas rurales son utilizados para cuidar las unidades de producción aunque no siempre existe un cuidado zoonosanitario para ellos y pueden padecer la enfermedad (Faine, 2000; Adler y De la Peña Moctezuma, 2010).

### **2.3.3 Virulencia y patogenicidad**

Los mecanismos específicos por los cuales las leptospiras causan daño a los tejidos del hospedero y enferman en forma continua sigue sin entenderse con exactitud (Levett, 2001). Un supuesto número de factores que ocasionan la virulencia han sido sugeridos, pero con pocas excepciones no han sido muy claras a la fecha (Levett, 2001; Adler y De la Peña Moctezuma, 2010).

El lipopolisacárido (LPS) de leptospira es el componente de superficie más abundante en las leptospiras y contribuye a la patogenicidad asociada con la enfermedad (Isogai *et al.*, 1990). La estructura del LPS está formada por hexosas comunes, amino-hexosas y pentosas, algunos azúcares raros en LPS como xilosa y arabinosa (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010). Azúcares metilados y O-acetilados también han sido reportados (Yanagihara *et al.*, 1983). Sin embargo, la composición es similar a la del LPS de otras bacterias Gram negativas. A pesar de las similitudes estructurales, bioquímicas e inmunológicas del LPS de las leptospiras, de las bacterias Gram negativas, puede activar macrófagos y actuar como un mitógeno de células B que son productoras de anticuerpos (Isogai *et al.*, 1990).

Se ha establecido de forma clara que el desarrollo de una respuesta inmune humoral durante la leptospirosis es importante en la resistencia a la infección (WHO, 1999). Dicha inmunidad parece depender de la producción de anticuerpos aglutinantes y opsónicos, dirigidos contra determinantes antigénicos serovariedad o serogrupos específicos (Russell, 1956).

Hasta hace algunos años todos los antígenos protectores que se habían logrado identificar eran de naturaleza glicolípida. Aunque han sido llamados de diferentes formas (F4, TM, PE, Pag, LLS, LPS), está claro que todos derivan del lipopolisacárido de leptospira y presentan características distintivas en cuanto a actividad biológica y endotóxica. La protección conferida por estos lipopolisacáridos es serovar específico (Masuzawa *et al.*, 1999).

La patogenicidad de la leptospirosis se relaciona con la virulencia de la serovariedad y la susceptibilidad de la especie hospedera. En ocasiones la enfermedad puede ser severa en hospederos de mantenimiento, comúnmente ocurren enfermedades serias en hospederos incidentales. Existe poca información sobre factores de virulencia y mecanismos de la producción de la enfermedad. La enfermedad se disemina en el cuerpo por vía sanguínea pero sigue la aparición de anticuerpos durante 10 días después de la infección. Algunos organismos pueden evadir la respuesta inmune y persistir en el cuerpo, principalmente en los túbulos renales pero también en los uréteres, ojos o meninges (Quinn *et al.*, 2002).

Las leptospiras virulentas resisten la acción bactericida del complemento y de los neutrófilos de hospederos no inmunes (Cinco y Banfi, 1983; Wang *et al.*, 1984); sin embargo, en presencia de anticuerpos específicos las bacterias son destruidas rápidamente por cualquiera de los

mecanismos de respuesta inmune (celular y humoral) (Anderson y Johnson, 1968; Vinh *et al.*, 1982; Farrely *et al.*, 1987). No existe evidencia de toxinas secretadas por *Leptospira* spp. (De Brito *et al.*, 1992), aunque estas tienen la habilidad para invadir células e inducir apoptosis en macrófagos, lo cual está correlacionado con su virulencia (Merien *et al.*, 1997; Barocchi *et al.*, 2002). Las leptospiras no son patógenos intracelulares; sin embargo, estas bacterias deben penetrar las barreras epiteliales y endoteliales para su distribución por vía hemática para poder alojarse en órganos blanco como los riñones y el hígado (Merien *et al.*, 2000). En un estudio las leptospiras virulentas fueron capaces de atravesar una monocapa de células Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) epiteliales polarizadas (Barocchi *et al.*, 2002) con mayor eficacia que cepas no virulentas (Merien *et al.*, 2000; Barocchi *et al.*, 2002). Lo anterior se refiere a la facultad de las leptospiras para atravesar las células y lesionar los órganos blancos.

Los signos de leptospirosis en bovinos van desde leves hasta signos severos y febriles, en los cuales se clasifica como una fase aguda y subaguda; la fase aguda y subaguda inicia con signos de malestar e inquietud, pérdida de apetito, depresión, debilidad, anemia con fiebre entre 1 y 2.5 °C arriba del promedio, durante 4-5 días (Faine *et al.*, 1999). En bovinos en fase de lactancia, la leche puede ser amarilla y con grumos, seguido por una disminución de la producción de leche durante pocos días o de 2 a 3 semanas (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010). En casos más severos, el primer signo de leptospirosis puede ser la hemoglobinuria subyacente a una anemia hemolítica, la orina puede ser roja, en algunos casos muy oscura casi de color negro (Faine, 2000).

### 2.3.4 Inmunidad

La inmunidad de un animal es específica para cada serovariedad debido a los antígenos aglutinantes, es importante mencionar que aunque existan títulos bajos de anticuerpos en animales inmunizados son de protección (Jost *et al.*, 1989). La IgM opsoniza a las leptospiras de tal forma que son fagocitadas en los órganos del sistema mononuclear fagocitario (retículo-endoteliales) presentes en hígado, bazo, pulmones y nodos linfáticos, lo que resulta en la rápida eliminación de leptospiras al torrente sanguíneo (Vinh *et al.*, 1986). Las leptospiras son capaces de persistir en algunos sitios inmunológicamente privilegiados, después de que anticuerpos y fagocitos las han eliminado de otros sitios (Faine, 2000). Los anticuerpos contra *L. interrogans* se producen temprano durante la infección, los títulos máximos son alcanzados en 2 a 3 semanas. Las leptospiras pueden ser inactivadas de forma directa por el complemento, opsoninas o inmunoglobulinas específicas contra epítomos del LPS. Estas aparecen como formas degeneradas esféricas dentro de los macrófagos y granulocitos. Los epítomos específicos protectores de las leptospiras son complejos de oligosacáridos que incluyen azúcares fosforilados y amino azúcares de las cadenas laterales del LPS (Jost *et al.*, 1989). Anticuerpos monoclonales contra el LPS resultaron protectores contra leptospirosis en cuyo y hámster (Jost *et al.*, 1989; Schoone *et al.*, 1989).

En general, la IgM es identificada dentro de los primeros 10 días de la infección en bovinos, pero algunas veces el tiempo se puede prolongar. En algunos individuos, la IgG nunca aparece y en otros es la primera respuesta en identificarse (Jost *et al.*, 1989; Schoone *et al.*, 1989). La respuesta inmune a las leptospiras es casi completamente mediada por células B tanto en la infección inicial como en la respuesta inmediata a la reinfección (Adler y Faine, 1977; Adler *et*

*al.*, 1980). La resistencia a la reinfección depende en apariencia de anticuerpos dirigidos contra los antígenos, serovariedad o serogrupo específicos (Jost *et al.*, 1989). Al presentarse infecciones subsecuentes en el mismo organismo, estas suceden por lo general por una serovariedad distinta (Zuerner *et al.*, 1991). Se estima que las IgG específicas persisten después de un episodio simple hasta por 0.5 a 20 años o más (Bolin *et al.*, 1989) Los anticuerpos contra LPS son un importante componente de la respuesta inmune en algunos animales (Jost *et al.*, 1989).

Naiman *et al.* (2001), probó una bacterina contra la serovariedad Hardjo, e indujo fuertes respuestas proliferativas antígeno específicas por células periféricas mononucleares en los individuos estudiados, así mismo un tercio de las células mononucleares produjeron interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) del tipo CD4+. Sus resultados indicaron que ésta vacuna protectora indujo una respuesta inmune de tipo celular en contraste con la creencia de que la inmunidad protectora contra la leptospirosis es primariamente de tipo humoral.

Guerreiro *et al.* (2001), confirmaron que los anticuerpos contra LPS son predominantemente IgM, mientras que los anticuerpos contra las proteínas son del tipo IgG. Otros estudios de inmunohistoquímica demostraron una reactividad intensa contra LipL32 en riñones de hamsters infectados con *L. interrogans* Griptophosa la cual resulta consistente con una expresión *in vivo* (Haake *et al.*, 2002). Del mismo modo, la lipoproteína LipL41 es reconocida por anticuerpos producidos durante la infección de leptospiras (Haake *et al.*, 1999).

## **2.4 Técnicas diagnósticas**

Las técnicas utilizadas para leptospira se pueden dividir en dos grandes grupos: técnicas indirectas, basadas en la detección de anticuerpos en respuesta inmunológica a las *Leptospiras* como antígenos, y técnicas directas que se basan en la detección de las *leptospiras* y/o ácidos nucleicos en los tejidos ó bien en fluidos corporales (Levett, 2001). En el caso de las muestras procedentes de fetos, las técnicas directas están más indicadas que las indirectas, ya que el diagnóstico individual tiene mayor importancia (Andycoberry *et al.*, 2001). Debido a la diversidad de signos clínicos, el diagnóstico de leptospirosis es difícil y depende de una variedad de ensayos en el laboratorio, tal es el caso de la técnica de aglutinación microscópica (MAT), ensayo por hemaglutinación indirecta (IHA) o por ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Levett, 2001). Las leptospiras o sus componentes se pueden detectar en la orina o tejidos por medio de cultivos, microscopía de campo oscuro o por reacción en cadena de polimerasa (PCR) (Bharti *et al.*, 2003).

### **2.4.1 Diagnóstico indirecto**

La Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) es una prueba indirecta y la más utilizada por su ventaja en utilizar antígenos específicos, o por lo menos uno de los principales de cada serogrupo (Faine *et al.*, 1999). Por otro lado, esta técnica tiene la desventaja de no discriminar los resultantes de una infección o vacunación; sin embargo, el criterio para considerar a un animal clínicamente positivo es  $\geq 1:100$ , con presencia de signos clínicos (Faine *et al.*, 2000). Contrario a lo anterior, la sensibilidad y especificidad de MAT es muy alta, aunque puede presentar otro problema, debido a que se requieren cultivos vivos de diferentes serovariedades de *Leptospira* spp prevalentes en un área geográfica particular y los laboratorios deben tener los

estándares tal como el laboratorio de referencia de la Sociedad Internacional de Leptospirosis (ILS) (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010).

El Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) se utiliza con amplia variedad de preparaciones antigénicas de leptospiras a lipoproteínas recombinantes tal como LipL32, LigA o la membrana externa OmpL1; los resultados de este método se deben confirmar mediante la técnica MAT u otras técnicas serológicas como la aglutinación por látex, ensayo de flujo lateral y tiras reactivas de IgM (Levett, 2001).

#### **2.4.2 Diagnóstico directo**

Es el diagnóstico directo es el definitivo, pero no es el más utilizado porque la tasa de crecimiento y los periodos de incubación de la bacteria son lentos (Faine *et al.*, 1999). El periodo de incubación a 30°C es mayor a 13 semanas con una examinación semanal en microscopio de campo oscuro, es por ello, que el cultivo no se considera como de rutina pero si de importancia para propósitos epidemiológicos.

Una gran variedad de protocolos de PCR (Reacción en cadena de polimerasa) para la detección de ADN (Ácido desoxirribonucleico) leptospiral ha sido estudiada desde 1990, la mayoría con alta sensibilidad. Sin embargo, solo dos han sido evaluados en estudios (Brown *et al.*, 1995; Merien *et al.*, 1997) y aplicados en diagnósticos clínicos. El protocolo de Merien *et al.* (1997), es un ensayo específico de género, el cual amplifica el ADN de ambos grupos de leptospira, tanto patógenas como no patógenas. Por otro lado, Brown *et al.* (1995), utilizó dos grupos de iniciadores (primers) para detectar todas las especies consideradas patógenas.

## **2.5 Epidemiología de la leptospirosis.**

Leptospirosis fue formalmente considerada como una enfermedad primariamente ocupacional, asociada con actividades como la ganadería y la medicina veterinaria (Bharti *et al.*, 2003), aunque los riesgos ocupacionales han disminuido desde la implementación de medidas preventivas en la sociedad; sin embargo, en países desarrollados muchos de los casos están asociados a catástrofes naturales, como las inundaciones (Haake *et al.*, 2002).

La biodiversidad de las leptospiras en el ambiente está afectada por la geografía, clima, interacciones bióticas y actividades antropogénicas (Vinetz *et al.*, 1996). Los cambios en la biología y/o conducta poblacional, así mismo en la ecología de las espiroquetas y sus hospederos han traído como consecuencia una fuerte transformación en el ciclo de transmisión de la enfermedad (Bharti *et al.*, 2003). Por ello, el conocimiento sobre el mecanismo de la patogénesis es muy limitado, pero se sabe que está dividido en efectos directos de la *Leptospira* y la respuesta inmune a la infección del hospedero (Ren *et al.*, 2003). Lo anterior complica el poder establecer calendarios de vacunación en las regiones, dado que la enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo excepto la Antártida (Levett, 2001), y las serovariedades varían de acuerdo al tipo de hospedero, de acuerdo a los sectores en los que se estudie tales como rurales y urbanos, en los rurales, los reservorios de *Leptospira* los constituyen los bovinos, porcinos, equinos y roedores silvestres, mientras que en las zonas urbanas lo constituyen los roedores y los perros (Perret *et al.*, 2005).

### **2.5.1 Epidemiología de la leptospirosis bovina a nivel internacional**

Los casos de leptospirosis en el ámbito internacional son muy variados, en humanos se ha reportado una incidencia de 0.1-1/100 000 habitantes en países con clima templado y 10-100/100 000 habitantes en países tropicales (WHO, 2003). No hay datos exactos de la incidencia de la enfermedad en bovinos, pero son necesarios estudios serológicos y bacteriológicos en diferentes partes del mundo para determinar la prevalencia de leptospirosis en humanos y animales (WHO, 2000).

En el sureste de Asia en el Valle Cauvery se realizó un estudio en ganado lechero, de los cuales el 87% de los bovinos resultaron positivos a MAT (punto de corte del título de 1:80), y las serovariedades encontradas fueron Autumnalis (22.1%) y Hardjo (13.3%) (Natarajaseenivasan *et al.*, 2011).

En Irlanda, se asoció el 49.7% de bovinos positivos a leptospirosis en 348 abortos causados por la serovariedad Hardjo en 1982 (Ellis *et al.*, 1991). Esta asociación es debido a que el aborto es un signo en la enfermedad crónica, la cual se presenta semanas después de la leptospiremia (Ochoa *et al.*, 2000). Sin embargo, en otro estudio realizado durante 2012 en Irlanda, se reportó una seroprevalencia a nivel nacional de 82.29% (237/288 hatos) a nivel hato (Ryan *et al.*, 2012).

En un estudio realizado en la provincia de Ardahan, Turquía de un total de 178 muestras 63 (38.6%) fueron positivos a ELISA y 46 (28.2%) a MAT (Genc *et al.*, 2005). Otro estudio realizado en Hatay, Turquía, reportó una seroprevalencia de 8.8% con MAT y 14% con ELISA y las serovariedades más frecuentes fueron Icterohaemorrhagie (31.9%) y Grippotyphosa (20.8%),

en ambas pruebas se observó que de 462 bovinos hembras, 43 (9.3%) fueron positivas (Ozkan y Ozdemir, 2005).

En República Democrática Popular Lao se reportó una seroprevalencia de 3% de un total de 905 sueros de bovinos (Vongxay *et al.*, 2012).

En Tehran, Irán reportaron una seroprevalencia de 14.5% (55/380) con la técnica MAT y los títulos de anticuerpos en contra de más de una serovariedad se encontraron en 27 sueros, con la técnica ELISA se observó una seroprevalencia de 22.4% (85/380); sin embargo, en las PCR's realizadas no se detectó ADN de las muestras de suero y orina colectadas de la seis unidades de producción lecheras (Sakhaee *et al.*, 2007).

Odontsetseg *et al.* (2005), realizaron un estudio en Mongolia, analizaron un total de 203 sueros de bovinos colectados aleatoriamente en rangos de edad de 3 a 8 años, raza mongol de múltiples propósitos zootécnicos obteniendo una seroprevalencia de 80.4% (86/107) en la provincia de Dornod, 28.9% (13/45) en la provincia Arkhangai y 23.5% (12/51) en Khuvsgul.

La prevalencia de leptospirosis en ganado originario de pastizales comunales de KwaZulu-Natal, Sudáfrica fue de 19.4% (IC<sub>95%</sub>:14.8-24.1). A nivel distrital en Sudáfrica la prevalencia de leptospirosis varió de 0 a 63% en el ganado bovino (Hesterberg *et al.*, 2009).

En un estudio realizado en pequeñas regiones tropicales en Nueva Caledonia se reportaron prevalencias de 58% (204/350) donde el 74.6% (85/114) de los hatos tuvieron un animal positivo

a leptospirosis y los serogrupos más frecuentes fueron Sejroe (59.3%), Tarassovi (19.6%) y Pomona (7.8%; Desvars *et al.*, 2011).

En Texas, Estados Unidos, se analizaron sueros de 1193 bovinos por MAT y 463 bovinos fueron positivos (38.8%) y la serovariedad más frecuente fue Pomona (15%) (Talpada *et al.*, 2003).

En Venezuela se reportó una seroprevalencia de 40.8% de leptospirosis en bovinos que presentaron abortos. Sin embargo, a pesar de la importancia en el sector pecuario, en algunos países como Colombia, la leptospirosis no es una enfermedad de notificación obligatoria y son pocos los estudios sobre prevalencia y su impacto económico (Ochoa *et al.*, 2000). Otro estudio en Caracas reportó que las serovariedades más frecuentes fueron Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Autummalis y Australis. El aislamiento del *L. interrogans* serovariedad Copenhageni fundamenta el papel de ratas domésticas como principal reservorio de la infección (Cermeño-Vivas *et al.*, 2005) En Monte Negro, se reportó una seroprevalencia de 95.3%, los animales no estaban vacunados contra leptospirosis (Aguiar *et al.*, 2006).

### **2.5.2 Epidemiología de la leptospirosis bovina a nivel nacional**

En relación a estudios realizados en animales de México se han reportado prevalencias del 35% en vacas Holstein en el estado de México, el factor de riesgo en dicho estudio fue tener contacto con cerdos (OR: 1.9; 95% CI 1.3-2.7) (Leal-Castellanos *et al.*, 2003). En Yucatán reportaron tres especies de animales con altos títulos de anticuerpos contra *Leptospira* y una prevalencia en cerdos 25%, perros 19% y roedores 15% y bovinos 25.6%. Las serovariedades reportadas en cerdos fueron *Leptospira interrogans* Bratislava y Panama; en bovinos fueron *L. interrogans*

Hardjo y Tarassovi y en roedores fueron *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae, Wolffi y Bratislava (Vado-Solís *et al.*, 2002).

Estudios serológicos realizados a nivel nacional por la Universidad Autónoma Metropolitana, han reportado una seroprevalencia de 31.1% en bovinos a más de una serovariedad de *L. interrogans*. Así mismo, la frecuencia de seropositividad de leptospirosis que se menciona en las publicaciones de diferentes países, en términos generales, muestra una aproximación sobre la situación que guarda esta enfermedad en México (Moles *et al.*, 2002).

En otro estudio realizado en el estado de Yucatán, utilizando la técnica de aglutinación microscópica, se reportó un total de 62.8% de vacas positivas, la seroprevalencia se debió probablemente, a que la vacunación contra leptospirosis no se practica en Yucatán. Las serovariedades más frecuentes fueron Hardjo (54.1%) y Tarassovi (53.3%) (Segura-Correa *et al.*, 2003). Del mismo modo, en un estudio en Querétaro la serovariedad más frecuente fue Hardjo y en el mismo estudio reportaron que estuvo asociada a la presencia de abortos en bovinos (Escamilla *et al.*, 2007).

La cepa H89 fue aislada de un feto bovino abortado en una cuenca lechera cercana a Pachuca, Hidalgo, esta cepa es una de las causantes de abortos en bovinos (Solís, 1997). Estudios en México dilucidaron resultados con la serovariedad Hardjo, cepa Hardjo-89, la cual es más frecuente y en segundo lugar de importancia se encuentra la serovariedad Wolffi. Por otro lado, la serovariedad Tarassovi también aparece entre las más importantes, mientras que las serovariedades Icterohaemorrhagiae, Grippothyphosa, Pyrogenes, Pomona y Bratislava varían en

importancia de un estudio a otro. Sin embargo, las proporciones de positividad en los animales de estas leptospiras son reducidas (Torres, 2001). Por tanto, es necesario realizar un diagnóstico con una amplia diversidad de serovariedades en las zonas donde no se conozca la situación de leptospirosis y de acuerdo al perfil serológico de los animales a los que se va a inmunizar, se deberá elegir la bacterina que está elaborada con las demás serovariedades importantes en el hato en particular (Torres, 2001).

Al estudiar nueve casos en humanos positivos provenientes de Tabasco y uno de Chiapas, entre 1996 y 1997 (Vado-Solís, 2002), se encontró que cinco convivían con perros, cuatro se introducían en aguas pantanosas con hábitos de caminar descalzos y presencia de ratas en su vivienda. Así mismo, se reportó la coexistencia de leptospirosis y dengue en tres de los casos estudiados. Ese mismo año, la Secretaría de Salud de Tabasco emitió una alerta epidemiológica en la que solicitó que los casos sospechosos o confirmados fueran reportados de forma inmediata a las jurisdicciones sanitarias.

En un estudio de tipo epidemiológico realizado por Moles-Cervantes *et al.*, (2002), en varias regiones de México, se analizaron 4,043 sueros de bovinos utilizando la técnica de MAT, en el que se tomó el rango de dilución 1:100 o mayor como positivo; así se obtuvo una seroprevalencia de 31.1%. Las serovariedades más frecuentes de *L. interrogans* fueron para Hardjo, Wolffii y Tarassovi (Moles-Cervantes *et al.*, 2002).

En 1993 se realizó, una prueba de identificación de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en bovinos de hatos lecheros en el valle de Atlixco, Puebla, mediante la prueba de MAT. De una

muestra de 116 animales, 98 (84.48%) resultaron positivos y 18 (15.52%) negativos, la mayoría de los sueros reaccionaron contra más de una serovariedad (Fernández *et al.*, 1993). La serovariedad con mayor número de reactores fue Icterohaemorrhagiae con una frecuencia de 45.7%, le siguen en orden decreciente Pyrogenes (21.5%), Pomona (13.8%), Canicola y Celledoni (12.9%); el resto de las serovariedades reaccionaron en menor grado. De las 18 serovariedades que se emplearon para el diagnóstico de los sueros, sólo Tarassovi resultó negativa (Fernández *et al.*, 1993).

Los estudios epidemiológicos publicados en revistas internacionales sobre leptospirosis tanto en bovinos como en fauna silvestre son escasos. Sin embargo, existe un estudio realizado en el zoológico de Chapultepec, en el que se analizaron sueros de 19 especies animales, para conocer la frecuencia serológica y el perfil inmunológico. Se analizaron 48 sueros utilizando la técnica de MAT, empleando 12 serovariedades de *Leptospira*, considerando positivos los sueros con títulos de 1:100 o mayores. El 52% de los sueros estudiados reaccionaron a las 12 diferentes serovariedades y el 52% de los sueros reaccionaron a alguna serovariedad. En algunos sueros se encontraron títulos de hasta 1:1,600. Las serovariedades encontradas fueron Icterohaemorrhagiae (40%), Canicola y Pyrogenes (26%), Hebdomadis (23%), Pomona y Grippotyphosa (12%) y Autumnalis y Panama con un 2% (Luna *et al.*, 1996).

Segura-Correa *et al.* (2003), realizaron un estudio en el estado de Yucatán y analizaron sueros de bovinos para identificar los factores de riesgo asociados a leptospirosis. Se determinaron una seroprevalencia de 62.8% (461/732) con un rango de animales seropositivos de 0 a 100%, encontraron como serovariedades más frecuentes a Hardjo (54.1%), Tarassovi (53.3%),

Bratislava (4.9%), y Grippotyphosa (3.8%); identificaron como principal factor de riesgo las zonas ganaderas. Otro estudio en Yucatán reportó un 17.5% de seroprevalencia en bovinos y las serovariedades fueron Tarassovi (17.5%), Hardjo (12.3%), Pomona (12.3%), y Panama (10.5%) (Vado-Solís *et al.*, 2002).

Escamilla *et al.* (2007), realizó un estudio en ganado lechero en Querétaro donde el objetivo fue determinar la frecuencia de leptospirosis asociada como causante de abortos, de la cual se encontró un 67%. Un estudio realizado en el estado de Hidalgo se reportó una seroprevalencia de leptospirosis de 41.6% y la serovariedades más frecuentes fueron Hardjo, Tarassovi and Wolffi (Córdova-Izquierdo *et al.*, 2008). Los estudios realizados en México sobre la epidemiología de la leptospirosis bovina son escasos, principalmente en las zonas tropicales. Así mismo, los trabajos realizados han sido realizados principalmente en el centro del país, los cuales están realizados en ganadería lechera.

### **2.5.3 Epidemiología de la leptospirosis bovina a nivel estatal**

En 1993 se realizó un estudio en la zona centro del estado de Veracruz, se analizaron 312 sueros de bovino de una población de 2,000 bovinos utilizando la prueba MAT y se encontraron 271 (86.8%) sueros positivos a leptospirosis, resultando las serovariedades más frecuentes: Icterohaemorrhagiae (29%), Grippotyphosa (10%), Wolffi (6%), Ballum (20%), Serjoe (17%), Tarassovi (79%), y Bataviae (67%) (Solana, 1993).

En 1994 se realizó la identificación de serovariedades en el municipio de Banderilla, Veracruz donde se analizaron los sueros de 58 bovinos mediante la técnica de MAT en dos diferentes

muestreos, en el primero el 2.9% fueron positivos, en el segundo muestreo todos los animales resultaron negativos. Por tanto, del primer muestreo los bovinos presentaron títulos entre 1:200 y 1:400 a las serovariedades Ballum, Bataviae y Canicola (Barragán, 1995).

Noriega (2009) realizó un estudio en la zona norte del estado de Veracruz, utilizando 207 muestras de suero bovino y analizando las muestras a 12 serovariedades del género *Leptospira interrogans* con la prueba MAT, reportó que Papantla fue el municipio con mayor seroprevalencia (17.8%) y Coyutla (0.9%), las serovariedades más frecuentes fueron Canicola (11.1%) y Lai lai (10.6%).

En un estudio realizado en Jáltipan, Veracruz se analizaron 500 habitantes, en esta investigación la seroprevalencia encontrada fue de 25% en las personas que convivían con perros, cerdos, vacas y ratas (Navarrete *et al.*, 2006). En el estado de Veracruz solo existe un artículo publicado sobre la epidemiología de leptospirosis; sin embargo, el estudio es realizado en humanos y hacen un diagnóstico diferencial con dengue y leptospirosis. Lo anterior es preocupante debido a que Veracruz es un estado en el que se han realizado tesis sobre la enfermedad pero no se ha publicado nada sobre la misma en bovinos.

## **2.6 Sistemas de Información geográfica aplicados en epidemiología**

Los sistemas de información geográfica (SIG) es un sistema informático para capturar, almacenar, consultar, analizar y visualizar datos geográficos (Cuellar-Luna *et al.*, 2010; Chang, 2002). Esta tecnología integra operaciones comunes de bases de datos, consultas y análisis geográfico, representado en mapas. Estas características distinguen a los SIG de otros tipos de

sistemas de información, por lo que han sido aceptados por las empresas y las instituciones para explicar eventos, predecir resultados y planear estrategias (Mejía-Sáenz, 2010).

Elaborar mapas y realizar análisis geográficos no es nuevo, sin embargo, los SIG desempeñan esas tareas de una manera más eficiente y más rápida que los métodos manuales que se ocupaban anteriormente, agregando algunas funcionalidades de almacenamiento, cuantificación, análisis y despliegue de información (Mejía-Sáenz, 2010). La proyección en los mapas, sirve para poder expresar los valores de longitud y latitud utilizando la cuadrícula esférica con un sistema de coordenadas geográficas (Chang, 2002).

En la epidemiología se puede representar a las enfermedades geográficamente, para ello es importante conocer los componentes de la geografía médica, los cuales requieren el análisis espacial de los factores patológicos tales como agentes causales, vectores, hospederos, reservorios y personas, su relación a los factores ambientales que son físicos, culturales y biológicos (Cromley, 2003). Esto se ha desarrollado en métodos para el mapeo de enfermedades con la creación de nuevas herramientas tales como Geographical Information System (GIS), Remote Sensing (RS) y Spatial Analysis (SA) para el estudio de la epidemiología y su aplicación en ella (Cringoli *et al.*, 2005). Sin embargo, a pesar de no ser nueva esta disciplina no existen trabajos relacionados a la distribución de *L. interrogans* en bovinos.

## **2.7 Los agroecosistemas ganaderos en el estado de Veracruz**

El agroecosistema es un término compuesto por los vocablos: del latín *agro*, que significa campo, tierra, fuente de producción, y se refiere a la actividad agrícola llevada a cabo por el ser humano. Así mismo, el vocablo *ecosistema*, el cual se refiere a cualquier unidad que incluya todos los organismos (productores y consumidores) que se encuentran en un área determinada que interactúan con los factores abióticos tales como luz, precipitación, suelo, agua y temperatura (Vandermeer, 2003; Montané de la Vega, 2012). De manera que cuando una unidad ecológica es intervenida (modificada) para producir bienes para el ser humano pierde su función, estructura, elementos y relaciones originales para así poder ser un agroecosistema cuyos objetivos dependen de quien controla el proceso agrícola. Por lo tanto, existe un sin número de definiciones de los agroecosistemas, una de ellas es “la unidad física donde se desarrolla la actividad agrícola, pecuaria, forestal, y/o acuícola, con la incidencia de factores económicos, sociales y ecológicos para la obtención de alimentos y otros satisfactores que la sociedad demanda a través del tiempo” (Ruíz-Rosado, 2006). Conway y McCracken (1990) definen los agroecosistemas “como sistemas ecológicos modificados por los seres humanos para producir alimento, fibra y otros productos agrícolas”.

El agroecosistema es un concepto propuesto inicialmente por los ecólogos para abordar la complejidad de la actividad agrícola, los componentes básicos de un agroecosistema son la tierra, las poblaciones vegetales y animales, la fuerza de trabajo, los insumos y la infraestructura. De ahí la importancia de observar y analizar los agroecosistemas “como sistemas y el uso de la teoría general de sistemas, que provee un método para aplicar el enfoque holístico, lo cual indica que cualquier actividad no puede ser separada en sus elementos y que la síntesis es el resultado

de la totalidad mayor a la suma de sus partes” (Ruíz-Rosado, 2006). El enfoque de sistemas permite conocer la interdependencia e interacciones que existen entre los elementos del sistema, entre estos, y el ambiente externo.

Por otro lado, Trebuil (1988) hace marcado énfasis en el estudio evolutivo de los conceptos agrícolas y menciona la importancia que tiene la diferenciación entre cada uno esos conceptos, los cuales son ecosistema, agroecosistema, estructura agraria e ideología de las instituciones (Figura 1). Debido a la naturaleza de esta investigación, se considera como unidad de estudio el agroecosistema; sin embargo, el estudio es de tipo epidemiológico y este se localiza a nivel de estructura agraria porque se sitúa a nivel estado; es decir se abordó en distintos niveles geográficos (estado, zonas ganaderas, municipios y unidades de producción). Así mismo, Conway y McCracken (1990) proponen una jerarquización donde los agroecosistemas pueden ser vistos desde una planta o animal, hasta el sistema mundo y así en orden ascendente. Dicha jerarquización es: especie – cultivo – finca – comunidad o ejido – territorio, región o zona – estado – país – mundo. En este estudio basado en lo que dice Conway y Trebuil, abarca hasta el nivel jerárquico de estado, debido a que el fenómeno que se investiga es en el estado de Veracruz.

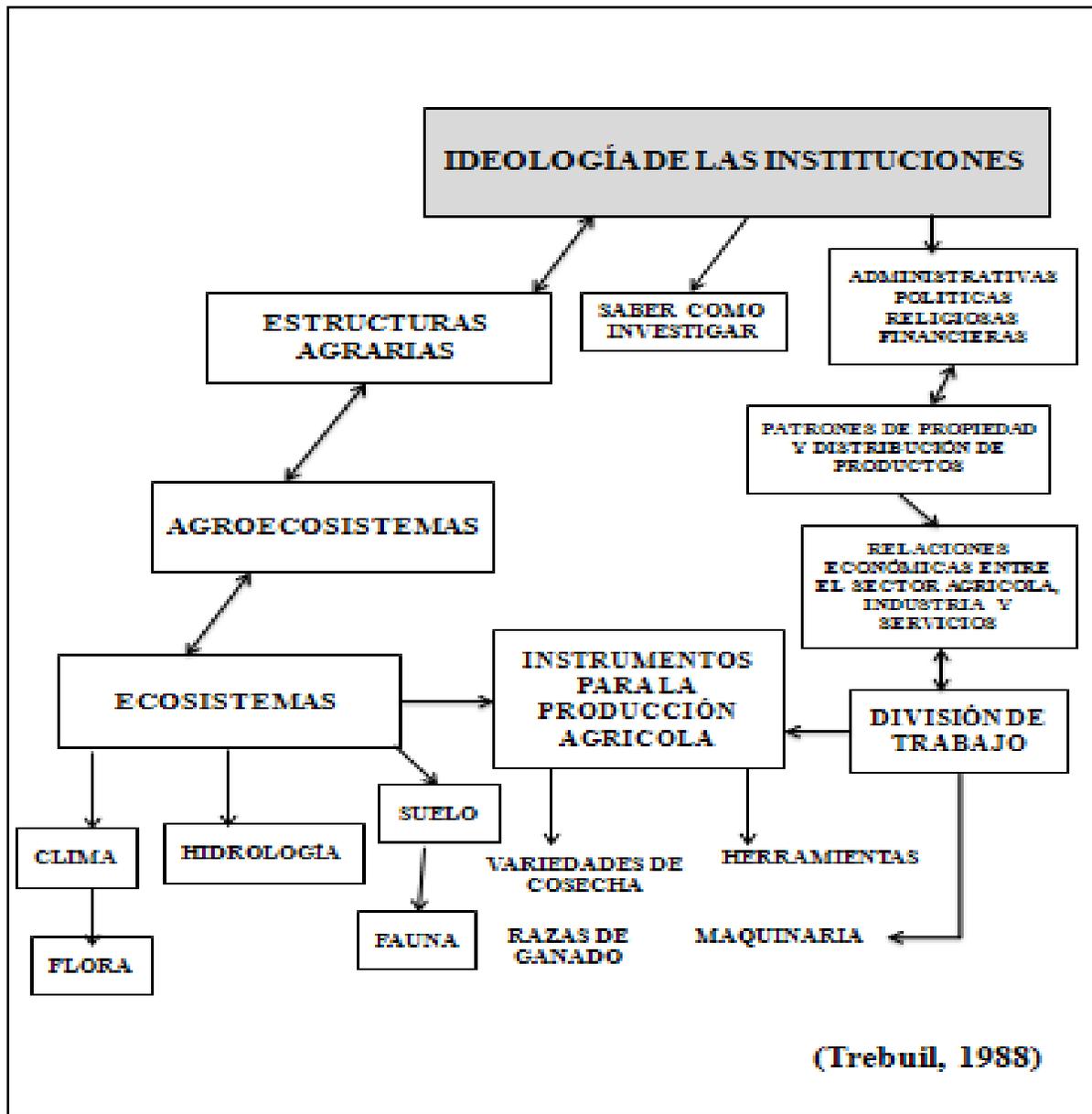


Figura 1. Concepto de Sistema Agrario: los cuatro niveles y sus relaciones (Adaptado de Trebuil, 1988).

En Veracruz, la ganadería ha ocupado gran parte de los ecosistemas modificándolos y convirtiéndolos en agroecosistemas, los cuales son diferentes de acuerdo a la región o zona donde se lleve a cabo, ya que Veracruz existen diferentes tipos de agroecosistemas ganaderos con una gran variedad de climas (Hernández *et al.*, 2006). La ganadería se considera una actividad dinámica, sus malas prácticas tales como; sobrepastoreo, intensificación de los sistemas ganaderos entre otros. Dichos aspectos repercuten sobre aspectos sociales, ecológicos y económicos (Herrera, 1995). Entre los aspectos ecológicos, se encuentran los biotipos los cuales son una comunidad de animales y plantas coexistiendo en una región geográfica con un paisaje y climas determinados, cuya estructura comunitaria puede asegurar la persistencia de algunos patógenos en la comunidad (Collinge y Ray, 2008). A pesar de que los agentes infecciosos son parte de los agroecosistemas, cuando existe una transformación del hábitat por razones antropogénicas, se favorece la diseminación de estos agentes provocando enfermedades. Debido a la cadena trófica una de esas transformaciones es la fragmentación de los hábitats y esto lo ha provocado por la misma ganadería, debido a que al fragmentar los hábitats las comunidades de mamíferos (reservorios) se mueven a otros lugares, principalmente a la zona urbana ocasionando problemas de salud pública, ya que el 62% de los patógenos humanos son de origen zoonótico (Weiss, 2001). Cabe mencionar que las zoonosis tienen nididad, esto es la habilidad de mantener un foco dinámico y permanente de la circulación del patógeno en animales en un ambiente geográfico determinado (Pavlovsky, 1966; Kruse *et al.*, 2004).

Los daños ocasionados por la ganadería alteran las condiciones de vida de los biotipos, y a su vez la nididad de los patógenos en los reservorios cambia, tanto en los animales silvestres como en los domésticos, entonces la alteración de la nididad de los patógenos en los reservorios

modifica la epidemiología de las zoonosis (Cabello y Cabello, 2008). En los agroecosistemas, la leptospirosis es el resultado de la interacción de tres nichos ecológicos, el de la bacteria (*L. interrogans*), el reservorio (perros, roedores, gatos, cabras y caballos) y el del hospedero (bovinos) que interactúan frecuentemente; si alguno de estos componentes se altera se puede provocar un incremento en el número de casos enfermos y esto traería como resultado una alteración en los agroecosistemas, esta alteración se vería reflejada con la presencia de epidemias y pandemias, dependiendo de los límites geográficos. Las enfermedades infecciosas emergentes como la leptospirosis, son de rápida diseminación debido a la dinámica actual de los sistemas sociales, ecológicos y tecnológicos que están en constante interacción. Esta relación entre la sociedad, los ecosistemas y los patógenos potenciales han impuesto complejos desafíos para la salud humana a lo largo de la historia del hombre. Sin embargo, la aceleración de la gama de factores biológicos, sociales, ecológicos y tecnológicos durante la última mitad del siglo XX ha contribuido a la aparición de nuevos retos de las enfermedades infecciosas y así mismo desafíos para abordar las enfermedades desde otros enfoques.

### **3. SITUACIÓN PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN**

En el estado de Veracruz se distribuyen climas cálidos húmedos y subhúmedos, los cuales son favorables para la propagación y prevalencia de la leptospirosis bovina, a pesar de su importancia ganadera de este estado y de tener climas que favorecen la diseminación de la enfermedad en su ganadería, son pocos los trabajos que se han realizado en este tema, o los trabajos son de difícil acceso; esto es debido a que es información en formato tesis o memorias de congresos. Así mismo, los trabajos realizados sobre este tema han sido de regiones específicas y no reflejan una muestra representativa (animales, hatos, municipios o estados) para así poder inferir la situación epidemiológica real de la enfermedad en el País. Es por ello que los datos emitidos pudieran ser poco confiables ya que puede existir sesgo al no calcular un tamaño de muestra representativo o porque la información publicada es de laboratorios de diagnóstico, con lo cual, se puede inferir que las muestras son de animales sospechosos a leptospirosis y esto eleva las seroprevalencias. La importancia de esta enfermedad más allá de los problemas productivos que ocasiona, es el riesgo para quienes manejan en el ganado, debido a que es una zoonosis (se transmite de animales a humanos). Por tanto, que se necesitan realizar trabajos epidemiológicos con suficiente rigor metodológico en la ganadería veracruzana y difundirlos en revistas de alto impacto, y así conocer la situación zoonosanitaria en el estado y establecer medidas preventivas y correctivas en el sector agropecuario.

## **4. HIPÓTESIS**

### **4.1 Hipótesis general**

La leptospirosis bovina se encuentra presente en el estado de Veracruz y está asociada a aspectos de manejo zoonosanitario, y tipo de sistema de manejo en las unidades de producción que varían según las zonas ganaderas del estado por sus condiciones climáticas.

### **4.2 Hipótesis específicas**

- 1.) El mayor número de casos de leptospirosis bovina se encuentra en la zona Sur del estado de Veracruz debido a que sus características climáticas favorecen la presencia de la enfermedad.
  
- 2.) Los factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina son: la presencia de ratones en los comederos, la ganadería de doble propósito y la convivencia del ganado bovino con perros.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Estimar la seroprevalencia e identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de leptospirosis en el estado de Veracruz considerando las tres zonas ganaderas (Norte, Centro y Sur).

### **5.2 Objetivos específicos**

- 1.) Identificar los focos de infección de leptospirosis bovina en las tres zonas ganaderas de Veracruz (Norte, Centro y Sur).
  
- 2.) Identificar los factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en el estado.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Área de Estudio

El estudio se realizó en el estado de Veracruz, localizado entre 22° 28' y 17° 09' latitud Norte y 93° 36' y 98° 39' longitud Oeste, el cual está dividido en tres zonas (Figura 2); Norte, Centro y Sur (INEGI, 2002). Las temperaturas en el estado de Veracruz oscilan entre los 5 y 28°C, debido a que cuenta con una gran variedad de climas; tiene climas del grupo A (cálido húmedo y subhúmedo) que se extienden a lo largo de la costa del atlántico y del grupo B (templados húmedos y subhúmedo) hacia las zonas montañosas del interior (García 1988). El estado tiene una superficie territorial de 71, 820 km<sup>2</sup>, y aproximadamente en el 50% de este territorio mantiene una población de 4.8 millones de cabezas de ganado bovino. Anualmente se produce 234 mil ton de carne y 700 millones L de leche (SAGARPA, 2009).

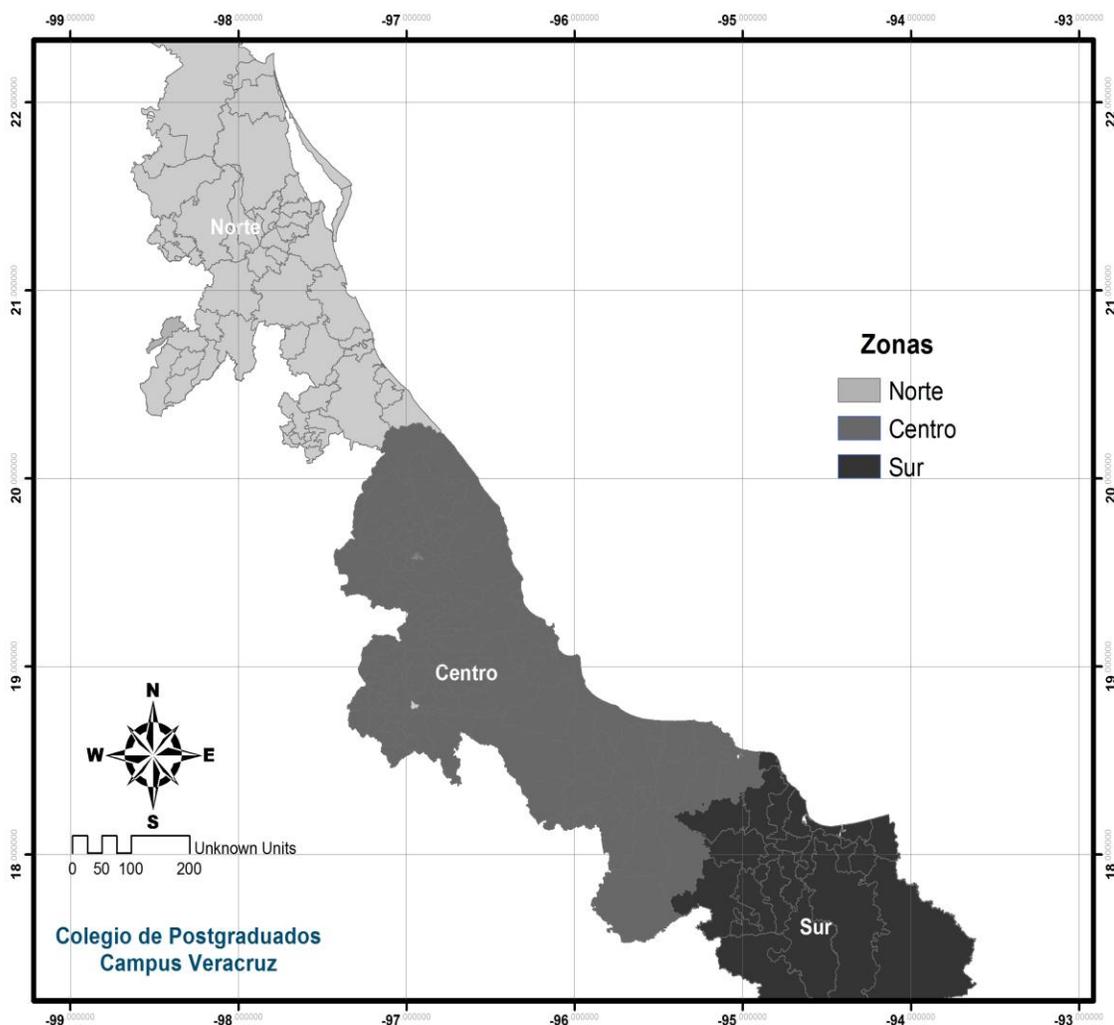


Figura 1. Representación de las tres zonas ganaderas del estado de Veracruz, México.

## 6.2 Diseño del estudio

Se realizó un estudio de tipo transversal para determinar la situación de la leptospirosis (Dawson y Trapp, 2002), de febrero de 2008 a diciembre de 2011. De los 210 municipios que conforman el estado de Veracruz se seleccionaron 54 en base a su inventario ganadero, y se muestrearon bovinos de las unidades de producción (UP) localizadas en los municipios seleccionados. Los criterios de inclusión para seleccionar las Unidades de Producción (UP) fueron cualquier tipo de

ganadería (carne, leche, doble propósito y pío de cría), que tuvieran hembras en edad reproductiva (18 a 84 meses) sin importar sus antecedentes de abortos, y se excluyeron hembras que no cumplieran los criterios establecidos, los machos y animales enfermos.

### 6.3 Tamaño de muestra

Para estimar el tamaño de muestra de bovinos a nivel estatal, se tomó como universo poblacional 4, 195, 270 bovinos que existían en Veracruz, en el año 2001 (SAGARPA, 2001). Se utilizó un 10 % de error y un nivel de confianza de 95 %, tomando como prevalencia esperada de leptospirosis el 10 %, y se utilizó la fórmula para poblaciones finitas propuesta por Silva (2003). El tamaño de muestra estimada fue 3, 454 bovinos y debido a que el estado se divide en tres zonas ganaderas arbitrariamente, la muestra por zona fue Norte (1, 140), Centro (1,274) y Sur (1, 040). Posteriormente se seleccionaron aleatoriamente los municipios en los cuales se realizaron los muestreos y para seleccionar los municipios se utilizó la siguiente fórmula (Kelsey *et al.*, 1986; Silva, 2003).

$$n = Z^2 N PY (1 - PY) / Z^2 PY (1 - PY) + (N - 1) E^2 PY^2$$

Dónde: n es el tamaño de la muestra, N la población, P la probabilidad de éxito,  $Z^2$  el nivel de confianza,  $E^2$ = error permisible.

Se seleccionaron las UP para muestrear dentro de cada uno de los 54 municipios (ANEXO A) y zona con el método no probabilístico denominado por conveniencia (productores cooperantes), el cual se ajustó al tamaño de muestra correspondiente a cada municipio seleccionado (Levy y Lemeshow 1999).

Finalmente, la selección de los bovinos en cada UP se realizó también por conveniencia y se obtuvo una muestra mínima de uno y un máximo de catorce bovinos por UP (Canon y Roe, 1982), después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión preestablecidos. La suma de todos los animales muestreados se ajustó al tamaño de muestra calculado para todo el estado.

#### **6.4 Variables**

Con el fin de identificar los posibles factores de riesgo que predisponen a la leptospirosis en bovinos, se realizó una entrevista a cada ganadero propietario de las unidades de producción seleccionadas, utilizando dos cuestionarios diseñados para el proyecto de FOMIX 33066. El primer cuestionario permitió obtener información relacionada a factores que son un posible riesgo para los bovinos de contraer la enfermedad, tanto a nivel hato como a nivel individual, tales como factores sanitarios, sistema de manejo, edad de los bovinos, tipo de sistema de producción (carne, leche, doble propósito, pío de cría), la presencia de roedores en los comederos, el acceso de perros a los comederos, tamaño del hato, lugar de procedencia de los animales, número de partos, vacunación y alimentación (ANEXO B); el segundo cuestionario se enfocó a obtener información sobre aspectos relacionados con la edad, etapa reproductiva, historial de abortos y manejo reproductivo de cada bovino muestreados (ANEXO C).

#### **6.5 Toma de muestras de sangre**

Se tomaron muestras de 10 ml de sangre por punción en la vena coccígea o yugular, utilizando tubos vacutainer<sup>®</sup>. Las muestras se transportaron en refrigeración en una hielera con refrigerantes o hielo hasta el laboratorio de Parasitología en la Unidad de Diagnóstico la Posta Zootécnica “Torreón del Molino” de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad

Veracruzana. Las muestras de sangre se centrifugaron a 1,000 g durante 15 minutos y el suero se separó y se depositó en tubos de poliestireno de 1.5 ml que se mantuvieron a - 20° C, hasta su procesamiento.

### **6.6 Diagnóstico serológico**

Las muestras de suero se procesaron y analizaron utilizando la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT), considerada la prueba estándar de oro (Brandao *et al.*, 1998) el diagnóstico fue realizado con personal previamente capacitado en el laboratorio Cordobés de Diagnóstico Pecuario, localizado en Córdoba, Veracruz.

Los sueros se inactivaron previamente a 56 °C durante 30 minutos, posteriormente se realizó una prueba tamiz como dilución inicial 1:50, y se consideraron como animales positivos a aquellos sueros que fueron positivos al título  $\geq 1:100$ . Sin embargo, para fines epidemiológicos se consideraron como positivas a las unidades de producción cuando al menos hubo solo un animal positivo. Todos los sueros se confrontaron con 12 serovariedades de *Leptospira interrogans*: Canicola hond utrech IV, Hardjo LT 1085, Pomona jhonson, Icterohemorragie, Pyrogenes salinem, Bratislava jez, Autatumnalis akiyami A, Ballum mus 127, Grippytyphosa moscova V, Tarassovi perepelistsin, Lai lai, Muenchen C90. Se utilizó como medio base EMJH de la marca Sigma® y como sustrato suero de conejo. Los conejos utilizados para la obtención del suero fueron criados en el laboratorio, ya que éstos deben estar libres de anticuerpos contra *Leptospira* spp. para su utilización.

## **6.7 Epidemiología espacial**

Las localidades ubicadas en los municipios se georeferenciaron con un GPS Garmin® y se utilizó el datum WGS84, para una proyección cartográfica UTM (Universal Transversal Mercator) con un error  $\pm 10$  m (Chang, 2002). Para la proyección de las coordenadas fue necesario transformar de UTM a decimales debido a que Veracruz está localizado en dos zonas geográficas (14 y 15). Posteriormente, para elaborar los mapas con la seroprevalencia, se calcularon las seroprevalencias por localidad con el programa STATA® 11.0 (Stata Corp, 2005. Stata Statistical Software: Release 11. College Station, TX: StataCorpLP). Se elaboró una base de datos en una hoja de Excel con las coordenadas geográficas de las UP y las seroprevalencias por localidad. La base de datos se importó al programa ArcView® 9.0 (ESRI. 2006. 380 New York Street Redlands, CA 92373 909-793-2853) para el análisis geográfico de la información, utilizando capas o temas con la extensión “shape” (clima, estado de Veracruz y cuerpos de agua) y las seroprevalencias se representaron con puntos en los mapas.

## **6.8 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de las encuestas se capturaron en una hoja de cálculo Excel y se realizó un análisis descriptivo en el programa STATA 11.0 (StataCorp. 2005. Stata Statistical Software: Release 11. College Station, TX: StataCorpLP). Se estimaron las seroprevalencias (cruda y específica) y los intervalos de confianza 95% (IC95%), para las 12 serovariedades (Thrusfield, 1995). Se utilizó Chi-cuadrada para analizar la asociación entre los factores de riesgo considerados y diferencias entre seroprevalencias. Cuando el número de observaciones era menor a cinco se utilizó la técnica exacta de Fisher. Se realizó un análisis bivariado y se seleccionaron a las variables estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) de este análisis, para

posteriormente realizar el análisis multivariado. Con las variables significativas del análisis multivariado se realizó el modelo de regresión logística con factores de riesgo potenciales para la seropositividad de leptospirosis, para estos análisis se utilizó el programa STATA 11.0.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Seroprevalencias de leptospirosis bovina en Veracruz, México.

El tamaño de muestra para este estudio fue 3, 454 bovinos; sin embargo, solo se analizaron 3, 192 para el diagnóstico de leptospirosis, el total de las muestras se obtuvo en 246 UP. La seroprevalencia por unidad de producción de leptospirosis a nivel estatal fue 24.8%, los poblados considerados como positivos fueron todos aquellos con al menos un animal positivo y la zona Centro fue la que presentó la mayor seroprevalencia (40.4%; Cuadro 2).

Cuadro 2. Número de poblados con casos positivos a leptospirosis bovina en Veracruz, México.

Zona	UP No.	Positivos No.	Seroprevalencia (%)	IC <sub>95%</sub>	$\chi$	P
Norte	89	20	22.4	14.3-33.6	Ref	-
Centro	99	40	40.4	30.7-50.7	6.94	< 0.01
Sur	58	2	3.4	0.4- 11.9	9.99	< 0.01
<b>Total</b>	246	62	24.8	19.5-30.7	-	-

IC= Intervalo de Confianza,  $\chi$  para diferencia de proporciones, P (< 0.05).

Las seroprevalencias encontradas en esta investigación, son menores a las reportadas en otras zonas o estados tales como en el estado de Nuevo León, Salinas-Meléndez *et al.* (2007), notificaron una seroprevalencia de 46% en ganado de carne, y en el estado de Yucatán (Segura-Correa *et al.*, 2003) una seroprevalencia de 62.8%. Cabe mencionar que en los estudios realizados en diferentes áreas, regiones o zonas de México, se han calculado tamaños de muestra en animales con las mismas condiciones de manejo, climáticas y/o sanitarias, siendo importante el cálculo del tamaño de muestra para cada área de estudio. Otros estudios utilizan resultados emitidos por laboratorios de diagnóstico, los cuales no realizan un cálculo para el tamaño de

muestra y al ser resultados de animales presuntamente enfermos las seroprevalencias suelen ser altas. En México, con relación a seroprevalencias menores León *et al.* (2008), reportaron una seroprevalencia de 10.3% menor que la encontrada en este estudio por UP. Barcellos *et al.* (2003), realizaron un estudio en Brasil y notificaron una prevalencia de 95.5% de leptospirosis en la Costa, la cual es similar al 95.3% reportada por Aguiar *et al.* (2006). Estas prevalencias se pueden presentar debido a las características climáticas que tiene Brasil. Sin embargo, en el presente estudio no se analizó si la enfermedad estuvo influenciada por el tipo de clima o las estaciones del año en Veracruz. Es importante mencionar que los climas en la región costera son tropical húmedo y subhúmedo pero también tiene una zona montañosa con clima templado (García, 1988). Estudios previos mencionan que la enfermedad tiende a estar limitada geográficamente según Ostfeld *et al.* (2005).

La seroprevalencia general por animal fue 3.9% y por zona las seroprevalencias son similares en la Norte (5.1%) y Centro (5.5%), siendo la zona Centro la de mayor seroprevalencia, pero existe diferencia con la seroprevalencia con la zona sur que fue muy baja (Cuadro 3).

Cuadro 3. Seroprevalencia de leptospirosis bovina por zona ganadera en Veracruz, México.

<b>Zona</b>	<b>Bovinos No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Seroprevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>	<b>X</b>	<b>P</b>
Norte	1,161	59	5.1	3.9 - 6.5	Ref	-
Centro	1, 248	69	5.5	4.3 - 6.9	0.24	0.62
Sur	913	2	0.2	0.02 - 0.8	42.3	< 0.01
<b>Total</b>	3,192	130	3.9	3.3 - 4.6		

IC= Intervalo de Confianza,  $\chi$  para diferencia de proporciones,  $P$  (< 0.05).

El Cuadro 4, muestra los municipios con bovinos positivos a leptospirosis, cabe señalar que de los 54 municipios estudiados, la enfermedad se observó en 33.

**Cuadro 4.** Seroprevalencia de leptospirosis bovina en municipios de tres regiones ganaderas de Veracruz, México.

<b>Municipio</b>	<b>Bovinos No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Seroprevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>
.....NORTE.....				
Chontla	55	1	1.8	0.4 - 9.7
Coyutla	71	2	2.8	0.3 - 9.8
El Higo	50	1	1.9	0.1 - 10.6
Naranjos	53	1	1.8	0.0 - 10.0
Ozuluama	107	2	1.8	0.2 - 6.6
Pánuco	84	2	2.4	0.2 - 8.3
Papantla	85	38	44.7	33.9 - 55.8
Pueblo Viejo	44	1	2.2	0.1 - 12.0
Tampico Alto	41	1	2.4	0.1 - 12.8
Tantima	50	2	4.0	0.4 - 13.7
Tepetzintla	101	4	3.9	1.0 - 9.8
Tuxpan	107	5	4.6	1.5 - 10.5
.....CENTRO.....				
Acajete	48	1	2.0	0.1 - 11.0
Alvarado	45	2	4.4	0.5 - 15.1
Alto Lucero	52	1	1.9	0.0 - 10.2
Coscomatepec	54	3	5.5	1.2 - 15.3
Cuitláhuac	37	5	13.5	4.5 - 28.7
Huatusco	44	2	4.5	0.5 - 15.4
Ignacio de la Llave	56	3	5.3	1.1 - 14.8
Ixhuacán de los Reyes	52	1	1.9	0.0 - 10.2
Medellín de Bravo	59	1	1.6	0.0 - 9.0
Manlio Fabio Altamirano	73	1	1.3	0.0 - 7.3
Nautla	62	4	6.4	1.7 - 15.7
Playa Vicente	184	11	5.9	3.0 - 10.4
Santiago Tuxtla	54	6	4.2	4.1 - 22.6
San Andrés Tuxtla	56	2	3.5	0.4 - 12.3
Tierra Blanca	100	8	8.0	3.5 - 15.5
Tlacotalpan	54	9	16.6	7.9 - 29.2
Tlaxiaco	42	5	11.9	3.9 - 25.6
Tres Valles	46	2	4.3	0.5 - 14.8
Vega de Alatorre	46	4	8.6	2.4 - 20.7
.....SUR.....				
Cosoleacaque	47	3	6.3	1.3 - 17.5
<b>Total</b>	<b>130</b>	<b>3, 192</b>	<b>3.9</b>	<b>3.3 - 4.6</b>

En este estudio se utilizaron 12 serovariedades; sin embargo, en otros lugares como en Monte Negro Brasil, trabajaron con 24 serovariedades y reportaron una seroprevalencia de 53.9% (Aguar *et al.*, 2006).

De acuerdo a la edad de los bovinos, se observó que los animales de 3-5 años tuvieron una seroprevalencia más alta 4.4%; sin embargo, el grupo de animales <2 años resultó ser el de menor seroprevalencia 3.0% a nivel estatal (Cuadro 5).

Cuadro 5. Seroprevalencia de leptospirosis bovina por estrato etario de bovinos a nivel estatal.

<b>Edad (años)</b>	<b>Animales No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Seroprevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>	<b><math>\chi</math></b>	<b><i>P</i></b>
≤ 2	362	11	3.0	1.5 - 5.4	Ref	-
3 - 5	1,699	75	4.4	3.4 - 5.5	1.41	0.23
≥ 6	1,261	44	3.4	2.5 - 4.6	0.17	0.68
<b>Total</b>	<b>3,192</b>	<b>130</b>	<b>3.9</b>	<b>3.3 - 4.6</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

IC= Intervalo de Confianza,  $\chi$  para diferencia de proporciones, *P* (< 0.05).

Se sabe que en animales jóvenes puede presentarse un cuadro agudo grave de leptospirosis (Andicoberry *et al.*, 2001). Un estudio realizado por Schoonman y Swai (2010) encontraron que el ser menor de 6 años fue considerado un factor de riesgo. Lo cual se puede observar en este estudio, ya que los animales menores de 6 años tuvieron una seroprevalencia más alta 4.4%; sin embargo, animales menores de 3 años tuvieron una seroprevalencia similar a los mayores de 6 años.

Las seroprevalencia por zona fueron mayores en el grupo de 3 a 5 años en la zona Norte y Sur; sin embargo, en la zona Sur los dos únicos animales positivos fueron menores de dos años (Cuadro 6).

Cuadro 6. Seroprevalencia de leptospirosis por estrato etario en las zonas Norte, Centro y Sur de Veracruz, México.

<b>Edad (años)</b>	<b>Animales No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>
.....NORTE.....				
≤2	69	4	5.8	1.6-1.4
3-5	557	33	5.9	4.1-8.2
≥6	535	22	4.1	2.6-6.2
.....CENTRO.....				
≤2	144	5	3.5	1.1-7.9
3-5	647	42	6.5	4.7-8.7
≥6	457	22	4.8	3.0-7.1
.....SUR.....				
≤2	149	2	1.3	0.01-4.7
3-5	495	0	0	0
≥6	269	0	0	0

A nivel zona se puede observar la misma tendencia que a nivel estatal, lo cual confirma lo mencionado en la literatura, que la enfermedad puede afectar principalmente a animales jóvenes. En relación al tipo de ganadería se encontró que la seroprevalencia más alta fue para la ganadería de leche (4.8%), y seguidos por las vacas doble propósito (3.8%; Cuadro 7).

Cuadro 7. Seroprevalencia de leptospirosis en bovinos por tipo de ganadería a nivel estatal.

<b>Tipo ganadería</b>	<b>Bovinos No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>	<b><math>\chi</math></b>	<b><i>P</i></b>
Carne	243	6	2.5	0.9 - 5.2	Ref	-
Leche	479	23	4.8	3.0 - 7.1	2.28	0.13
Doble propósito	2,600	101	3.8	3.2 - 4.7	1.17	0.28
<b>Total</b>	<b>3,192</b>	<b>130</b>	<b>3.9</b>	<b>3.3 - 4.6</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

IC= Intervalo de Confianza,  $\chi$  para diferencia de proporciones, *P* (< 0.05).

En México se han reportado seroprevalencias en diferentes tipos de ganadería. En Toluca, Edo. de México, se notificó un 10.33% de seroprevalencia en ganado lechero (León *et al.*, 2008). En Nuevo León en ganado de carne fue 46% (Salinas-Meléndez *et al.*, 2007) y en Querétaro en ganado de doble propósito fue 53% (Godoy *et al.*, 1997), seroprevalencias mayores a la encontrada en este estudio. Es importante mencionar que la leptospirosis afecta principalmente por las pérdidas económicas que ocasiona con los problemas reproductivos, lo cual incluye los costos directos e indirectos por aborto, baja producción de leche y costos del veterinario (Faine, 2000).

Con relación al tipo de ganadería y de acuerdo a las zonas, la mayor seroprevalencia se encontró en la zona Norte y en la ganadería de leche (9.1%), seguida de la ganadería de doble propósito en la zona Centro y la más baja fue en la zona Sur también para la ganadería de doble propósito 0.2% (Cuadro 8).

Cuadro 8. Seroprevalencia de leptospirosis de acuerdo al tipo de ganadería en las zonas Norte, Centro y Sur de Veracruz.

<b>Tipo de ganadería (zona)</b>	<b>Bovinos No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>
.....NORTE.....				
Carne	107	4	3.7	1.0-9.2
Leche	120	11	9.1	4.6-15.8
Doble propósito	934	44	4.7	3.4-6.2
.....CENTRO.....				
Carne	59	2	3.4	0.4-11.7
Leche	288	12	4.1	2.2-7.1
Doble propósito	901	55	6.1	4.6-7.9
.....SUR.....				
Carne	77	0	0	0
Leche	71	0	0	0
Doble propósito	765	2	0.2	0.03-7.9

Las seroprevalencias encontradas en éste estudio, son menores que las notificadas en otras partes del mundo por Hassig y Lubsen (1998) quienes reportaron el 33.9% y Genc *et al.* (2005) el 58.9%. En este estudio, las cruza resultaron tener la seroprevalencia más alta 4.4%, seguida por las europeas 3.1% y las cebuinas 2.6% (Cuadro 9).

Cuadro 9. Seroprevalencia de leptospirosis en bovinos *Bos Taurus*, *Bos indicus* y sus cruzas en Veracruz.

<b>Genotipo</b>	<b>Bovinos No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Seroprevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>	<b><math>\chi</math></b>	<b><i>P</i></b>
<i>B. indicus</i>	342	9	2.6	1.2 - 4.9	Ref	-
<i>B. Taurus</i>	863	27	3.1	2.1 - 4.5	0.21	0.64
Cruzas	2,117	94	4.4	3.6 - 5.4	< 0.04	-
<b>Total</b>	3,192	130	3.9	3.3 - 4.6	-	-

Aun cuando la enfermedad no está influenciada por la raza, cualquier tipo de ganado puede ser susceptible a la leptospirosis bovina. Sin embargo, el ganado *B. indicus* tuvo una seroprevalencia menor en comparación con los otros genotipos. Esto se puede deber a la rusticidad de este ganado.

De acuerdo al genotipo y zonas ganaderas, las cruzas de las zonas Norte y Centro tuvieron la mayor seroprevalencia en comparación con los grupos de ganado puro (Cuadro 10). Las cruzas presentaron una mayor seroprevalencia en comparación con ganado cebú.

**Cuadro 10.** Seroprevalencia de leptospirosis en genotipos bovinos *Bos Taurus*, *Bos indicus* y sus cruzas por zona ganadera.

<b>Raza</b>	<b>Bovinos No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>
.....NORTE.....				
Cebuinas	86	3	3.5	0.7-9.8
Europeas	321	15	4.7	2.6-7.6
Cruzas	754	41	5.4	3.9-7.3
.....CENTRO.....				
Cebuinas	93	5	5.4	1.8-12.1
Europeas	407	12	2.9	1.5-5.1
Cruzas	748	52	6.9	5.2-9.0
.....SUR.....				
Cebuinas	163	1	0.6	0.01-3.3
Europeas	135	0	0	0
Cruzas	615	1	0.1	0

En este trabajo se pudo observar cómo el grupo de razas cebuinas tuvo un menor número de casos en comparación con las cruzas, no existen estudios que indiquen la susceptibilidad a esta enfermedad o la resistencia a la misma; sin embargo, es interesante resaltar que si las razas cebuinas tuvieran una mayor resistencia a la leptospirosis es necesario realizar estudios que lo comprueben.

La seroprevalencia de leptospirosis bovina con relación a la aplicación de vacunas a los animales estudiados fue mayor en los animales vacunados que en los que no fueron previamente inmunizados, cabe mencionar que la vacunación se realiza con el uso de una bacterina, la cual

difiere en el número de serovariedades utilizadas. Sin embargo, la respuesta inmunológica es un resultado de la exposición contra diferentes antígeno, ya sea natural o inducida por la bacterina. Esto se refleja en un incremento de la titulación de anticuerpos a su vez en casos positivos a leptospirosis. En este estudio solo el 2.7% de los productores vacunan contra leptospirosis pero no se sabe cuál es la bacterina que utilizan.

De acuerdo con la vacunación de los animales, se pudo observar que la seroprevalencia de leptospirosis bovina fue mayor en los animales que no fueron previamente inmunizados 38.5% con relación a los vacunados 5.5% (Cuadro 11).

Cuadro 11. Seroprevalencia de leptospirosis de acuerdo a la aplicación de bacterinas (vacunación).

<b>Vacunación (bacterina)</b>	<b>Animales No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Seroprevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>
Si	91	5	5.5	1.8-12.3
No	3,231	125	3.8	3.2-4.6

Cuadro 12. Seroprevalencia de leptospirosis de acuerdo al uso de bacterinas (vacunación) en contra la enfermedad a nivel estatal.

<b>Vacunación</b>	<b>Bovinos No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>
.....NORTE.....				
Si	46	0	0	0
No	1,115	59	5.3	4.0-6.8
.....CENTRO.....				
Si	45	5	11.1	3.7-24.0
No	1,203	64	5.3	4.1-6.7
.....SUR.....				
Si	0	0	0	0
No	911	2	0.2	0.1-0.7

La seroprevalencia de leptospirosis con relación a la convivencia que tienen los bovinos con diferentes especies, fue mayor en los que conviven con perros (4.7%); lo cual tiene lógica, ya que los perros tienen la función de protección o de mascota que tienen en las UP y esto favorece su convivencia con el ganado. La menor seroprevalencia se presentó en los bovinos que conviven con los cerdos (1.1%; Cuadro13).

Cuadro 13. Seroprevalencia de leptospirosis en bovinos que conviven con otras especies de animales domésticos.

Otras especies	Animales No.	Positivos No.	Seroprevalencia (%)	IC <sub>95%</sub>
Cabras	80	2	2.5	0.3-8.7
Cerdos	270	3	1.1	0.2-3.2
Caballos	2, 534	104	4.1	3.3-4.9
Borregos	599	26	4.3	2.8-6.3
Perros	1,936	92	4.7	3.8-5.8
Gatos	619	25	4.0	1.4-2.9

Ochoa *et al.* (2000) reportaron en Don Matías, al norte del departamento de Antioquia, Colombia, una seroprevalencia 22.4% de leptospirosis en las personas que manejan ganado bovino, 60.9 % bovinos, 10.3% cerdos de ceba y 25.7% en cerdos de cría. Se encontró seroprevalencia de infectados por las serovariedades Pomona, Bratislava y Hardjo. En este trabajo se encontró que los bovinos que conviven con perros tuvieron la mayor seroprevalencia en comparación con las otras especies estudiadas.

Trabajos realizados en Venezuela por Cermeño-Vivas *et al.* (2005), han demostrado una prevalencia elevada en la población bovina, porcina y bufalina, con la detección de los serovares Hardjo, Grippotyphosa, Ballum, Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Hebdomadis.

Cabe mencionar que la serovariedad más alta fue *L. interrogans* Canicola (15.4%), como es del conocimiento que los perros son un reservorio de mantenimiento de esa serovariedad (Faine, 2000). Silva y Riedemann (2007), en un estudio realizado en Valdivia, Chile determinaron la

frecuencia de leptospirosis en 400 perros, tanto de la zona urbana como rural, atendidos en clínicas de la ciudad. Se encontró un 14.8% de caninos positivos, de los cuales el mayor porcentaje reaccionó a las serovariedades Canicola, Icterohaemorrhagiae y Ballum. Otro trabajo realizado en el municipio de Montería Córdoba en perros reportaron una seroprevalencia de 12%, y las serovariedades más frecuentes fueron: Canicola 7%, Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa 2%, Bratislava 1% (Sánchez-García *et al.*, 2010). De ahí la importancia de controlar el acceso de los perros a las UP para evitar la convivencia con los bovinos, o en su defecto evaluar el estatus zoonosario que guardan los mismos con relación a la leptospirosis.

La seroprevalencia de leptospirosis en bovinos que convivían con ratas en los comederos fue de 2.0%, lo cual tiene relación a la serovariedad Muenchen encontrada con menor frecuencia (0.76%), que está asociada con la presencia de roedores (Cuadro 14).

Cuadro 14. Seroprevalencia de leptospirosis bovina de acuerdo a la convivencia con ratones en las unidades de producción.

<b>Ratones en comederos</b>	<b>Animales No.</b>	<b>Positivos No.</b>	<b>Seroprevalencia (%)</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>
Si	1,576	33	2.0	1.4-2.9
No	1,746	97	5.5	4.5-6.7

Existen un gran número de estudios que reportan la importancia de los roedores como los principales diseminadores de la enfermedad (Faine, 2000); sin embargo, en este estudio la seroprevalencia fue baja. Un estudio menciona que se ha determinado que la serovariedad Copenhageni tiene a las ratas domésticas como principal reservorio (Cermeño-Vivas *et al.*, 2005).

## **7.2 Frecuencia de las serovariedades de *Leptospira* spp.**

El Cuadro 15 muestra la frecuencia de las serovariedades en los municipios con al menos un animal positivo, las serovariedades más frecuentes fueron: Pomona, Bratislava, Tarassovi, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Ballum, Autumnalis, y Muenchen. En Papantla, la seroprevalencia fue de 11.4%, y se encontraron animales positivos a leptospirosis con títulos de anticuerpos en contra de ocho serovares utilizados en este estudio. Así mismo, Tlacotalpan fue el único municipio en donde se encontró un animal positivo con anticuerpos en contra de serovariedad Muenchen. Las 12 serovariedades utilizadas en esta investigación son las más representativas de los serogrupos conocidos en México. Sin embargo, también se presentaron las serovariedades Canicola (7.8%), Hardjo (7.2%), Lai lai (7.7%) y Pyrogenes (6.0%).

Cabe mencionar que, el número de serovariedades es muy amplio y una de las problemáticas es que en el país existen pocos estudios epidemiológicos que determinen la frecuencia de las serovariedades, por lo que es difícil especificar las zonas de riesgo para la ganadería bovina. Algunos de los factores que pueden determinar la presencia de ciertas serovariedades es la movilización, el estatus zoonosarios, los factores ecológicos como el ambiente y el hábitat. Las serovariedades en este estudio son similares en México, debido a que el panel de serovariedades utilizado es el mismo o depende de cada laboratorio de diagnóstico.

**Cuadro 15.** Frecuencia de bovinos reactivos por cada serovariedad de *Leptospira* spp (título  $\geq 1:100$ ) por zona y municipio.

Municipio	SEROVARIEDADES												Pos.	Frecuencia
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
.....NORTE.....														
Coyutla	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	0.60
Chontla	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
El Higo	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Naranjos	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Ozuluama	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0.60
Panuco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.30
Papantla	12	4	0	5	2	5	0	0	6	1	2	0	38	11.43
Pueblo Viejo	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Tampico alto	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Tantima	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0.60
Tepetzintla	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1.20
Tuxpan	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	5	1.50
.....CENTRO.....														
Acajete	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Alvarado	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Alto Lucero	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Coscomatepec	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	3	0.90
Cuitláhuac	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	1.50
Huatusco	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0.60
I. de la Llave	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0.90

Continúa Cuadro 15.

SEROVARIEDADES														
Municipio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Pos.	Frecuencia
.....CENTRO.....														
I. de Reyes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.30
Medellín	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.30
Manlio F. A.	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.30
Nautla	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Playa Vicente	0	0	5	0	1	0	0	1	0	1	3	0	11	3.31
Santiago	0	0	1	0	1	0	2	0	0	1	2	0	6	1.80
San Andrés T.	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.30
Tierra Blanca	0	3	2	1	3	0	0	0	0	0	1	0	8	2.40
Tlacotalpan	3	0	2	0	0	1	0	0	0	1	0	1	8	2.40
Tlaxicoyan	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	5	1.50
Tres Valles	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0.60
Vega de A.	1	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	1.20
.....SUR.....														
Cosoleacaque	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0.60
<b>Total</b>	26	24	11	9	20	8	3	4	6	8	10	1	130	39.13

1. Canicola hond utrech IV, 2. Hardjo LT 1085, 3. Pomona jhonson, 4. Icterohaemorrhagiae, 5. Pyrogenes salinem, 6. Bratislava jez, 7. Autumnalis akiyami A, 8. Ballum mus 127, 9. Grippytyphosa moscova V, 10. Tarassovi perepelicin, 11. Lai lai, 12. Muenchen C90. Pos. Positivo, Frecuencia, fue multiplicada por 1000. N= norte; C= centro; S= sur.

Faine (2000), menciona que las serovariedades más frecuentes en bovinos son: Hardjobovis, Pomona y Grippytyphosa, estos también pueden ser infectados con Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Hebdomadis, Kremastos, Tarassovi, Autumnalis, Australis, Sejroe, Canicola y Bataviae.

En el mundo, las serovariedades se distribuyen por regiones, de forma que algunas serovariedades se consideran endémicas de áreas específicas (Radostitis *et al.*, 2000). Sin embargo, no existen estudios en todas las áreas o regiones del mundo, o en ocasiones la información se queda publicada en las tesis y no es fácil acceder a este conocimiento. La mayoría de estos estudios han sido realizados en Brasil, ellos han reportado que la serovariedad más frecuente es Hardjo (Brod *et al.*, 1994; Aguiar *et al.*, 2006). Aunque, Lilenbaum y Souza (2003) notificaron como serovariedades más frecuentes: Hardjo, Wolffi, Bratislava, Sejroe y Pomona. Estudios realizados en Caracas, Venezuela las serovariedades más frecuentes fueron: Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Autummalis y Australis (Cermeño-Vivas *et al.*, 2005).

En Teherán, las serovariedades más frecuentes reportadas han sido Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Pomona, Canicola y Ballum (Sakhae *et al.*, 2007). Otros estudios en Mongolia notificaron como principal causante de la leptospirosis en el ganado bovino a la serovariedad Hardjo (Odontsetseg, 2005). Del mismo modo, en España se ha relacionado la enfermedad principalmente a Hardjo, Pomona y Grippytyphosa (Espí *et al.*, 2000). Otro estudio en España, reveló que la mayoría de los casos eran de una serovariedad no adaptada en bovinos en esta región en particular tal como Bratislava (Atxaerandio *et al.*, 2002). Estos resultados sobre la presencia de la serovariedad no adaptada son similares en este estudio con la frecuencia de Pyrogenes, debido a que muchos animales pueden ser infectados con cepas virulentas de varios serovariedades (Faine, 2000).

**Cuadro 16.** Frecuencia de bovinos reactivos positivos a *Leptospira* spp. por serogrupo y serovariedad en Veracruz, México.

Serogrupo	Serovariedad	Tasa de leptospirosis (cada/1000 bovinos)
Canicola	Canicola Hond Utrecht IV	26 (7.8)
Sejroe	Hardjo LT 1085	24 (7.2)
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	11 (3.31)
	Lai lai	10 (7.7)
Australis	Bratislava jez	8 (6.2)
	Muenchen C90	1 (0.76)
Ballum	Ballum mus 127	4 (3.1)
Grippotyphosa	Grippotyphosa moscova V	6 (4.6)
Tarassovi	Tarassovi perepelicin	8 (2.4)
Pomona	Pomona jhonson	9 (6.9)
Pyrogenes	Pyrogenes saline	20 (6.0)
		Total 130 (39.1)

En este estudio se encontraron bovinos positivos a las serovariedades Muenchen y Lai lai, que no habían sido reportadas en México. Este es el primer reporte de la frecuencia de serovariedades en el estado de Veracruz. La serovariedad Lai lai es considerada altamente virulenta y pertenece al serogrupo Icterohaemorrhagiae, solo ha sido reportada en China (He *et al.*, 2007); sin embargo, fue encontrada en seis municipios de la entidad que fueron: Papantla, Ixhuacán de los Reyes, Medellín, Playa Vicente, Santiago y Tierra Blanca.

En México, *L. interrogans* Canicola y Hardjo son las más reportadas en diferentes estados, al igual que se encontró con este estudio (León *et al.*, 2008; Luna-Álvarez *et al.*, 2005; Vado-Solís,

2002). En Querétaro Escamilla *et al.* (2007) realizaron un estudio con ganado lechero y reportaron que los abortos ocurridos en esa zona fueron ocasionados por Hardjo, que fue la más frecuente en este estudio. Así mismo, Luna-Álvarez *et al.* (2005), realizó una revisión de literatura en México y encontró que las serovariedades más frecuentes fueron: Hardjo, Wolffi y Tarassovi, de las cuales solo dos están presentes en esta investigación, ya que la serovariedades Wolffi no se tenía disponible en el grupo de serovariedades utilizadas en este estudio. En Nuevo León, Salinas-Meléndez *et al.* (2007) reportaron como más frecuentes a Hardjo, Tarassovi y Wolffi, en Tamaulipas, las serovariedades presentes fueron: Wolffi, Tarassovi y Hardjo (Cantú y Banda, 1995). En Yucatán, fueron Hardjo, Tarassovi, Grippotyphosa y Wolffi (Vado-Solís, 2002). *L. interrogans* Hardjo siempre es la serovariedad más frecuente en México, debido a que el bovino es el hospedero de mantenimiento (Andicoberry *et al.*, 2001).

### **7.3 Factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en Veracruz.**

En el Cuadro 17, se presentan los factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en el análisis bivariado, los factores de riesgo identificados en este estudio fueron: municipios (Papantla y Tlacotalpan), presencia de perros, perros y gatos en comederos, y partos de perras y gatas en comederos. Estas variables se incluyeron en el análisis multivariado el cual se puede observar en el Cuadro 18.

**Cuadro 17.** Factores de riesgo asociados a leptospirosis bovina por medio del análisis bivariado.

<b>Variable</b>	<b>OR</b>	<b>CI95%</b>	<b>P</b>
<b>Municipio</b>			
Acajete (Ref)	1	-	-
Cuitlahuac	7.3	0.8 - 65.8	0.01
Papantla	38.8	5.1 - 294.6	0.01
Tlacotalpan	11.4	1.4 - 95.5	0.01
Tlalixcoyan	6.4	0.7 - 56.7	0.09
<b>Edad (años)</b>			
≤2 (Ref)	1	-	-
3-5	1.5	0.8 - 2.8	0.23
≥6	1.15	0.6 - 2.3	0.67
<b>Genotipos</b>			
<i>Bos indicus</i> (Ref)	1	-	-
<i>Bos Taurus</i>	1.2	0.6 - 2.6	0.64
Cruza	1.7	0.9 - 3.4	0.12
<b>Vacunación</b>			
Si	1.4	0.6 - 3.6	0.43
No (Ref)	1	-	-
<b>Función zootécnica</b>			
Carne (Ref)	1	-	-
Leche	2.0	0.8 - 5.0	0.13
Doble propósito	1.6	0.7 - 3.7	0.27
<b>Cabras</b>			
Presencia	0.6	0.2 - 3.0	0.51
Ausencia (Ref)	1	-	-
<b>Cerdos</b>			
Presencia	0.3	0.1 - 0.8	0.02
Ausencia (Ref)	1	-	-
<b>Caballos</b>			
Presencia	1.3	1.0 - 1.94	0.31
Ausencia (Ref)	1	-	-
<b>Borregos</b>			
Presencia	1.1	0.7 - 1.8	0.55
Ausencia (Ref)	1	-	-
<b>Perros</b>			
Presencia	1.8	1.2 - 2.6	0.00
Ausencia (Ref)	1	-	-
<b>Gatos</b>			
Presencia	1	0.7 - 1.6	0.9
Ausencia (Ref)	1	-	-

OR= Odds ratio ó Razón de Momios, \*Variables consideradas como factor de riesgo ( $P < 0.05$ ).

Continúa Cuadro 17.

<b>Variable</b>	<b>OR</b>	<b>CI95%</b>	<b>P</b>
<b>Perros y gatos en comederos</b>			
Presencia	2.3	1.6 - 3.3	0.00
Ausencia (Ref)	1	-	-
<b>Pariciones de perras y gatas en comederos</b>			
Si	3.2	2.3 - 4.6	0.00
No (Ref)	1	-	-
<b>Ratones en comederos</b>			
Presencia	0.4	0.2 - 0.5	0.00
Ausencia (Ref)	1	-	-

OR= Odds ratio ó Razón de Momios, \*Variables consideradas significativas ( $p < 0.05$ )

De acuerdo a los factores de riesgo obtenidos en el análisis multivariado indica que el pertenecer al municipio de Papantla incrementa 38.8 veces más el riesgo de adquirir leptospirosis que pertenecer a cualquier otro municipio del estado de Veracruz (OR 27.8; IC<sub>95%</sub>: 3.4 - 222.4,  $P < 0.01$ ). Otros de los municipios que resultaron ser factores de riesgo para adquirir leptospirosis fueron Cuitláhuac (OR 16.32; IC<sub>95%</sub> 1.6 - 158.3,  $P < 0.01$ ) y Tlalixcoyan (OR 12.8; IC<sub>95%</sub> 1.3 - 124.3,  $P < 0.01$ ). También resultaron como posibles factores de riesgo la presencia de perros (OR 1.2; IC<sub>95%</sub> 0.7 - 1.9,  $P < 0.01$ ) y los partos de las perras y gatas en los comederos (OR 1.1; IC<sub>95%</sub> 0.6 - 1.9,  $P < 0.01$ ).

**Cuadro 18.** Factores de riesgo como resultado del análisis multivariado.

<b>Variable</b>	<b>OR</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>	<b>P</b>
<b>Municipio</b>			
Acajete (Ref)	1	-	-
Cuitláhuac	16.3	1.6 - 158.3*	< 0.01
Papantla	27.8	3.4 - 222.4*	< 0.01
Tlacotalpan	8.1	0.9 - 71.2*	0.05
Tlalixcoyan	12.8	1.3 - 124.3*	0.02
<b>Perros</b>			
Presencia	1.2	0.7 - 1.9	0.45
Ausencia (Ref)	1	-	-
<b>Pariciones de perras y gatas en comederos</b>			
Si	1.1	0.6 - 1.9	0.62
No (Ref)	1	-	-
<b>Ratones en comederos</b>			
Presencia	0.5	0.3 - 1.1	0.053
Ausencia (Ref)	1	-	-

OR= Odds Ratio ó Razón de Momios, \*Variables consideradas significativas ( $P < 0.05$ ).

En el Cuadro 19, se observan los factores de riesgo que están asociados a leptospirosis resultantes en el modelo de regresión logística. Según esto, pertenecer a los municipios Cuitláhuac (OR 13.6; IC<sub>95%</sub> 1.4-125.9,  $P < 0.01$ ), Papantla (OR 35.8; IC<sub>95%</sub> 4.6-276.2,  $P < 0.01$ ), Tlacotalpan (OR 8.98; IC<sub>95%</sub> 1.05-76.80,  $P < 0.01$ ), Tlalixcoyan (OR 11.8; IC<sub>95%</sub> 1.3-108.5,  $P < 0.01$ ) y representa mayor riesgo, así como los partos de perras y gatas en los comederos (OR 4.0; IC<sub>95%</sub> 2.5-6.5,  $P < 0.01$ ).

**Cuadro 19.** Factores de riesgo asociados a *Leptospira interrogans* en poblaciones de bovinos en el estado de Veracruz, México.

Variable	OR	IC <sub>95%</sub>	P
<b>Municipio</b>			
Acajete (Ref)	1	-	-
Cuitláhuac	13.6	1.4 - 125.9*	< 0.01
Papantla	35.8	4.6 - 276.2*	< 0.01
Tlacotalpan	9.0	1.1 - 76.8*	< 0.01
Tlalixcoyan	11.8	1.3 - 108.5*	< 0.01
<b>Pariciones de perras y gatas en comederos</b>			
Si	4.0	2.5 - 6.5*	< 0.01
No (Ref)	1	-	-

OR= Odds Ratio ó Razón de Momios, \* Factor de riesgo.

Existen pocos estudios que identifiquen los factores de riesgo asociados a la leptospirosis y aun cuando no existe un estudio que haya notificado la presencia de leptospirosis en perros que convivan con los bovinos, se conoce que los perros ferales y domésticos son reservorios de *L. interrogans* Canicola (Faine, 2000). En un estudio realizado en México se colectaron sueros de 135 perros callejeros, 52 (38.51%) fueron positivos a una o más serovariedades, las serovariedades más frecuentes fueron: Castellonis (50%), Pyrogenes (38.46%) y Canicola (26.92%). Icterohaemorrhagiae fue detectada en 21.15% de los sueros positivos. Romero *et al.* (2009), en Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia, se muestrearon 100 perros domiciliados y la seroprevalencia de anticuerpos anti-*Leptospira* contra uno o más serovares fue 31%. Los serovares más frecuentes fueron Icterohaemorrhagiae (38.7%), Autumnalis (19.4%) y Australis

(12.9%). Por tanto, el acceso de los perros a los comederos se debe restringir para disminuir el número de casos de leptospirosis en bovinos.

#### **7.4 Distribución espacial de la leptospirosis bovina en el estado de Veracruz, México**

Con este estudio se observó que la enfermedad está presente en todo el estado de Veracruz, aunque la seroprevalencia general fue considerablemente baja (3.9%) en comparación con otros estudios en México, es una realidad que la leptospirosis se encuentra en las zonas rurales y puede ser un riesgo para las personas que trabajan con el ganado bovino, esto se encontró principalmente en la zona Norte y Centro. Sin embargo, las seroprevalencias más bajas se encontraron en el Sur, lo cual puede deberse al tipo de clima o la época del año en la cual se tomaron las muestras. Veracruz tiene climas del grupo A (cálido húmedo y subhúmedo) en las zonas Norte y Sur (García, 1988). Sin embargo, solo la zona Norte tuvo una mayor distribución de animales positivos, esto se aplica tal como lo menciona la literatura esto es que la incidencia es más alta en regiones con climas cálidos en comparación con los templados (Figura 3).

En la Figura 3 se observa que los círculos azules son las seroprevalencias con un rango de 11 a 30%, esta seroprevalencia se pueden observar con mayor frecuencia en la zona Centro; sin embargo, las seroprevalencias más altas se encuentran en la zona Norte.

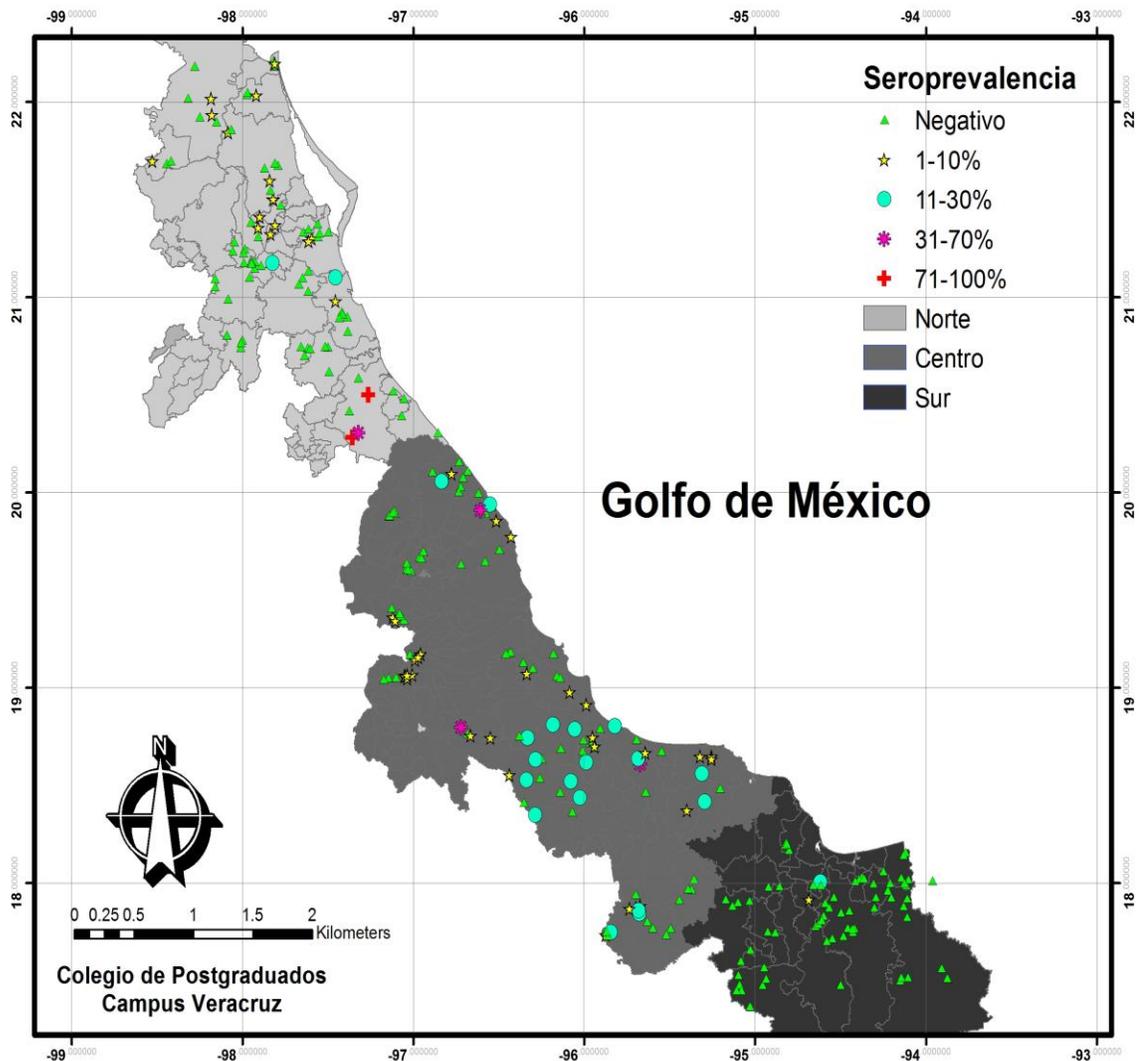


Figura 2. Seroprevalencia de leptospirosis bovina en el estado de Veracruz, México.

La mayoría de los bovinos en los municipios seleccionados en la zona Centro, las seroprevalencias oscilan de 11 a 30%, aunque en los municipios donde no hay puntos azules se observan asteriscos rosas, los cuales corresponden a seroprevalencias de bovinos entre un rango de 31 y 70% (Figura, 4). Así mismo, se puede inferir que en la zona Centro se encuentra

diseminada la enfermedad a pesar que las seroprevalencias son muy parecidas a la zona Norte, en el mapa es claro que las seroprevalencias más altas en el Norte incrementan el resultado general.

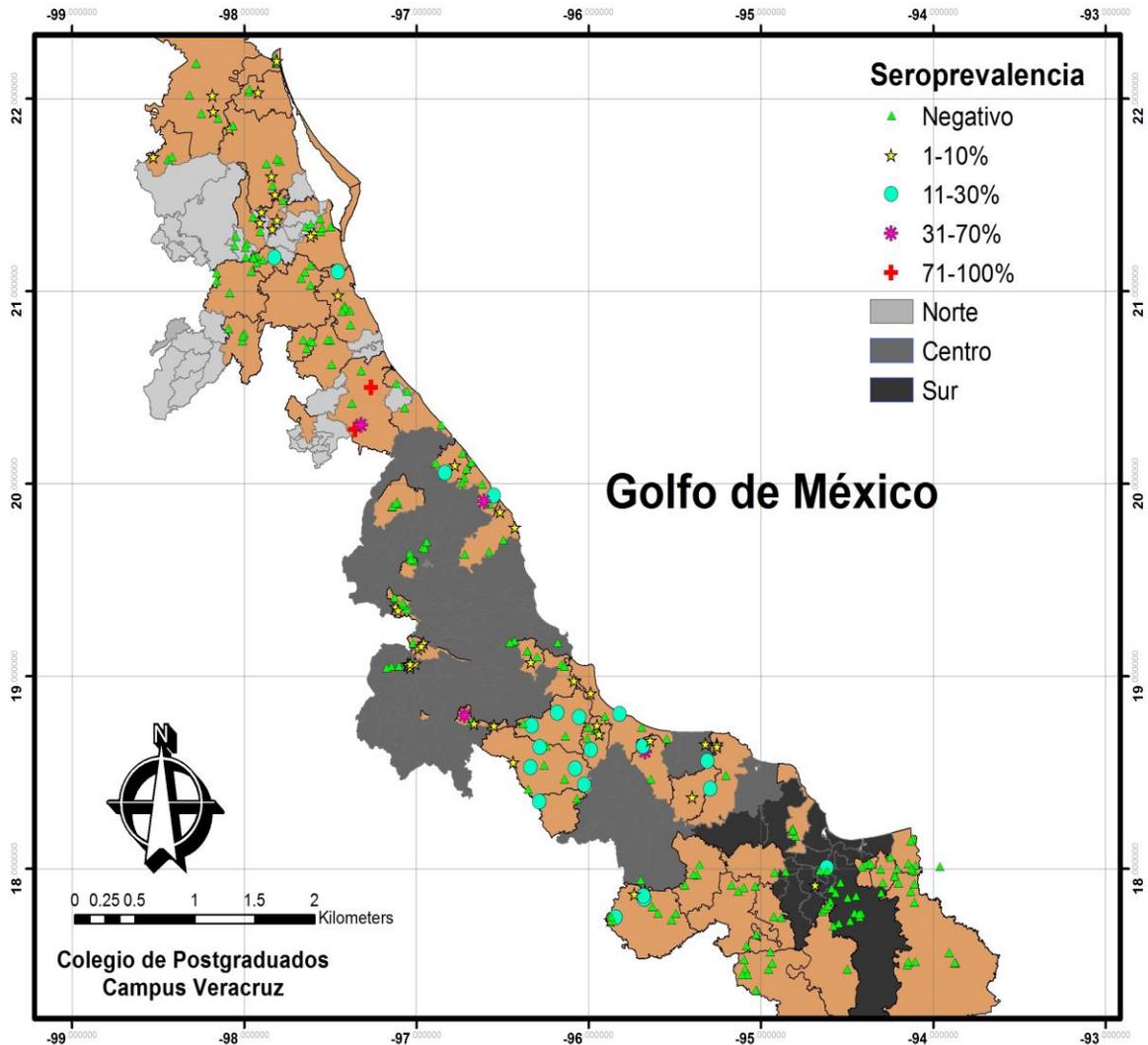


Figura 3. Seroprevalencia de leptospirosis bovina en los municipios seleccionados de Veracruz.

Las menores seroprevalencias de los bovinos se encontraron en la zona Sur y las seroprevalencias más altas se localizan en la zona Norte del estado de Veracruz (Figura 5).

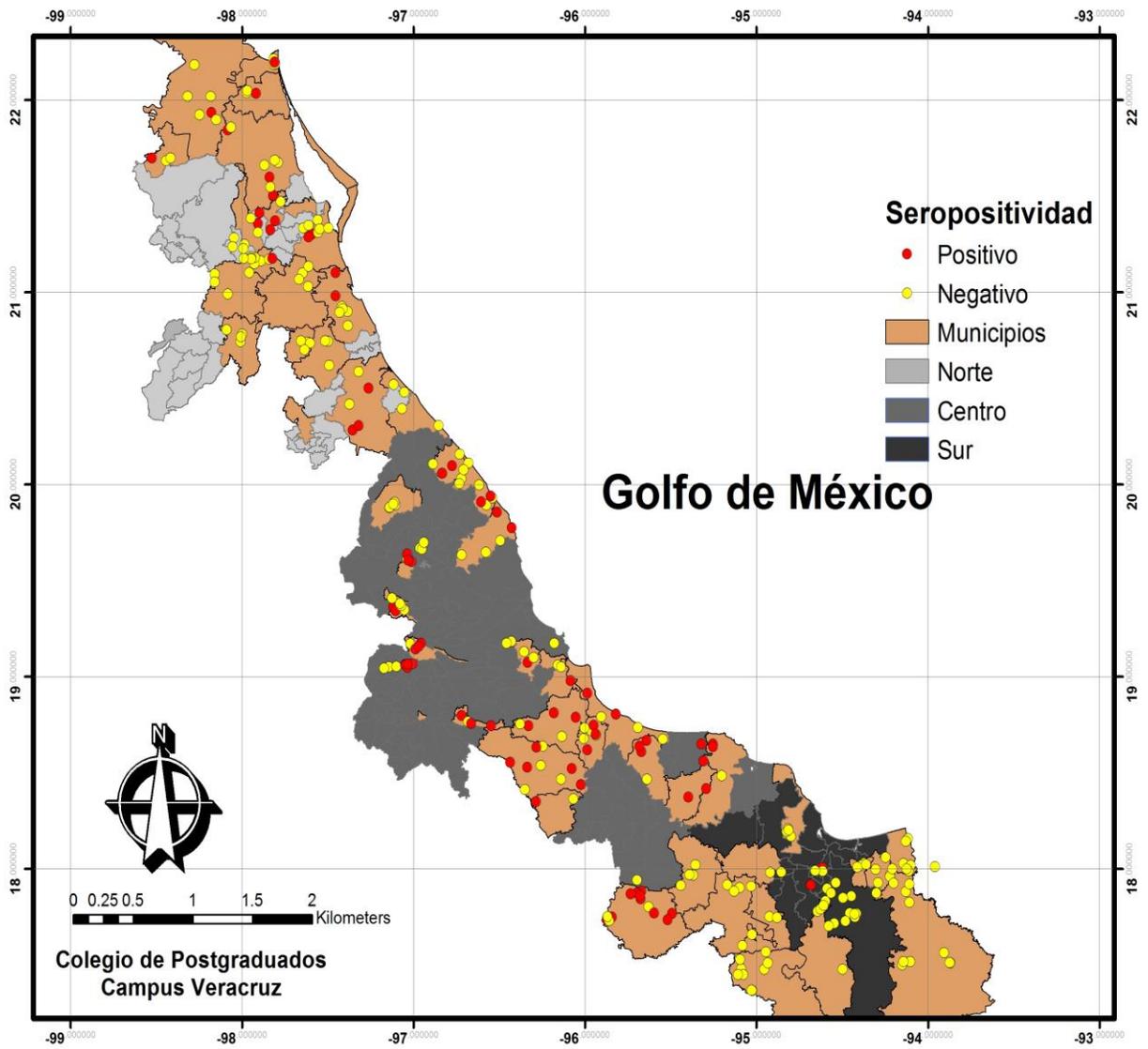


Figura 4. Seropositividad de leptospirosis bovina en el estado de Veracruz, México.

## 8. CONCLUSIONES

Se concluye que la leptospirosis está presente en las tres regiones de Veracruz, siendo la zona Centro del estado donde existe una mayor seroprevalencia. Así mismo, la seroprevalencia general fue muy baja en la entidad; sin embargo, la enfermedad está presente a lo largo del estado con una mayor distribución en el centro. La zona que se esperaba tuviera el mayor número de casos fue la zona Sur por el contrario esta zona solo tuvo el 2% de seroprevalencia en comparación con la Norte y Sur. Todas las serovariedades utilizadas en este estudio están presentes en bovinos de diferentes municipios del estado aunque las serovariedades más frecuentes de *Leptospira interrogans* fueron Canicola y Hardjo. Los factores de riesgo asociados a leptospirosis bovina que se encuentran en el estado son la presencia de roedores y la presencia de perros conviviendo con los hatos ganaderos pero en la regresión logística se descartaron estos factores; sin embargo, los partos de perras y gatas en los comederos son un factor de riesgo en la ganadería veracruzana, lo cual pudiera explicar que una de las serovariedades más frecuentes fue Canicola la cual es diseminada principalmente por perros.

Por otro lado, es importante mencionar que las serovariedades Lai lai y Muenchen son reportadas por primera vez en México y son necesarios futuros estudios para conocer más la epidemiología de estas dos serovariedades.

## **FINANCIAMIENTO**

Esta investigación es parte de un proyecto, que lleva como título “ENFERMEDADES CAUSANTES DE ABORTOS EN BOVINOS (BRUCELOSIS, LEPTOPIROSIS, DIARREA VIRAL, RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA Y NEOSPOROSIS) DEL ESTADO DE VERACRUZ, PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS” financiado por FOMIX-CONACYT y Gobierno del Estado de Veracruz, en su convocatoria 2006-1 según clave 37066.

## 9. LITERATURA CITADA

- Acha P. y Szyfres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Tercera edición. Organización Panamericana de la Salud (OPS), Washington DC, EE.UU. 420 p.
- Adler, B., and A. De la Peña M. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*. 140: 287-206.
- Adler, B., and S. Faine. 1977. Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. *Infection and immunity*. 17: 67-72.
- Adler, B., S. Faine., H. K. Muller, and D. E. Green. 1980. Maturation of humoral immune response determines the susceptibility of guinea-pigs to leptospirosis *Pathology*. 12: 529-538.
- Aguiar, D.M., S.M. Gennari, G.T. Cavalcante., M.B. Labruna, S.A. Vasconcellos, A.A. Rodrigues, Z.M. Morales, and M.A. Camargo. 2006. Seroprevalence of *Leptospira* spp in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 26 (2): 102-104.
- Andicoberry, C., F. García, J. Pereira, E. Costas, and L. Ortega. 2001. Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. *Preventive Veterinary Medicine*. 52: 109-117.
- Anderson, D.L., and R.C. Johnson. 1968. Electron microscopy of immune disruption of leptospire: action of complement and lysosyme. *Journal of bacteriology* 95: 2293-2309.
- Atxaerandio R.G., B Aduriz, y Moreno B. 2002. Leptospirosis bovina. *Revista Bovis* 106: 47-61.
- Barcellos, C., C.B. Lammer, M.A. B de Almeida, and E. Dos Santos. 2003. Spatial distribution of leptospirosis in Rio Grande do Sul, Brazil: recovering the ecology of ecological studies. *Cad Saúde Pública*. 19(5): 1283-1292.
- Ballester F., J. Díaz., y J. Moreno. 2006. Cambio climático y salud pública: escenarios después de la entrada en vigor del protocolo de Kyoto. *Gaceta Sanitaria*. 20(1): 160-74.
- Barocchi, M.A., A.I. Ko., M.G. Rei., Mc Donald K.L, and L.W. Rilley. 2002. Rapid traslocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans* and invasive but non intracellular pathogen. *Infection and immunity* 70: 6926-6932.
- Barragán H.A.T. 1995. Identificación, tratamiento y control de leptospirosis bovina en el municipio de Banderilla, Veracruz. Tesis de licenciatura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana. 21 p.

- Bharti, A.R., J.E. Nally., J.N. Ricaldi., M.A. Matthias., M.M. Diaz., M.A. Lovett., P.N. Levett., R.H. Gilman., M.R. Willing, E. Gotuzzo, and J.M. Vinetz. 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious diseases* 3: 757-771.
- Biberstein E.L., y Z.Y. Chung. 1994. *Tratado de Microbiología Veterinaria*. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 673 p.
- Bolin, C.A., R.L. Zuerner, and G. Trueba. 1989. Effect of vaccination with a pentavalent leptospiral vaccine containing *Leptospira interrogans* serovar Hardjo type hardjo-bovis on infection of cattle. *American Journal of Veterinary Research* 50: 2004-2008.
- Brandao, P., E. Camargo., E. Da Silva., M. Silva, and R. Abrao. 1998. Macroscopic agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis. *Journal Clinical Microbiology* 36 (11): 3138 - 3142.
- Brod C.S., L.F.S. Martins, J.R. Nussbaum, M.F.B. Fehlberg, L.R.I. Furtado, y R.L.I. Rosado 1994. Leptospirose bovina na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. *Hora Vet Porto Alegre* 14(84): 15-20.
- Brown, P.D., D.G. Gravekamp, H. Carrington, R.A. Van de Kemp, C.N. Hartskeerl, C.O.R. Edwards, W.J. Everard, Terpstra and P.N. Levett. 1995. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. *Journal of Medical Microbiology* 43: 110-114.
- Cabello C., y F. Cabello. 2008. Zoonosis con reservorios silvestres: Amenazas a la salud pública y a la economía. *Revista Médica de Chile* 136: 385-393.
- Cantú, C.A., and V.M. Banda. 1995. Seroprevalence of bovine leptospirosis in three southern cities of Tamaulipas. *Técnica Pecuaria en México* 33: 121-124.
- Cannon, R., and R. Roe. 1982. *Livestock Disease Surveys: A Field Manual For Veterinarians*. Australian Bureau of Animal Health. Canberra. 35 p.
- Carrada-Figueroa G., E.G. Calderón-Valencia., C.M. Martínez-Hernández. 2002. Leptospirosis: pleomorfismo en el síndrome febril. *Salud en Tabasco* 8(3): 128-132.
- Carroll, A.G., and R.S.F. Campbell. 1987. Reproductive and leptospire to mouse fibroblast and its enhancement by specific antibody. *Journal of medical microbiology* 64:1-5.
- Cermeño-Vivas J., M. Sandoval-De Mora., J. Bognanno., A. Caraballo. 2005. Aspectos epidemiológicos y clínicos de la leptospirosis en el estado Bolívar, Venezuela, 1999-2000. Comparación de LEPTO-Dipstick y antígeno termorresistente de *Leptospira*. *Investigación Clínica* 46(4): 24-33.
- Céspedes M.Z., L.J. Balda, D. González, y R.Tapia. 2006. Situación de la leptospirosis en el Perú 1994-2004. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 23(1): 56-66.

- Chang, K. 2002. Introduction of Geographic information systems. 1<sup>st</sup> ed. McGraw-Hill, New York, USA. 348 p.
- Cinco, M., and H. Banfi. 1983. Interactions between human polymorphonuclear leukocytes and one strain of pathogenic (*Leptospira interrogans* sp.) and one saprophytic (*Leptospira biflexa* sp.). FEMS Microbiology letters 19: 51-54.
- Conway, G.R., and J.A., McCracken. 1990. Rapid rural appraisal and agroecosystem analysis. *In*: Altieri MA, Hecht, SB (eds.). Agroecology and Small Farms Development. CRC Press. Boston, USA. 234 p.
- Collinge, S.K., and C. Ray. 2008. Effects of disease on keystone species, dominant species, and their communities. *In*: Ostfeld, F. Keesing and V. Eviner (eds.). Infectious disease ecology: effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems. Princeton University Press, Princeton, NJ. pp: 189-213.
- Cromley, E.K. 2003. GIS and Disease. Annual Review of Public Health 24: 7-24.
- Cringoli, G., L. Rinaldi., V. Veneziano., and V. Musella. 2005. Disease mapping and risk assessment in veterinary parasitology: some case studies. Parassitologia 47: 9-25.
- Cuellar-Luna L., S. Serra-Larin, A.M. Collado-Madurga, y R. Reyes-Gonzales. 2010. La bioética desde la perspectiva de la salud ambiental: su expresión en Cuba. Rev. Cubana. Hig. Epidemiol 48 (3): 321-334.
- Dawson B., y R. Trapp. 2002. Bioestadística médica. 3<sup>a</sup> ed. Manual Moderno. México, D.F. 414 p.
- De Brito, T., M.J. Prado., V.A. Negreiros., A.L. Nicastri., E.E. Sakata., P.H. Yasuda., R.T. Santos., and A. Va. 1992. Detection of leptospiral antigenic (*L. interrogans* serovar Copenhageni serogroup Icterohaemorrhagiae) by immunoelectron microscopy in the liver and kidney of experimentally infected guinea-pigs. International Journal of Experimental Pathology 73: 633-642.
- Desvars, A., E. Cardinale, and A. Michault. 2011. Review article: animal leptospirosis in small tropical areas. Epidemiology and infection 139: 167-188.
- Dierauf, L.A., D.J. Vandenbroek., J. Roletto., M. Koski., L. Amaya., and L.J. Gage. 1985. An epizootic of leptospirosis in Californian sea lions (*Zalophus californianus*). Journal of the American Veterinary Medical Association 187: 1145-1148.
- Ellis, W.A., J.M. Montgomery., and A.B. Thiermann. 1991. Restriction endonuclease analysis as a taxonomic tool in the study of pig isolates belonging to the Australis serogroup of *Leptospira interrogans*. Journal Clinical Microbiology 29: 957-961.
- Ellis, W.A., S.D. Neill., J.J. O'Brien., J.A. Cassells., and J. Hanna. 1982. Bovine leptospirosis: Microbiological and serological findings in normal fetuses removed from the uteri after slaughter. Veterinary Record 110: 192-194.

- Escamilla, H., M. Martínez., M. Medina., and E. Morales. 2007. Frequency and causes of infectious abortion in a dairy herd in Mexico. *Canadian Journal of Veterinary Research* 71: 314–317.
- Espí A., J.M. Prieto., M. Fernandez., and M. Álvarez. 2000. Serological prevalence to six leptospiral serovars in cattle in Asturias (Northern Spain). *Epidemiology and Infection* 124: 599–602.
- Everard, J.D., and C.O.R. Everard. 1993. Leptospirosis in the Caribbean. *Reviews. Medical Microbiology* 4: 114-22.
- Faine, S.B., C. Adler., P. Bolin., and B. Perolat. 1999. *Leptospira and Leptospirosis*. 2<sup>nd</sup> ed. MediSci, Melbourne, Australia. 196 p.
- Faine, S. 2000. *Leptospira and Leptospirosis*. 1<sup>st</sup> ed. CRC Press. Florida, USA. 351 p.
- Farrelly, H.E., B. Adler., and S. Faine. 1987. Opsonic monoclonal antibodies against lipopolysaccharide antigens of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. *Journal Medical Microbiology* 23 (1): 1–7.
- Fernández J., V. Reyes. y A. De la Peña. 1993. Detección de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en bovinos de hatos lecheros en el valle de Atlixco, Puebla mediante pruebas de aglutinación. *Veterinaria México* 24 (2): 117-120.
- Freitas, J. 2004. Isolation of *Leptospira* spp from dogs, bovine and swine naturally infected. *Ciencia Rural* 34 (3): 853-856.
- García E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 4<sup>a</sup>. ed. Offset. Indianápolis. 30. México, DF. 217 p.
- Gavaldón D., L. Moles y J. Torres, 2003. La leptospirosis como zoonosis. *Veterinary Medicine* 52: 109-117
- Genc, O., Otlu, S., and Sahín, M., 2005. Seroprevalence of brucellosis and leptospirosis in aborted dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 29: 359-366.
- Gobierno del Estado de Veracruz. 2009. Anuario Estadístico del Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave. 2009. [http://portal.veracruz.gob.mx/portal/page?\\_pageid=273,4426881&\\_dad=portal&\\_schema=PORTAL](http://portal.veracruz.gob.mx/portal/page?_pageid=273,4426881&_dad=portal&_schema=PORTAL). Fecha de consulta: Julio de 2011.
- Godínez, R.C., R.B. Zelaya., G.D. Aurolies., R.A. Verdugo., R.E.A. Rodriguez., A. De la Peña Moctezuma. 1999. Antibody against *Leptospira interrogans* in California sea lion pups from seven islands of the Gulf of California. *Journal of Wildlife Disease* 35: 108-111.
- Godoy S., O. Mosquera., y C. Sanchez. 1997. Prevalencia de leptospirosis por época en bovinos de doble propósito en el municipio Torres, Parroquia las Mercedes, Estado Lara. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 5 (1): 589-591.

- Guerreiro, H., J. Croda., B. Flannery., M. Mazel., J. Matsunaga., R.M. Galvao., P.N. Levett., A.I. Ko., D.A. Haake. 2001. Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. *Infection and immunity* 69: 4958-4968.
- Haake, D.A., M. Dundoo., and R. Cader. 2002. Leptospirosis, water sports, and chemoprophylaxis. *Clinical Infectious Disease* 34: 40-43.
- Haake, D.A., M.K. Mazel., A.M. Mc Coy., G. Chao., J. Matsunaga., and E.A. Wagar. 1999. Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and Lip 141 exhibit synergistic immunoprotection. *Infection and immunity* 67: 6572-6582.
- Hassig, M., and J. Lubsen. 1998. Relationship between abortions and seroprevalence to selected infectious agents in dairy cows. *Zentralbl Veterinarmed* 45(7): 435-441.
- He, P., Y.Y. Sheng., Y.Z. Shi., X.G. Jiang., J.H. Quin., Z.M. Zhang., G.P. Zhao., and X.K. Guo. 2007. Genetic diversity among major endemic strains of *Leptospira interrogans* in China. *BMC Genomics* 204(8): 1-13.
- Hernández B., S. Muñoz M., S. Salazar L. y C. Lamothe Z. 2006. Las inundaciones y la ganadería en el estado de Veracruz durante 2005. *Inundaciones 2005 en el estado de Veracruz*. Universidad Veracruzana. 49 p.
- Hesterberg, U.W., R Bagnall., B. Bosch., K. Perrett., R. Horner., and B. Gummow. 2009. Serological survey of leptospirosis in cattle of rural communities in the province of KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of South African Veterinary Association* 80: 45-49
- Howarth, D.A., and B. Adler. 1994. Bovine leptospirosis and infertility. *The bovine proceeding* 16: 159-162.
- Inada R., Y. Ido., R. Hoki., R. Kaneko., and H. Ito. 1916. The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease. (*Spirochaetosis icterohaemorrhagical*). *The Journal of Experimental Medicine* 23: 377-402.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), 2002. [http://www.inegi.gob.mx/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/pais/aepef/2002/Aepef0801](http://www.inegi.gob.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/pais/aepef/2002/Aepef0801). Consultado: Agosto de 2007.
- Isogai, E., H. Isogai., N. Fujii., and K. Oguma. 1990. Macrophage activation by leptospiral lipopolysaccharide on mouse B, T and NK cells. *Japanese Journal of Veterinary Science* 52: 923-930.
- Jessup, D., R. Miller., C. Bolin., M. Kock., P. Morkel. 1992. Retrospective evaluation of leptospirosis in free-ranging and captive black rhinoceroses (*Diceros bicornis*) by microscopy agglutination titres and fluorescent antibody testing. *Journal of zoology and wildlife medicine* 4: 401-408.

- Jost, B.H., B. Adler., T. Vihn., S. Faine. 1989. Experimental immunisation of hamsters with lipopolisaccharide antigens of *Leptospira interrogans*. *Journal of Medical Microbiology* 29: 115-120.
- Kelsey, J.L., W.D. Thompson., and A.S. Evans. 1986. *Methods in observational epidemiology*. Oxford University Press, New York. 432 p.
- Kita, J.H., and B. Anusz. 1991. Comparison of histology with maternal and fetal serology for diagnosis of abortion due to bovine leptospirosis. *Veterinary Record* 141: 487- 489.
- Koizumi, N., M. Muto., S. Yamamoto., Y. Baba., M. Kudo., Y. Tamae., K. Shimomura., I. Takatori., A. Iwakiri., K. Ishikawa., H. Soma., and H. Watanabe. 2008. Investigation of reservoir animals of *Leptospira* in the Northern Part of Miyazaki Prefecture. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 61: 465-468.
- Leal-Castellanos, C.B., R. García-Suárez., E. González-Figueroa., J.L. Fuentes-Allen., J. Escobedo-de la Penal. 2003. Risk factors and the prevalence of leptospirosis infection in a rural community of Chiapas, Mexico. *Epidemiology and Infection* 131(3): 1149-1156.
- León, L.L., R.C. Garcia., C.O. Diaz., R.B. Valdez., G.C. Carmona and B.L. Velazquez. 2008. Prevalence of Leptospirosis in Dairy Cattle from small rural production units in Toluca Valley, State of Mexico. *Animal Biodiversity and Emerging Diseases: Annals of the New York Academic Science* 1149: 292-295.
- Levett, P. 2001. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*. American Society for Microbiology 14: 296-326.
- Levy, S.P., and Lemeshow, S. 1999. *Sampling for Health Professionals, Lifetime Learning Publications, Belmont, California, U.S.A.* 56 p
- Lilenbaum, W., and G.N. Souza. 2003. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio of Janeiro, Brazil. *Research in Veterinary Science* 75(3): 249-251.
- Lilenbaum, W., G.N. Souza., P. Ristow., M.C. Moreira., S. Fragua., V.S. Cardoso., and W.M.R. Oelemann. 2007. Serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis-encephalitis virus and leptospira in dairy goats in Rio de Janeiro, Brasil. *The Veterinary Journal* 173: 408-412.
- Luna A.M.A., C.L.P. Moles, J.I. Torres., y Y.F. Guadalupe. 1996. Investigación serológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. *Veterinaria México* 27: 229-234.
- Luna-Álvarez M.A., L.P. Moles-Cervantes., D. Gavaldón-Rosas., C. Nava-Vásquez., y F. Salazar-García. 2005. Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México considerando las regiones ecológicas. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 47(1): 28-31.

- Masuzawa T., T. Fukui., M. Miyake., H.B. Oh., M.K. Cho., W.H. Chang., Y. Imai., and Y. Yanagihara. 1999. Determination of members of a *Borrelia afzelii*-related group isolated from *Ixodes nipponensis* in Korea as *Borrelia valaisiana*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology* 49: 1409–1415.
- Mejía-Saénz E. 2010. Manual práctico de ArcView GIS 3.2. 1a ed. Colegio de Postgraduados, México, DF. 57 p.
- Merien, F., G. Baranton., and P. Perolat. 1997. Invasion of vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. *Infection and immunity* 65: 729-738.
- Merien, F., J. Truccolo., G. Baranton., and P. Perolat. 2000. Identification of a 36-kDa fibronectin-binding protein expressed by a virulent variant of *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. *FEMS Microbiology Letters* 185:17-22.
- Miller, D.A., M.A. Wilson., and G.W. Beran. 1991. Relationship between prevalence of *Leptospira interrogans* in cattle and regions, climatic and seasonal factors. *American Journal of Veterinary Research* 52: 1766-1768.
- Moles-Cervantes, L.P., M.A. Cisneros-Puebla., D.G. Gavaldon-Rosas., N.R. Serrania., and J.I. Torres-Barranca. 2002. Serological study of bovine leptospirosis in Mexico. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54(1): 24-27.
- Monahan, A.M., I.S. Miller., and J.E., Nally. 2009. Leptospirosis: risks during recreational activities. *Journal of Applied Microbiology* 107: 707-716.
- Montané de la Vega R. 2012. *Ecología y Conservación Ambiental*. México: Editorial Trillas. 180p.
- Naiman, B., D. Alt., C. Bolin., R. Zuerner., and C. Baldwin. 2001. Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gamma delta T lymphocytes. *Infection and immunity* 69: 7550-7558.
- Natarajaseenirasan, K., K. Vedhagiri., V. Sirabalan., S.G. Prabakaran., S. Sukumar., S.C. Arthiushin., y Timoney, J. 2011. Seroprevalence of *Leptospira borgpetersenii* serovar Javanica in the cauvery river valley of southern India. *Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health* 42 (3): 679-686.
- Navarrete-Espinosa M.D., J.A. Acevedo-Vales., E. Huerta-Hernandez., J. Torres-Barranca., D.G. Gavaldon-Rosas. 2006. Prevalencia de anticuerpos contra dengue y leptospira en poblacion de Jaltipan, Veracruz. *Salud Publica México* 48 (3): 220-228.
- Noguchi H., and J. Kliger. 1920. Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated from a case of yellow fever in Merida, Yucatan. *Journal of Experimental Medicine* 32: 32-67.
- Ochoa J.E., A. Sánchez., y I. Ruiz. 2000. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Pan American Journal of Public Health* 7(5): 325-331.

- Odontsetseg, N., D. Boldbaatar., A.S. Mweene and H. Kida. 2005. Serological prevalence of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava in horses in Mongolia. *Veterinary Record* 157 (17): 518-519.
- Orjuela J., M. Navarrete., A. Betancourt., L. Roqueme., E.Cortez., y R.B. Morrison. 1991. Salud y productividad en bovinos de la costa norte de Colombia, 2. Hallazgos serológicos, bacteriológicos y parasitológicos. *World Animal Review* 69: 7-14.
- Ostfeld, R.S., G.E. Glass., y F. Keesing. 2005. Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *TRENDS in ecology y evolution* 20 (6): 328-336.
- Ozkan, A., and V. Ozdemir. 2005. Determination of seroprevalence of Leptospirosis in cattle by MAT and ELISA in Hatay, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 29(4): 10-19.
- Pavlovsky, E.N. 1966. Natural Nidality of Transmissible Diseases: with special reference to the landscape epidemiology of zoonoses, University of Illinois Press. 261 p.
- Perret C., Abarca K., Dabanch J.P., Solari V., García P., Carrasco S., Olivares R., Avalos P. 2005. Prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la Región Metropolitana 133: 426-431.
- Pfeiffer, D., Robinson T., Stevenson M., Stevens K., Rogers D., y Clements A. (2008). *Spatial Analysis in Epidemiology*. Oxford University Press, New York, USA
- Quinn, P.J., B.K. Markey., M.E. Carter., W.J.C. Donnelly., F.C. Leonard., D. Maghire. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Great Britain. Blackwell Publishing. pp: 176-177.
- Radostits, O. M., C.C. Gay., D.C. Blood., and K.W. Hinchcliff. 2000. *Veterinary Medicine*, 9th Ed., ELBS Bailliere Tindall, London, UK. pp: 870-871.
- Ren, S.X., G. Fu., and X.G. Jiang. 2003. Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 422: 888-93.
- Rodríguez-Vivas R.I. *Enfermedades de Importancia económica en producción animal*. México. McGraw-Hill Interamericana. pp: 490-491.
- Romero P.M., y Sánchez V.J. 2009. Seroprevalencia de la leptospirosis canina de tres municipios del departamento del Tolima-Colombia. *Revista MVZ Córdoba* 14(2): 1684-1689.
- Ruiz-Rosado O. 2006. Agroecología: una disciplina que tiende a la transdisciplina. *Interciencia* 31(2): 140-145.
- Russell C.M. 1956. A hemolysin associated with leptospirae. *Journal of Immunology* 77(6): 405-409.

- Russell, K.L., M.A. Montiel., D.M. Watts., R.C. Lagos., and G. Chauca. 2003. An outbreak of leptospirosis among Peruvian military recruits. *American Journal Tropical Medicine Hygiene* 69: 53–57.
- Ryan, E.G., N. Leonard., L. O’Grady., S.J. More and M. Doherty. 2012. Seroprevalence of *Leptospira Hardjo* in the Irish suckler cattle population. *Irish Veterinary Journal* 65 (8): 1-11.
- Sakhaee, E., G.R. Abdollahpour., M. Bolourchi., H. Tabatabayi and T.S. Sattari. 2007. Serologic and bacteriologic diagnosis of bovine leptospirosis in Tehran suburb dairy farms. *Iranian Journal of Veterinary Research* 8(4): 325-332.
- Salinas-Meléndez, J.A., C. Narváez-Arce., V. Riojas-Valdés., A. Cantú-Covarrubias., R. Avalos-Ramírez., and J.C. Segura-Correa. 2007. Seroprevalence of leptospirosis in beef cattle of Nuevo León, México. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6 (11): 1265-1268.
- Schooman, L., and Senyael, S.E. 2010. Herd and animal-level risk factors for bovine leptospirosis in Tanga region of Tanzania. *Tropical Animal Health and Production* 42: 1565-1572.
- Schoone G., Everard C., Korver., Carrington D., Iniss V., Baulu J., Terpstra W. 1989. An immunoprotective monoclonal antibody directed against *Leptospiral* interrogans serovar Copenhageni. *Journal of General Microbiology* 135: 73-78.
- Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. SAGARPA. 2001. [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx)
- Segura-Correa, V.M., J.J. Solis-Calderon., and J.C. Segura-Correa. 2003. Seroprevalence of and risk factors for leptospiral antibodies among cattle in the state of Yucatan, Mexico. *Tropical Animal Health and Production* 35(4): 293-299.
- Sepúlveda, A. 2001. Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of *Hebdomadis* serogroup. *American Journal of Veterinary Research* 65:650-686.
- Shi, D., M. Liu., S. Guo., S. Liao., M. Sun., J. Liu., L. Wang., Z. Wang., S. Wang., D. Yang., and T. Chai. 2012. Serological survey of canine leptospirosis in Southern China. *Pakistan Veterinary Journal* 32 (2): 280-282.
- Silva, L.C. 2003. *Estadísticas Médicas; Muestreo para la investigación en ciencias de la salud* Diaz de Santos, Madrid. 159 p.
- Silva R.F. y S. Riedemann. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias mediante aglutinación microscópica y comparación de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. *Archivos Medicos Veterinarios* 39 (3): 269-274.
- Solana M.T.S. 1993. Determinación de anticuerpos contra leptospirosis bovina en la zona centro del estado de Veracruz. Tesis de licenciatura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana.

- Solis L.C., G.C.O. Vazquez., F.D. Ávila., L.P. Moles., y A.M.A. Luna. 1997. Identificación de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en bovinos de carne en Tabasco, México. *In: Memoria del XXXIII Reunión Nacional de Investigación*. 3-8 de noviembre, Veracruz, México. pp: 26.
- Stimson, A.M. 1907. Note on an organism found in yellow-fever tissue. *Public Health Reports* 22: 541.
- Talpada, M.D., R. Garvey., A.K. Sprowls., K. Eugster., and J.M. Vinetz. 2003. Prevalence of leptospiral infection in Texas cattle: Implications for transmission to humans. *Vector-Borne Zoonotic Diseases* 3: 141-147.
- Thompson, J.A., R.M. Leite., V.S. Goncalves., R.C. Leite., D.A. Bandeira., G.P. Herrmann., E.C. Oreira., P.E. Prado., Z.I. Lobato., C.P. Brito., A.P. Age. 2006. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar Hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*. 17: 290-301.
- Thierman, 1982. Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the Hebdomadis serogroup. *American Journal of Veterinary Research* 43: 780-784.
- Thrusfield M., 2005. *Veterinary Epidemiology*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. pp: 47-56.
- Torres B.J., L.B. Valdivieso., R.P.I. Romero, P.M.A. Cisneros., y C.L.P. Moles. 2001. Exploración sorológica de leptospirosis en ganado bovino de carne del estado de Chiapas. *In: Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatría del 16 al 18 de agosto de 2001*. Veracruz, México. pp: 117.
- Treuil, G. 1988. *Dynamics of Agrarian Landscapes in Western Thailand*. 318 p.
- Vado-Solís, I., M.F. Cárdenas-Marrufo., B. Jiménez-Delgadillo., A. Alzina-López., H. Lariado-Molina., V. Suarez-Solís y J. Zavala-Vázquez. 2002. Clinical Epidemiological study of leptospirosis in humans and reservoirs in Yucatán, México. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 44(6): 335-340.
- Varela G. y Roch E. 1965. Leptospirosis en la República Mexicana. *Salud Publica de México* 2(2): 189-193.
- Vandermeer, J.H. 2003. *Tropical Agroecosystems*. CRC Press. Boca Raton, Florida, U.S. 268 p.
- Villanueva, A.M., E. Hirokazu., A.B. Rublia., Y. Yasutake., M. Maki., K. Nobou., F. Takashi., O. Yoshihiro., M. Toshiyuki., L.C. Lolita., G.G. Nina., y Shin-ichi, Y. 2010. Serologic and molecular studies of *Leptospira* and leptospirosis among rats in the Philippines. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 82 (5): 889-898.
- Vinetz, J.M., G.E. Glass., C.E. Flexner, P. Mueller., and D.C. Kaslow. 1996. Sporadic urban leptospirosis. *Annals Internal Medicine* 125: 794-98.

- Vinh, T., B. Adler., and S. Faine. 1982. The role of macrophages in the protection of mice against leptospirosis: in vitro and in vivo studies. *Pathology* 14: 463-468.
- Vinh, T., B. Adler., and S. Faine. 1986. Ultrastructure and chemical composition of lipopolysaccharide extracted from *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. *Journal of General Microbiology* 132: 103-109.
- VKE, L. 2011. Leptospirosis: a re-emerging infection. *Malaysian journal of pathology* 33(1): 1-5.
- Vongxay, K., J.V. Conlan., S. Khounsy., P. Dorny., S. Fenwick., A. Thompson and S. Blacksell. Seroprevalence of major bovine-zoonotic infectious diseases in the Lao people's Democratic Republic. *Vector-borne and zoonotic diseases* 12(10): 861-866.
- Wang, B., G. Sullivan., and G. Mandell. 1984. Interaction of leptospire with human polymorphonuclear neutrophils. *Infection and immunity* 44: 459-464.
- Waitkins, S. 1986. Leptospirosis as an occupational disease. *British Journal of Industrial Medicine* 43: 721-725.
- Weiss, A. 2001. Topographic position and landforms analysis. *Environmental Monitoring and Assessment* 64: 227-245.
- WHO (World Health Organization). 1999. Leptospirosis world wide. *Epidemiology Record* 74: 237-242.
- WHO (World Health Organization). 2003. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO Library Cataloguing-in-Publication. pp: 63-69.
- WHO (World Health Organization). 2000. Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis, Western Pacific Region. Scientific Services. *Leptospirosis Surveillance Report for 2000*.
- Yanagihara, Y., K. Kamisango., K. Takeda., I. Mifuchi., and I. Azuma. 1983. Identification of 4-O-methylmannose in cell wall polysaccharide of *Leptospira*. *Microbiology and Immunology* 27: 711-715.
- Yasuda, P., A. Steigerwalt., K. Sulzer., A. Kaufmann., F. Rogers., and D. Brenner. 1987. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with proposals for seven new *Leptospira* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 37: 407-15
- Zieris D.P., and M.C. Venturini. 1991. Leptospirosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Revista Argentina de Microbiología* 37: 4.
- Zuerner, R., and C. Bolin. 1997. Differentiation of *Leptospira interrogans* isolates by IS1500 hybridization and PCR assays. *Journal Clinical Microbiology* 35: 2612-2617.

## 10. ANEXOS

### ANEXO A

#### RECORRIDO DEL MUESTREO Y TAMAÑO DE MUESTRA POR MUNICIPIOS DEL ESTADO DE VERACRUZ

		<b>Tamaño muestral</b>
		<b>por municipio</b>
	<b>REGIÓN NORTE</b>	
1	Naranjos Amatlán	<b>48</b>
2	Coyutla	<b>47</b>
3	Chicontepec	<b>48</b>
4	Chontla	<b>47</b>
5	Ixcatepec	<b>47</b>
6	Ixhuatlan de madero	<b>45</b>
7	Ozuluama	<b>94</b>
8	Pánuco	<b>94</b>
9	Papantla	<b>95</b>
10	Pueblo Viejo	<b>47</b>
11	Tamiahua	<b>48</b>
12	Tampico Alto	<b>48</b>
13	Tantita	<b>46</b>
14	Castillo de Teayo	<b>48</b>
15	Tecolutla	<b>48</b>
16	Temapache	<b>48</b>
17	Tepetzintla	<b>91</b>
18	Tihuatlán	<b>48</b>
19	Tuxpan	<b>95</b>
20	El Higo	<b>48</b>
		<b>1177</b>
	<b>REGIÓN CENTRO</b>	
1	Acajete	<b>48</b>
2	Alto Lucero de Gutiérrez Barrios	<b>46</b>
3	Alvarado	<b>48</b>
4	Atzalan	<b>48</b>
5	Coatzintla	<b>46</b>
6	Coscomatepec	<b>48</b>

7	Cuitlahuac	45
8	Ignacio de la Llave	48
9	Ixhuacán de Reyes	46
10	Juan Rodríguez Clara	48
11	Manlio Fabio Altamirano	48
12	Medellín	47
13	Nautla	47
14	Playa Vicente	186
15	San Andrés Tuxtla	48
16	Santiago Tuxtla	46
17	Tehuipango	48
18	Tierra Blanca	94
19	Tlacotalpan	46
20	Tlalixcoyan	48
21	Vega de Alatorre	47
22	Tres Valles	48
		1219
	<b>REGIÓN SUR</b>	
1	Acayucan	46
2	Cosoleacaque	47
3	Las Choapas	191
4	Hidalgotitlán	96
5	Ixhuatlán del Sureste	47
6	Jesús Carranza	96
7	Meyacapan	47
8	Minatitlán	191
9	Moloacán	48
10	San Juan Evangelista	96
11	Sayula de Alemán	48
12	Agua Dulce	47
		1000

## ANEXO B

### ENCUESTA

1. FOLIO \_\_\_\_\_

**Todos los datos que usted proporcione son confidenciales y solamente serán utilizados con fines de investigación para el mejoramiento de la ganadería del estado de Veracruz**

Fecha: \_\_\_\_\_ Encuestador: \_\_\_\_\_

Nombre del propietario de la explotación: \_\_\_\_\_

Nombre de la explotación: \_\_\_\_\_

Poblado o lugar donde se ubica la explotación: \_\_\_\_\_

Ubicación de la explotación con GPS: \_\_\_\_\_

2. Municipio donde está la explotación: \_\_\_\_\_

**Por favor marque con una cruz la respuesta que considere le corresponde**

3. A que tipo de ganadería se dedica?

1 ( ) Producción de carne

2 ( ) Producción de leche

3 ( ) Doble propósito (carne y leche)

4 ( ) Píe de cría

5 ( ) Monta (espectáculo)

6 ( ) Otro

Especifique: \_\_\_\_\_

4.- Su ganado es nacido y criado en su rancho?

1 ( ) Si

2 ( ) No 3 ( ) Tiene nacido allí y también comprado

4 ( ) Tiene ganado a medias.

5.- De enero del 2006 a la fecha ha comprado ganado?.

1 ( ) Si

2 ( ) No

5.1 Donde lo compró? 1 ( ) En el mismo municipio.

2 ( ) En otro municipio del estado.

3 ( ) En otro estado.

4 ( ) En otro país

6.- Cuando compra ganado que hace antes de meterlo o juntarlo con sus animales?

6.1. Lo baña contra garrapata, moscas, etc.

1 ( ) Si

2 ( ) No

3 ( ) A veces

6.2. Lo desparasita

1 ( ) Si

2 ( ) No

3 ( ) A veces

6.3 Lo revisa para ver

Si está enfermo

1 ( ) Sí

2 ( ) No

3 ( ) A veces

6.4. Lo vacuna

1 ( ) Sí

2 ( ) No

3 ( ) A veces

6.5. Pide a un veterinario

que lo revise

1 ( ) Sí

2 ( ) No

3 ( ) A veces

7.- Al día de hoy, cuantas cabezas de ganado tiene en su rancho? \_\_\_\_\_









**Cédula individual por bovino**

Fecha \_\_\_\_\_ Municipio \_\_\_\_\_  
 Rancho \_\_\_\_\_ Nombre o identificación del bovino \_\_\_\_\_  
 Raza \_\_\_\_\_ Peso Kgr. \_\_\_\_\_ Edad (meses) \_\_\_\_\_  
 Sexo  Macho  Hembra

## Tipo de animal:

1( ) Becerro destetado  Torete  
 3( ) Novillo  Toro semental  
 5( ) Buey  Becerrona (sin estar gestante)  
 7( ) Vaquilla (cargada para 1er. Parto)  Vaca de 1er parto  
 9( ) Vaca 2º parto  Vaca 3 a 5 partos  
 11( ) Vaca con más de 5 partos

## Estado de carnes

1( ) Muy malo  Malo  Bueno  Gordo  Muy Gordo

Este animal es nacido en el rancho?  Sí  No  No sabe

Si fue comprado, en donde se compró?

## Este animal se le ha aplicado alguna de las siguientes vacunas?

Brucelosis	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No sabe
Diarrea Viral	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No sabe
Rinotraqueítis	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No sabe
Leptospirosis	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No sabe
Neosporosis	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No sabe

Este animal se ha desparasitado?  Sí  No  No sabe

Hace cuanto tiempo se desparasitó?  Menos de un mes  De 1 a 3 meses  
 De 3 a 6 meses  De 6m a 1 año  más del año  No sabe

De Enero del 2004 a la fecha, este animal ha presentado diarrea

Sí  No  No sabe

**Si el animal muestreado es una vaca:**

Cuanto es su producción máxima de litros de leche por día en el ordeño? \_\_\_\_\_ Litros

Esta vaca ha tenido algún aborto?  Sí  No  No sabe

Cuando fue su último parto? \_\_\_\_\_

Cuando la cargo el toro o fue inseminada por última vez? \_\_\_\_\_

**SR. GANADERO AGRADECEMOS SU COOPERACION.**