

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FAÇULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



"ESTUDIO SEROLOGICO DE LEPTOSPIROSIS EN GANADO
BOVINO LECHERO EN LA
CUENCA LECHERA DE GUADALAJARA"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

ENRIQUE SANTOS LOPEZ

GUADALAJARA, JAL. 1982.

TEMA DE TESIS

ESTUDIO SEROLOGICO DE LEPTOSPIROSIS EN GANADO BOVINO
LECHERO EN LA CUENCA LECHERA DE GUADALAJARA

PASANTE: Enrique Santos López.

ASESOR: M.V.Z. Aquiles Merlos Castañeda.

Guadalajara, Jalisco, Marzo 11 de 1982.

PENSAMIENTOS

El deber de un hombre está
allí, donde es más útil.

José Martí.

Siempre seré veraz y daré
en todo lo que haga, ejem
plô de honradez, rectitud
y de sentido de responsa-
bilidad.

DEDICATORIAS

i OH GRAN DIOS !
Gracias por este don
que has aumentado a
mi vida.

A MIS PADRES: EVA Y ENRIQUE
Que fueron el mejor invento sobre
la tierra, dotados del poder de -
engendrarme y guiarme en mis pri-
meros pasos.

Quiero manifestar en este pequeño
escrito que representa la culmina
ción de un anhelo, que por largos
años fue tomando forma, MI GRATI-
TUD, por su gran cariño, ayuda, -
ilusiones y esperanzas que han de
positado en mi.

MI ETERNO AGRADECIMIENTO

A MIS HERMANOS: ZOILA, RUBEN, MARTHA, GRACIELA Y ALMA.

Que en la recia lucha de mi carrera, cuando mi pobre voluntad
flaqueaba, quien sino ustedes, me alentaron y ayudaron, para
poder alcanzar un peldaño más de mi existencia.

G R A C I A S

PARA TI LAURA.

Fuente inagotable de cariño
amor y comprensión, gracias
por motivarme a lograr esta
meta más de mi vida.

CON TODO MI AMOR

A MIS COMPAÑEROS.

Que formaron parte de mi vida
estudiantil, cuyos nombres en
estos momentos viajan por mi
mente, con quienes comparti -
los buenos momentos y el esca
broso camino de nuestra carre
ra.

UN RECUERDO A TRAVEZ DE LOS -
AÑOS.

A MIS AMIGOS:

Quienes supieron darme una
palabra de aliento, con --
profunda significación.

A MIS MAESTROS:

Que supieron digerir la ciencia
para después transmitirla e im-
partirla por medio de útiles en-
señanzas y conocimientos verídicos.

MI RECONOCIMIENTO

A MI HONORABLE JURADO:

M.V.Z. Abel Buenrostro Silva.
M.V.Z. J. Jesús Castañeda S.
M.V.Z. Ricardo Díaz Villalobos.
M.V.Z. J. Antonio Orozco S.
M.V.Z. J. Jesus Delgado C.

Por las cosas maravillosas que
me enseñaron, producidas por -
el esfuerzo entusiasta y su la-
bor infinita.

CON PROFUNDA GRATITUD

A MI ASESOR: M.V.Z. AQUILES MERLOS C.

Por su atinada dirección y colabora-
ción decidida, por la elaboración de
este trabajo.

CON GRAN RESPETO

A MI FACULTAD:

Por forjarme académica
e intelectualmente.

A MI ALMA MATER:

Un tributo de reconocimiento.

EN MEMORIA DE LOS QUE SE HAN MARCHADO.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE UNA
U OTRA FORMA CONTRIBUYERON PARA LA -
REALIZACION DEL PRESENTE TRABAJO.

I N D I C E

I.- INTRODUCCION.....	1
II.- OBJETIVOS.....	4
III.- MATERIAL	5
IV.- METODOLOGIA.....	6
V.- RESULTADOS.....	10
VI.- DISCUSIONES.....	14
VII.- CONCLUSIONES.....	16
VIII.- SUMARIO.....	18
IX.- BIBLIOGRAFIA.....	20

INTRODUCCION

La leptospirosis en bovinos es una enfermedad del tipo de las zoonosis, causada por una bacteria del grupo de las espiroquetas, que se presenta en forma subclínica y generalmente pasa desapercibida, pero afecta seriamente la economía de los hatos donde se presenta, pues las pérdidas por abortos y mortinatos suelen ser elevadísimas. Es por eso que en la actualidad la leptospirosis se cuenta entre los principales problemas de las explotaciones lecheras y causante de cuantiosas pérdidas económicas. (10,15).

No hay signos clínicos con valor diagnóstico patognomónico por cualquiera de las especies de leptospira excepto para la enfermedad causada por leptospira icterohaemorrhagiae que es casi siempre septicémica. En términos generales la enfermedad es más frecuente en zonas o regiones de climas húmedos y cálidos de suelos alcalinos y con abundante agua superficial. Aunque la mortalidad es baja en bovinos (5%), la morbilidad puede llegar a ser elevadísima, según datos clínicos y serológicos, pudiendo alcanzar hasta un 100% de los animales expuestos. (2)

En Estados Unidos se ha subestimado la importancia médica y económica, puesto que los veterinarios consideran rara vez la posibilidad de una infección por leptospira a menos que el paciente presente ictericia y hemoglobinuria sin tener en cuenta que estos signos faltan en más de 50% de todos los casos. (16)

En 1968 se registraron en Estados Unidos 20,000 casos de leptospirosis en bovinos, cifra que se calcula en cuanto a económico se refiere en unos -- 100 millones de dólares, dividiéndose las pérdidas igualmente entre: abortos, mortinatos, muertes, debilidad o desmedro. (11)

Desde hace algún tiempo el interés se ha enfocado más sobre leptospirosis bovina, principalmente en los 5 serotipos más frecuentes como lo son: -- Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa y la Hardjo, como causa de infertilidad, admitiendo que dichas leptospirosis provocan alteración en la capacidad fecundante, interfiriendo de ésta manera en la conjugación de los gametos, junto con las consecuentes pérdidas económicas. (14)

El hecho mismo de que la leptospirosis se haya propagado de tal manera en los últimos años, se ha considerado una de las zoonosis más difundida en la actualidad. Investigaciones en dicha enfermedad han revelado que las infecciones leptospirosicas en el hombre y los animales son mucho más frecuentes de lo que se pensaba. (4)

La verdadera fuente de ésta enfermedad, son los animales que tienen una fase de leptospirosis prolongada, sin que sufran generalmente ellos mismos la enfermedad, tal es el caso de las ratas, que en estudios efectuados en -- orina de ellas mismas se han registrado 6,000 leptospirosis por mililitro, considerando que cada vez que orinan depositan 3 mililitros con 18,000 leptospirosis virulentas, la magnitud del riesgo para el hombre y los animales salta a

la vista. (4,8 y 3)

Algunos trabajos efectuados anteriormente (informe anual del CIAT 1975), mostraron que el 63.5% de los animales de los llanos de Colombia presentaban reacciones serológicas positivas a diversos serotipos de leptospira. Uno de los serotipos más frecuentes fué el Hardjo. (6)

En 1968 Gustavo Lastra Durán obtuvo un 24.8% de positivos de 500 animales muestreados al azar; el estudio se realizó con el serotipo pomona. (12)

En Chile en los bovinos aparentemente sanos existe un 59.1% de reaccionantes teniendo gran importancia el serotipo pomona. (17)

En el Instituto de Investigaciones de Maracay, Venezuela, se analizaron 164 muestras para leptospirosis durante el periodo septiembre-noviembre de 1976, demostrando que un 27.4% de estos animales tenían anticuerpos con títulos significativos de infecciones a diferentes serotipos de leptospira. (18)

En las Américas los serotipos predominantes son: Pomona, Hardjo y Grippotyphosa, encontrándose a veces infecciones por los serotipos Canicola y la Icterohaemorrhagiae. (1)

En los archivos del Laboratorio Central Regional de Diagnóstico en Tlaquepaque, Jalisco, reportan en los años de 1965-1974 5 casos de leptospirosis en bovinos. (9)

O B J E T I V O S

El principal objetivo que nos llevó a la elaboración de ésta tesis es - conocer cuáles son los serotipos más frecuentes en nuestro medio ganadero, - saber hasta donde se encuentra propagada ésta enfermedad y que importancia - debemos darle en el ganado bovino lechero.

Además de contribuir de ésta manera a llenar un poco el hueco que a nivel Nacional existe por la escasa o casi nula información en leptospirosis - en cuanto a bovinos de leche se refiera. Aumentado así, de ésta manera, el - material de consulta para el estudio de Medicina Veterinaria.

MATERIAL

1.- DE LABORATORIO:

- a).- Tubos de ensaye.
- b).- Tubos capilares.
- c).- Placas de plastilina.
- d).- Estufa bacteriológica.
- e).- Placas de aglutinación.
- f).- Gradillas.
- g).- Pipetas.
- h).- Centrífuga.
- i).- Lámpara.

2.- BIOLÓGICO:

- a).- Antígenos de leptospira; Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa y Hardjo.
- b).- 70 sueros de bovinos problema.

3.- OTROS:

- a).- Aguja No. 14 x 1.5 pulgadas.
- b).- Palillos de madera.
- c).- Solución salina fisiológica.
- d).- Alcohol.
- e).- Algodón.
- f).- Refrigerador.
- g).- Hojas de registro.
- h).- Misceláneos.

M E T O D O L O G I A

A).- RECOLECCION:

1.- Se recolectaron 70 muestras de sangre, de hembras adultas de 7 diferentes explotaciones lecheras ubicadas en la periferia de la Ciudad de Guadajajara.

2.- En cada explotación se recolectó 10 muestras de hembras con antecedentes de abortos y/o mortinatos.

3.- A cada hembra se le extrajo de la vena yugular 10 c.c. de sangre -- con aguja del No. 14 x 1.5 pulgadas.

4.- La sangre se recolectó en tubos de ensaye con tapón, etiquetados -- donde se le anotó la identificación del animal.

5.- Una vez recolectadas las muestras se colocaron los tubos de ensaye en las gradillas y se trasladaron al laboratorio, se pusieron en refrigeración y 6 horas después se separó el coágulo con un palillo de madera y se recolectó el suero en otro tubo de ensaye limpio. La muestra que no soltó suero se centrifugó para la separación del mismo, posteriormente se llevaron a cabo las reacciones de aglutinación.

B).- AGLUTINACION: 1) Por gota en placa y 2) en tubo capilar.

1.- Por gota en placa: Es una prueba macroscópica orientadora sobre placa. Se colocaron 5 gotas del suero problema en igual número de divisiones de la placa, que equivalen de la misma forma a los 5 antígenos de los serotipos, a cada gota de suero se le agrega una gota de antígeno se mezclan con movimientos circulares con un palillo, se esperan 5 minutos para hacer la lectura. Todas aquellas en que hubo aglutinación fueron positivas (+), y se probaron posteriormente por aglutinación en tubo capilar. Las negativas (-) se anotarán como tales. (1 y 9)

2.- En tubo capilar:

PROCESO DE LA DILUCION DEL SUERO

TUBO No.	SOLUCION SALINA PBS BUFFER	VOLUMEN DE SUERO DILUIDO TRANSFERIDO	SUERO INICIAL DILUCION	SUERO FINAL DILUCION
4	1.5 ml.	---	1:3200	1:6400
3	1.5 ml.	0.5 ml.	1:800	1:1600
2	1.5 ml.	0.5 ml.	1:200	1:400
1	4.9 ml.	0.5 ml.	1:50	1:100
Muestra suero		0.1 ml.		

*Dilución final del suero después de la adición del antígeno.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Se colocan 4 tubos en una gradilla atrás de cada muestra de suero.
- 2.- Empleando una jeringa automática de 5.0 ml. de Cornwal. Ajustada a 4.9 ml. llene 4.9 de PBS con pH de 7.2, adicione el tubo No. 1 por cada muestra de suero.
- 3.- Usando una jeringa automática de 2 ml. de Cornwal ajustada a 1.5 ml. adicione 1.5 ml. de PBS a los tubos 2,3 y 4 por cada muestra de suero.
- 4.- Usando una pipeta apropiada adicione 0.1 ml. de suero al tubo No. 1. La misma pipeta puede ser usada directamente para la transferencia; el suero por descartar del suero remanente en la pipeta por drenado y expulsado con agua destilada, por varios enjuagues.
- 5.- Usando una jeringa automática de Cornwal, ajuste a 0.5 ml. mezcle suero y solución PBS del tubo 1 por llenado y expulsado de la solución en la jeringa 5 ó 6 veces.
- 6.- Transferi 0.5 ml. de la dilución del tubo 1 al tubo 2 y mezcle.
- 7.- Repeti para tubos 3 y 4.
- 8.- Después del mezclado del tubo 4 enjuague la jeringa 5 ó 6 veces en

agua destilada.

- 9.- Repetir los pasos 5, 6, 7 y 8 por cada muestra de suero.
b. adición de suero. (9)

*Las muestras se consideran positivas desde la primera dilución:

Los métodos de laboratorio para el diagnóstico de ésta enfermedad deberán permitir o negar la impresión de ésta enfermedad en un lapso razonable, los procedimientos son varios: Aglutinación-Lisis, Aglutinación en tubo capilar, Aglutinación en placa, Observación en campo obscuro, Suero hemolítico, Orina hemolítica, Fijación de complemento, Cortes histológicos de riñón y -- Cultivos en líquidos o tejidos orgánicos. (13)

Nosotros hemos seleccionado los métodos de Aglutinación en placa y Aglutinación en tubo capilar porque son métodos seguros, rápidos y prácticos que nos permitirán determinar la respuesta inmunológica de los 5 diversos serotipos de leptospira más frecuentes en el ganado bovino lechero en nuestro medio.

R E S U L T A D O S

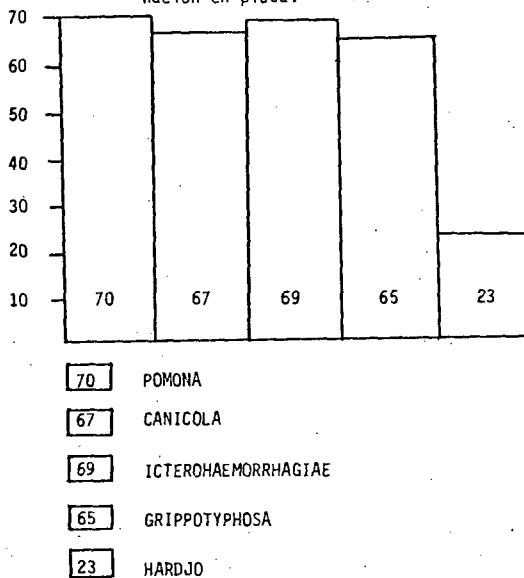
Cuadro No. 1. Relación de los hatos muestreados y número de muestras recolectadas por estable.
Método Aglutinación en placa.

ESTABLO	MUESTRAS TOMADAS	POSITIVAS	%
SAN JOSE	10	10	100
LA CRUZ BLANCA	10	10	100
EL DERRAMADERO	10	10	100
LAS TERRAZAS	10	10	100
RANCHO COFRADIA	10	10	100
EL ESTRIBO	10	10	100
CAMINO REAL	10	10	100

Cuadro No. 2. Serotipificación por el método de Aglutinación en placa.

SEROTIPOS	POSITIVOS	%
POMONA	70	100
CAHICOLA	67	95.7
ICTEROHAEMORRHAGIAE	69	98.5
GRIPPOTYPHOSA	65	92.8
HARDJO	23	32.8

Gráfica No. 1. Relación de los resultados obtenidos en la serotipificación. Por el método de Aglutinación en placa.



Cuadro No. 3. Relación de los resultados obtenidos por el método de Aglutinación en tubo capilar.

POSITIVIDAD	No. DE POSITIVOS A CADA DILUCION	%
1:100	9	12.8
1:400	7	10.0
1:1600	13	18.5
1:6400	11	15.7
NEGATIVAS	30	42.8

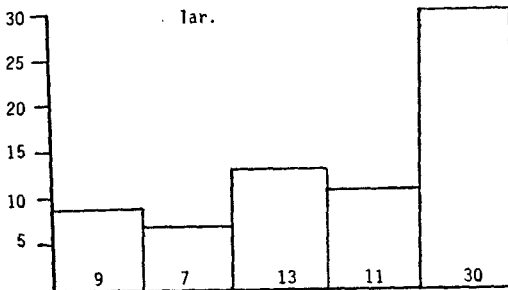
Cuadro No. 4 Relación de los resultados obtenidos en cada dilución por establo, por el método de Aglutinación en tubo capilar.

ESTABLO	TOTAL DE MUESTRAS	NEGATIVAS	No. DE (+) A DILUCIONES			
			1:100	1:400	1:600	1:6400
SAN JOSE	10	4	1	1	3	1
LA CRUZ BLANCA	10	6	0	2	1	1
EL DERRAMADERO	10	3	3	0	3	1
LAS TERRAZAS	10	5	1	1	1	2
RANCHO COFRADIA	10	5	1	1	3	0
EL ESTRIBO	10	4	0	0	1	5
CAMINO REAL	10	3	3	2	1	1
TOTALES	70	30	9	7	13	11

Cuadro No. 5. Relación de abortos y mortinatos.

No. ABORTOS	%	No. MORTINATOS	%
55	78.5	15	21.4

Gráfica No. 2. Representación de muestras positivas y negativas por el método de Aglutinación en tubo calar.



9 1:100

7 1:400

13 1:1600

11 1:6400

30 NEGATIVAS

Cuadro No. 6. Relación de las edades (en partos) de los animales muestreados.

No. PARTOS	POSITIVAS	%
VAQUILLAS	31	44.4
PRIMERO	6	8.5
SEGUNDO	12	17.1
TERCERO	14	20.0
CUARTO	3	4.2
QUINTO	4	5.7

DISCUSIONES

Conforme a los resultados obtenidos se pudo observar que de los establos muestreados un 100% resultó positivo a leptospirosis por el método de aglutinación en placa, demostrando esto la alta incidencia de la enfermedad. (cuadro 1)

En la serotipificación se encontró que el serotipo más común fué el pomona con una frecuencia del 100% y el más bajo fué el hardjo con un 32.8% (cuadro 2, gráfica 1). Demostrando así cuál es el serotipo más frecuente.

Por el método de aglutinación en tubo capilar (cuadro 3), resultaron 30 muestras negativas y 40 positivas dentro de las cuáles se encontró que:

9 muestras corresponden a la primera dilución (1:100).

7 muestras corresponden a la segunda dilución (1:400).

13 muestras corresponden a la tercera dilución (1:1600).

11 muestras corresponden a la cuarta dilución (1:6400).

La prueba de aglutinación en tubo capilar nos indica por los altos títulos de aglutinación una enfermedad reciente o activa y en los casos negativos un estadio de recuperación de una leptospirosis pasada.

La diferencia de resultados entre el método de aglutinación en placa (AP) y el de aglutinación en tubo capilar (ATC), se explican porque en la AP son concentraciones 1:5 aproximadamente y en la ATC la concentración más ba-

ja es de 1:100 por lo tanto, muestras que son positivas por el método de AP pueden ser negativas por el de ATC. (7)

En los establos estudiados se observaron 55 abortos (78.5%) y 15 mortinatos (21.4%), presumiblemente a causa de leptospirosis, ya que para aseverarlo se tendría que realizar un estudio comparativo con otros agentes etiológicos. (cuadro 5)

Como podemos observar (cuadro 6), de los 70 animales muestreados 31 (44.4%) fueron vaquillas, esto no tiene ningún significado puesto que los animales fueron escogidos al azar, dentro de los que presentaban antecedentes de abortos y mortinatos y la enfermedad se puede presentar en cualquier edad.

CONCLUSIONES

1.- La leptospirosis en los hatos muestreados muestra ser un problema de sanidad animal grave, ya que resultaron positivas un 100%.

2.- De acuerdo a los datos publicados por Pedro Acha (1), de que los serotipos más frecuentes en las Americas son: Pomona, Grippityphosa y Hardjo, encontrándose en ocasiones los serotipos Canicola e Icterohaemorrhagiae, se comprobo que en nuestro medio lo son también.

3.- Las muestras fueron recolectadas de establos de los municipios de: Zapopan, Jalisco; Ciudad Guzmán, Jalisco; Sta. Cruz de las Flores, Jalisco y El Grullo, Jalisco. Lo que nos indica una amplia difusión de la enfermedad.

4.- De acuerdo a los resultados se estableció que los abortos respecto a los mortinatos tienen mayor prevalencia, ya que, el porcentaje de abortos presentado en los hatos muestreados fué de 78.5% y el de mortinatos fué de 21.4% aún cuando no se hizo un estudio comparativo con otros agentes para establecer la etiología.

5.- La vacunación rutinaria podría ser de utilidad para el control de éste problema.

6.- Dado el alto porcentaje de muestras positivas llegamos a la conclu--

sión de que la leptospirosis se debe de considerar en la actualidad uno de los principales problemas del ganado lechero.

7.- El M.V.Z. debe de tener muy en cuenta este problema que es de un carácter económico grave, ya que cada aborto y mortinato aunado a la disminución en la producción de leche representan cuantiosas pérdidas económicas.

8.- Además se hace necesario promover más y mejorar las investigaciones sobre la leptospirosis a nivel Nacional con el fin de lograr la eliminación de un factor negativo para la ganadería y economía del País y contribuir así a un mayor mejoramiento social.

SUMARIO

Se hizo un estudio serológico de leptospirosis en 70 animales pertenecientes a 7 diferentes establos en distintas zonas del estado, utilizando para ello 2 métodos que son: Aglutinación en placa y Aglutinación en tubo capilar.

El objetivo principal para la elaboración de este trabajo fué para saber hasta donde se ha difundido éste problema y conocer los serotipos más frecuentes.

En los resultados encontramos un 100% de positivas por el método de aglutinación en placa (cuadro No. 1), y en la serotipificación se encontró (cuadro No. 2):

Pomona	70 positivas = 100 %
Canicola	67 positivas = 95.7 %
Icterohaemorrhagiae	69 positivas = 98.5 %
Grippotyphosa	65 positivas = 92.8 %
Hardjo	23 positivas = 32.8 %

Por el método de aglutinación en tubo capilar resultaron positivas 40 muestras equivalente a un 57% y 30 negativas con un porcentaje del 42.8% (cuadro No. 3).

Por lo tanto los resultados obtenidos nos indican que la leptospirosis es un problema activo en los hatos muestreados, con una incidencia del 100%.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Acha N. Pedro. Borys Szifres. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles al Hombre y los Animales. O.M.S. O.P.S. Publicación Científica No. 354 1977. 57-62.
- 2.- Blood D.C. J.A. Henderson. Medicina Veterinaria. 4ta. Edición 1976 Editorial Interamericana. 459-466.
- 3.- Brión A. M. Fontane. Vademecum del Veterinario. 3ra. Edición 1976. Ediciones Gea. 732-733.
- 4.- Boletín Informativo. Leptospirosis. Centro Panamericano de Zoonosis. Volumen III. Septiembre de 1975.
- 5.- Carter G.R. Procedimientos de Diagnóstico en Bacteriología y Micología Veterinarias. 2da. Edición en Inglés. 1973. Editorial Acribia 170-174.
- 6.- CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Informe Anual 1976. Apartado Aereo 67-13-Cali, Colombia, S.A. Cables CINATROP.
- 7.- Comunicación Personal con el M.V.Z. Javier Hernández Rivera.
- 8.- Gibbons. W.J. Diagnóstico Clínico de las Enfermedades del Ganado. 1ra. Edición 1967. Editorial Interamericana. 188-189.

- 9.- Gomez LLanos Morales Victor M. Aspectos Sanitarios que Afectan a las --
Explotaciones Pecuarias del Area de Influencia del Laboratorio Central
Regional de Diagnóstico en Tlaquepaque, Jalisco; Estudio Comparativo de
10 Años (1965-1974). Tesis Profesional. 1975. F.M.V.Z. U.D.G.
- 10.- Hagan. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. 3ra. Edi---
ción 1970. Editorial La Prensa Mexicana. 466-479.
- 11.- Jensen Rue. Donal R. Mackey. Enfermedades de los Bovinos en Corrales de
Engorda. 1ra. Edición 1973. Editorial Utha. 180-187.
- 12.- Lastra Durán Gustavo. Contribución al Estudio de Incidencia de la Lep--
tospiriosis Bovina en la Cuenca Lechera de la Comarca Lagunera Mediante
el Método de Aglutinación en Placa. Tesis Profesional. F.M.V.Z. U.N.A.M.
1968.
- 13.- Merchant I.A. R.A. Packer. Bacteriología y Virología Veterinaria 3ra. -
Edición 1970. Editorial Acribia. 503-512.
- 14.- Pérez y Pérez Felix. Fisiopatología Reproducción Animal. 2da. Edición -
1969. Editorial Científica Médica. 921.
- 15.- Velázquez Loya Roberto. Pérdidas Económicas Debidas a Leptospiriosis Por
cina Producida por Leptospira Pomona en el Municipio de Culiacan, Sina-

10a. Tesis Profesional. F.M.V.Z. U.N.A.M. 1975.

16.- Zinsser. Bacteriología. 2da. Edición 1960. Editorial Uteha. 635-640.

17.- Zoonosis. Organización Panamericana de la Salud. Centro Panamericano de Zoonosis. Volumen XVIII, Nos. 3-4 Septiembre-Diciembre. 1976.

18.- Zoonosis. Organización Panamericana de la Salud. Centro Panamericano de Zoonosis. Volumen XIX, Nos. 3-4 Septiembre-Diciembre. 1977.