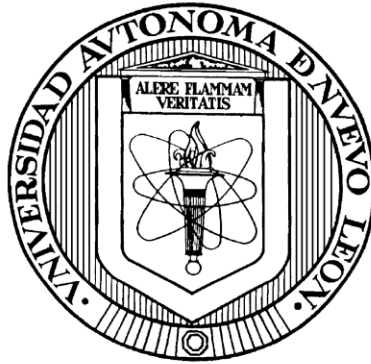


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**POSGRADO CONJUNTO**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“Frecuencia Serológica y Factores de Riesgo Asociados a *Leptospira* spp. en Sistemas de Producción de Bovinos de Leche en Durango, México.”**

**POR**

**ALEJANDRA MARÍA PESCADOR GUTIÉRREZ**

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**Noviembre 2024**

**“Frecuencia Serológica y Factores de Riesgo Asociados a *Leptospira* spp. en  
Sistemas de Producción de Bovinos de Leche en Durango, México.”**

Aprobación de tesis por el comité particular de

*Alejandra María Pescador Gutiérrez*

**COMITÉ DE TESIS**



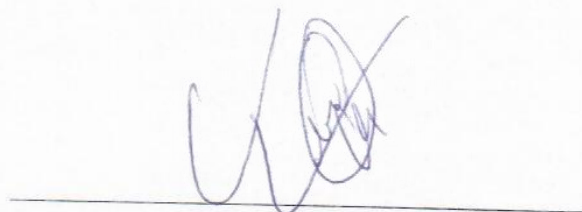
Dr. Ramiro Avalos-Ramírez

Presidente



Dr. Sergio Bernal

Secretario



Dr. Uziel Castillo-Velázquez

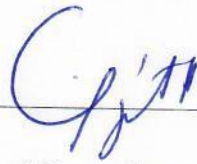
Vocal



---

Dr. Pablo Villarreal-Villarreal

Vocal



---

Dr. Juan José Zarate Ramos

Vocal



---

MCA Jesus Chávez Sánchez

Vocal

**“Frecuencia Serológica y Factores de Riesgo Asociados a *Leptospira* spp. en Sistemas de Producción de Bovinos de Leche en Durango, México.”**

**POR**



---

MVZ. Alejandra María Pescador Gutiérrez

**COMITÉ DE TESIS**



Dr. Ramiro Avalos-Ramírez

Director



---

Dr. Uziel Castillo-Velázquez

Subdirector de Posgrado e Investigación

## AGRADECIMIENTOS

Debo agradecer ante todo a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León por aceptarme en su programa de Maestría en Ciencias y permitirme cumplir una meta más en mi carrera profesional como médico veterinario. Seguido, agradezco al Dr. Ramiro Avalos Ramírez por aceptarme como su asesora en el programa y por su apoyo brindado a través de estos dos años. Al departamento de virología por abrirme sus puertas y hacer posible el conocer a las personas increíbles que me brindaron todo su apoyo, pero, sobre todo su amistad.

A la TLC. Leslee, Arlene y Armando por su ayuda incondicional, su apoyo y paciencia cuando algo era nuevo para mí, su comprensión y su amistad; gracias por acogerme e incluirme en sus actividades, por considerar a una foránea, amiga y por hacer este tiempo más llevadero.

A mi co-asesor Jesús Chávez Sánchez, por su infinita paciencia y tolerancia. Gracias por enseñarme las herramientas necesarias para llevar a cabo el trabajo en laboratorio y por enseñarme todo lo que hay sobre Leptospira. Gracias por todo Chuy. A la Dra. Sibilina por su motivación siempre, a querer ser mejor estudiante, su paciencia al explicar las cosas, al darme la confianza de preguntar y aclarar dudas sin hacerme sentir menos por no saberlas.

Al Dr. Sergio Bernal por su apoyo cuando más lo necesite, por su amistad y por ser como es, Dr. usted me hizo sentir aceptada, me hizo saber que había más personas con mi mismo modo de pensar y actuar, que el no pensar como todos los demás también está bien. Al Dr. Uziel y al Dr. Pablo Villarreal Villarreal por su apoyo, por ayudarme a sacar la tesis a flote y por darme la confianza de acudir a ellos cuando lo necesitaba. También gracias a Mayra y al departamento de posgrado por todo lo brindado.

No puedo olvidar a Isidro, mi compañero de aventuras, mi soporte a través de estos dos años de estrés, lágrimas, alegrías y miedos. Gracias por adentrarte en

esta aventura conmigo, por acompañarme a todos los muestreos, por tu apoyo con el material y los productores; sin ti no habría muestras, por lo tanto, no habría proyecto. Tu ayuda y aliento son parte del porqué estoy aquí cumpliendo hoy una meta más. Este logro es tuyo también.

Por último, agradezco a los doctores que conocí durante la maestría, por brindarme su amistad, ayuda y conocimientos. A CONACYHT por concederme el apoyo económico y hacer posible mi estadía en Nuevo León y la realización de este posgrado.

## **DEDICATORIA**

A mis padres Mercedes y Antonio, padres míos sin su crianza y amor no sería la persona que soy hoy. Gracias por su apoyo incondicional, por su amor y por sus consejos de aliento. Espero poder pagar en vida todo lo que me han dado. A mis hermanos, porque sin importar qué, siempre seremos tres. Los amo.

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	xiii
<b>LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA</b> .....	xiv
<b>RESUMEN</b> .....	xvi
1. INTRODUCCION.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1 Situación Actual .....	4
3. LEPTOSPIRA .....	7
3.1 Historia .....	7
3.2 Agente Etiológico y sus Características .....	8
3.3 Biología de las Leptospiras .....	10
3.4 Epidemiología.....	11
3.5 Patogénesis.....	12
3.5.1 Abortos .....	14
3.6 Diagnóstico.....	14
3.7 Tratamiento .....	19
3.8 Control y Prevención .....	19
3.9 Factores de Riesgo .....	20
4. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN .....	20
4.1 Sistema Intensivo .....	21
4.2 Sistema Semi-Intensivo.....	21



5.	BACTERINAS ANTI <i>LEPTOSPIRA</i> .....	22
6.	SALUD PÚBLICA VETERINARIA.....	23
7.	JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	25
8.	HIPÓTESIS.....	26
9.	OBJETIVOS.....	26
9.1	Objetivo General .....	26
9.2	Objetivos Específicos .....	26
10.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
10.1	Lugar de Procesamiento de Muestras.....	27
10.2	Área y Tiempo de Muestreo .....	27
10.3	Tamaño de Muestra .....	27
10.4	Tipo de Muestras Colectadas.....	29
10.5	Criterio del Estudio Serológico .....	31
10.6	Cuantificación de Antígeno.....	31
10.7	MAT Tamiz .....	32
10.8	MAT Cuantitativa .....	33
10.9	Aislamiento y Caracterización .....	36
10.10	Análisis Estadístico de Resultados.....	36
11.	RESULTADOS.....	38
11.1	Tamaño de Muestra .....	38
11.2	Serología.....	40
11.3	Cultivo y Caracterización Serológica .....	43
11.4	Factores de Riesgo .....	43
12.	DISCUSIÓN .....	45

<b>1. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVA .....</b>	<b>55</b>
<b>2. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>56</b>
<b>13. Anexos .....</b>	<b>67</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Leptospira</i> spp observada mediante diferentes técnicas de microscopia.....	8
<b>Figura 2</b> Factores clave concurrentes para la infección en humanos..	13
<b>Figura 3</b> Sistema intensivo a) Bovinos en ordeña automatizada con capacidad de 30 a 40 bovinos por ronda b) Bovinos bajo estabulación permanente.....	21
<b>Figura 4</b> Perspectiva del sistema semi intensivo en los establos lecheros bajo estudio.....	22
<b>Figura 5</b> Estado de Durango con los municipios seleccionados para el muestreo epidemiológico. Al oeste Santiago Papasquiari, al Centro Nuevo Ideal, Centro-Sur Victoria de Durango, al Este Peñón Blanco y al Noreste Gómez Palacio. ....	28
<b>Figura 6</b> Toma de muestras. a) Toma de muestras sanguíneas por medio de vacutainer de la vena coccígea. b) Toma de muestra de orina en contenedor estéril por medio de masaje de estimulación en la zona entre la vulva y ubre. ....	30
<b>Figura 7</b> Muestras sanguíneas. a) Transferencia de suero a tubo de microcentrífuga por medio de micropipeta. b) Tubos de microcentrífuga rotulados con la misma información que los tubos vacutainer conteniendo el suero, previo a ser centrifugados. ....	31
<b>Figura 8</b> a) Muestra negativa a MAT con más del 50% de leptospiras libres. b) Muestra positiva a MAT con más del 50% de aglutinación.....	34
<b>Figura 9</b> Lectura de muestras serológicas mediante microscopía de campo oscuro.....	40
<b>Figura 10</b> a) MAT positivo con títulos de 1:800 a la serovariedad pyrogenes procedente de un bovino bajo manejo semi intensivo. b) MAT positivo con	

**títulos de 1:400 a hardjo bovis procedente de un bovino bajo sistema  
intensivo. .... 43**

**Figura 11 Aves de corral conviviendo en el mismo corral que los becerros  
..... 52**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1 Reservorios domésticos y silvestres de las diferentes serovariedades de Leptospira.....</b>	<b>10</b>
<b>Tabla 2 Serovariedades de la bacterina comercial aplicada en los bovinos de estudio manejados bajo sistema intensivo. ....</b>	<b>23</b>
<b>Tabla 3 Panel de antígenos de Leptospiras empleados.....</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 4 Diagrama de interpretación para MAT cuantitativa .....</b>	<b>35</b>
<b>Tabla 5 Número de UPP's y muestras provenientes de esos municipios y el sistema al que pertenecen. ....</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 6 Porcentaje de seropositividad contra Leptospira de acuerdo al sistema .....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 7 Porcentaje de seroprevalencia contra Leptospira a nivel de hatos en bovinos productores de leche en el estado de Durango, México .....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 8 Seroprevalencia total por serovariedad dentro de ambos sistemas de producción de bovinos productores de leche en el estado de Durango, México.....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 9 Factores asociados a la presencia de Leptospira en hatos de bovinos productores de leche manejados bajo sistema intensivo y semi intensivo. ....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA

°C	Grados Celsius
μl	Microlitros
Ag	Antígeno
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (Deoxiribonucleic Acid )
EMJH	Ellinghausen-McCoullough-Johnson-Harris (Medio de Cultivo)
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
InDRE	Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
LPS	Lipopolisacáridos
UPP	Unidad de Producción Pecuaria
MAT	Técnica de Microaglutinación en Placa (Microagglutination Test)
ml	Mililitros
OIE	Oficina Internacional de Epizootias
OMSA	Organización Mundial de la Salud Animal
OR	Odds Ratio (Razón de Momios)
PAHO	Organización Panamericana de la Salud (Pan American Health Organization)

PBS Solución Salina Tamponada de Fosfatos (Phosphate Buffered Saline Solution)

PCR Reacción en Cadena de la Polimerasa (Polymerase Chain Reaction)

pH Potential Hydrogen (Potencial de Hidrógeno)

SADER Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural

SPV Salud Pública Veterinaria

RPM Revoluciones por Minuto

## RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica desatendida causada por *Leptospira* spp., que afecta el bienestar de animales domésticos y silvestres. En el ganado vacuno se caracteriza por producir alteraciones reproductivas y disminución de la producción. En hatos de bovinos lecheros del noreste de México es escaso el conocimiento de esta infección-enfermedad. El presente estudio epidemiológico se realizó durante el año 2023 para determinar la frecuencia serológica frente a diez serovariedades patógenas de *Leptospira* spp. e identificar potenciales factores de riesgo asociados la seropositividad en 28 hatos bovinos lecheros manejados bajo dos sistemas de producción en el estado de Durango, México. Adicionalmente, a partir de orina de dos vacas adultas de distintos establos, se aisló *Leptospira hardjo-bovis* en un caso y la detección múltiple de *L. hardjo-bovis*, *hardjo-prajitno* y *wolffi* en otro. Mediante microaglutinación en campo oscuro, se obtuvo una seroprevalencia general de 31.7% (141/445). Por sistemas, se encontró significativa diferencia ( $P < 0.0001$ ) en la frecuencia de seropositividad con 54.1% (85/157) y 19.4% (56/288), para el sistema semi intensivo e intensivo, respectivamente. Se encontraron anticuerpos contra todas las serovariedades analizadas, no obstante, la frecuencia fue diferente para cada serovariedad y por sistema de producción. Análisis de regresión logística univariados y multivariados fueron realizados para detectar los potenciales factores de riesgo basadas en encuestas aplicadas a los manejadores de los establos. Los factores de riesgo fueron distintos acorde al sistema, por un lado la presencia de ratas (OR 3.56) fue el único factor detectado en establos con manejo intensivo mientras que en el sistema semi intensivo concurren múltiples factores e incluyeron la presencia de gallinas (OR 6.26), la práctica de monta natural (OR 4.97), el sistema semi intensivo (OR 4.89), la presencia de perros (4.43), Jabalíes (4.30), la coexistencia con animales domésticos (OR 4.26), gatos (4.06), alta densidad de animales por corral (OR 3.13), no recoger placenta (OR 2.77) y presencia de cerdos (OR 2.05). Exceptuando el contacto con gallinas, la mayoría de los factores detectados



coinciden con lo reportado por estudios previos en otras partes del mundo. El estudio reveló que en establos de bovinos lecheros en zonas áridas o semiáridas el tipo de manejo influye tanto en la seropositividad como en los factores de riesgo que determinan la circulación de *Leptospira spp* patógenas. Se infiere que la fallas en la bioseguridad, condiciones y tipo de manejo, factores micro-ambientales, así como el desconocimiento de la infección/ enfermedad y falta de capacitación concurren para la eventual difusión en y entre los establos lecheros de la zona noreste de México.

# 1. INTRODUCCION

La crianza de ganado bovino con fines de producción es la segunda actividad productiva del medio rural (SAGARPA, 2024), seguida de la agricultura. La ganadería se clasifica de acuerdo con el fin zootécnico del ganado bovino, este puede ser producción de leche o de carne y al tipo de sistema de producción, intensivo o semi intensivo. Independientemente del propósito de la explotación y del sistema de producción implementado, hay factores fundamentales para lograr una buena producción, como la salud integral, salud reproductiva y el bienestar animal. En rumiantes, existen agentes infecciosos asociados con alteraciones reproductivas, que se denominan abanico de enfermedades abortivas. Estas enfermedades son causadas por microorganismos como virus y bacterias (Segura-Correa et al. 2010). Debido a su alta incidencia y potencial zoonótico, estas afectaciones no solo representan un problema veterinario, sino también un problema de salud pública.

En el estado de Durango, la ganadería es la principal actividad productiva seguida de la agricultura. La crianza de ganado lechero es esencial en la región, especialmente en la denominada “Comarca Lagunera”, una zona lechera de gran importancia en el norte de México; además de contar con producción láctea de pequeños productores distribuidos por todo el estado. En México, la producción lechera se lleva a cabo principalmente mediante dos sistemas: intensivo y semi intensivo, cada uno con sus diferencias en la tecnología implementada, medidas de bioseguridad, grado de confinamiento, así como el uso de pastizales o áreas de pastoreo para alimentar y mantener el ganado. Estos dos sistemas de producción se diferencian también en el manejo de los animales, prácticas de vacunación, bienestar animal, densidad animal o número de animales por unidad de producción y la producción de leche a grande o pequeña escala (SENASICA, 2012). El ingreso monetario y el volumen de producción láctea dependen de una salud animal reproductiva óptima, por estas razones es importante cuidar las enfermedades que afecten la producción y a los animales.

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica emergente y endémica en México la cual es causada por la bacteria de género *Leptospira* spp. (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015). Estas bacterias se encuentran en la mayoría de los ambientes y se dividen en especies patógenas y saprofitas (Alonso-Andicoberry et al., 2001). Las leptospiras patógenas, causantes de la enfermedad, se dividen en serovariedades que a su vez son capaces de infectar alrededor de 160 especies animales, siendo los roedores los reservorios principales (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Bautista T. et al., 2019) . A pesar del infectar a diversas especies animales, tanto domésticas como silvestres, algunas serovariedades muestran una nididad natural hacia ciertas especies animales (serovariedades específicas de especie) (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015); dado que el ser humano es un huésped incidental (individuo que no forma parte del ciclo natural de la enfermedad), se puede infectar de diversas serovariedades patógenas.

La leptospirosis bovina causa cuadros de signología de leves a graves, pudiendo ocasionar la muerte en algunos individuos (Adugna, 2016). Las manifestaciones que causa la enfermedad son en su mayoría generales y tienen gran similitud con enfermedades de mayor importancia económica en ganado lechero como lo son: brucelosis, neospora, diarrea viral bovina, clamidiosis, entre otras (Segura-Correa et al., 2010). Debido a que se encuentra dentro del cuadro de enfermedades febriles de etiología desconocida y dentro del abanico de enfermedades reproductivas en ganado bovino, dentro de las cuales la leptospirosis es generalmente subdiagnosticada. A pesar de las pérdidas que causa al productor y las afectaciones a la salud del hato lechero, su prevalencia en animales es mayormente desconocida.

En humanos, el cuadro de la enfermedad es similar, y es fácilmente confundible con hepatopatías o padecimientos renales, ya que la sintomatología varía desde cuadros febriles y mialgias hasta fallas renales, hepáticas e ictericia (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Bautista T. et al., 2019). La Organización Panamericana de la Salud (PAHO), estima que hay más de 500,000 casos de leptospirosis anualmente, a pesar de esta estimación no se conoce la prevalencia

real de la enfermedad debido al sub-diagnóstico o diagnóstico erróneo. Por ende, el diagnóstico, control y manejo de estas enfermedades es de suma importancia por su potencial zoonótico y las afectaciones a la salud humana y animal.

A pesar de ser una enfermedad con incidencia y prevalencia de moderada a alta, actualmente en México, no existen campañas de salud que prevengan o estudien la distribución de la enfermedad. En salud animal existen vacunas para bovino mono y polivalentes que contienen de 5 a 8 serovariedades generales (Zoetis, 2024; Virbac, 2024), independientemente de la región o fin zootécnico del ganado bovino; en humanos existe un proyecto de norma que sustituyo a la Norma Oficial Mexicana (PROY-NOM-029-SSA2) cuando esta se canceló. Por su poco conocimiento y amplia distribución, la leptospirosis puede ser un factor de riesgo dentro del concepto de una sola salud y es materia de Salud Pública y Salud Pública Veterinaria. Por ende, la finalidad de este estudio es reconocer la presencia de *Leptospira spp.*, su comportamiento epidemiológico, distribución y los factores de riesgo relacionados a la seropositividad en establos de bovinos de leche bajo sistema intensivo y semi intensivo en el estado de Durango, México.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 SITUACIÓN ACTUAL

En salud pública, la leptospirosis, es conocida por otros nombres como enfermedad de Weil, enfermedad de los pesqueros, ictericia enzootica, ictericia hemorrágica o fiebre de los siete días, entre otras (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Brightman, 2018). Esta enfermedad está presente en cualquier ambiente contaminado con orina infectada, cuando el humano u animal entran en contacto con estos ambientes, adquieren la infección. Es una enfermedad endémica de áreas tropicales y subtropicales y de áreas con altos índices de precipitación, donde la incidencia anual puede variar desde 10-100 por cada 100,000 habitantes (InDRE, 2018) En países donde la leptospirosis es endémica, aproximadamente el 10% de los ingresos a hospitales se atribuyen a esta enfermedad (Masmela Castillo & Gutiérrez Nieto, 2022).

En México, el primer reporte sobre leptospirosis se realizó durante un brote de fiebre amarilla en humanos en el estado de Mérida, Yucatán en 1920 (Masmela Castillo & Gutierrez Nieto, 2022). Posteriormente en la década de los 90's, se condujeron estudios en donadores de sangre por parte del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE), donde se encontró en el 46% de los pacientes tenían gammaglobulinas en contra de leptospiras patógenas del grupo interrogans (Carrada-Bravo, 2005; Torres-Castro et al., 2016). En el año 2010, la incidencia nacional fue de 0.5-10 casos/10,000 habitantes (Torres-Castro et al., 2016).

Los reportes o estudios en materia de salud pública son más actuales en estados del centro y sur de México; donde prevalecen los climas cálidos tropicales con alto índice de precipitaciones y cuerpos de agua (mar, lagos y ríos) (Gutiérrez-Hernández et al., 2020). En climas áridos o regiones desérticas el número de casos reportados en humanos es mínimo y los que se llegan a reportar son casos foráneos. De acuerdo con diversos estudios, la infección por leptospirosis

representa del 20-40% del síndrome febril de causa desconocida en seres humanos (OMS, 2021; Sandoval-Carrillo et al., 2021) . En personas con “ocupaciones riesgosas”, como lo son los adultos rurales de México, la seroepidemiología de la infección por *Leptospira* es en gran medida desconocida (Alvarado-Esquivel et al., 2015). En el estado de Durango, considerado una región árida/semiárida, se condujo un estudio publicado en el 2021 por parte de (Sandoval-Carrillo et al., 2021), “Infección de *Leptospira* en personas en la ciudad de Durango, México: un estudio transversal”, donde se demostró el 30% de seropositividad con anticuerpos IgG y un 33.2% para anticuerpos IgM en 413 personas. Estudios como estos, demuestran la presencia de la infección en la población, especialmente en aquellos que se dedican a la crianza de animales y a la agricultura, evidenciando la propagación de la enfermedad por medio de animales hospederos.

En materia de salud pecuaria los estudios reportados sobre leptospirosis se han realizado en diversas especies domésticas y silvestres, encontrándose una alta seroprevalencia a distintas serovariedades (González Dardayrol, 2004; Miraglia et al., 2012; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015). Estos estudios se han realizado en bovinos con diferente fin zootécnico como, bovinos productores de carne, bovinos doble propósito o bien muestras de bovinos obtenidas del sacrificio en rastros (Salinas-Meléndez et al., 2007; Carvajal-De La Fuente et al., 2012; Chávez Sánchez, 2019). Específicamente en bovinos productores de leche, la mayoría de los estudios han sido realizados en estados del sur de México, como Hidalgo (Romero R *et al.*, 1998), Estado de México (Ojeda-Carrasco et al., 2016) y Oaxaca (Gutiérrez-Hernández et al., 2020) donde se encuentran las principales cuencas lecheras mismas que presentan condiciones ambientales subtropicales en las cuales la humedad y temperatura podrían resultar óptimas para la presencia, sobrevivencia y circulación de la *Leptospira* spp. (Ellis, 1984). En el Norte de México, las regiones noreste y noroeste, o bien en zonas áridas/semiáridas país son escasos los estudios realizados en bovinos productores de leche; por lo cual es difícil encontrar datos acerca de la epidemiología e impacto económico pecuario de la leptospirosis. En el estado de

Durango y particularmente en la región de la laguna, no existen datos previos de la presencia y circulación de esta bacteria en hatos lecheros a pesar de estar contar con población de bovinos lecheros relativamente muy alta e incluirse en unas de las cuencas lecheras, conocida como La Comarca Lagunera, de mayor producción lechera del País.

A pesar de existir manuales en salud pública (OIE, PAHO, InDRE, un proyecto de Norma Oficial Mexicana [NOM-029-SSA2]), medidas profilácticas, estudios como los antes mencionados y el listado por parte de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) y el gobierno de México donde se enlista a la leptospirosis como enfermedad de reporte obligatorio en animales; no hay campañas de vigilancia en animales o en salud pública veterinaria que reporten el número de casos o prevalencia actuales de leptospirosis en bovinos en México. El saneamiento deficiente y contacto con fuentes de agua contaminadas y animales infectados, favorecen la transmisión de *Leptospira* (Adugna, 2016) entre la población general en las comunidades rurales y animales de México. Hoy en día, se considera a la leptospirosis como un problema de sanidad pública y salud pecuaria, esencialmente por las pérdidas que provoca. Estas patologías se pueden evitar implementando buenas prácticas ganaderas en establos lecheros, dando énfasis en la prevención mediante la inmunización (Masmela Castillo & Gutierréz Nieto, 2022), las cuales raramente se aplican. En los bovinos productores de leche el diagnóstico, control y manejo de estas enfermedades es de suma importancia ya que afecta la producción, pero por su poco conocimiento y amplia distribución, la leptospirosis puede ser un factor de riesgo en la salud del hato.

Este estudio tiene como finalidad determinar las frecuencia, seroprevalencia y factores de riesgo que favorezcan la incidencia de *Leptospira* spp. en hatos de bovinos productores de leche en el estado de Durango. Estos datos pueden contribuir a entender el comportamiento epidemiológico de la enfermedad en zonas semidesérticas y establecer medidas de bioseguridad y profilaxis en la

zona y hatos de estudio que permitan mejorar la salud y producción del hato lechero.

### 3. LEPTOSPIRA

#### 3.1 HISTORIA

El momento clave del descubrimiento de la leptospirosis fue en 1886, cuando Adolf Weil, un profesor de Medicina en la Universidad de Heidelberg, Alemania, describió cuatro casos de un cuadro febril caracterizado por ictericia, anomalías en el sistema nervioso central, hepatoesplenomegalia y funcionamiento renal alterado (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Brightman, 2018). La enfermedad creaba epidemias, especialmente en personas que realizaban trabajos asociados con agua o manejo de animales; por lo que parecía ser de naturaleza infecciosa, sin conocerse la causa todavía. Esto cambió en 1907, cuando científicos japoneses inocularon a un grupo de cobayos con sangre de un paciente fallecido por enfermedad de Weil y encontraron en el hígado de los cobayos, organismos en forma de espiroquetas (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Bautista T. et al., 2019). A estos microorganismos se les llamo *Spirocheta interrogans*, por la semejanza a un signo de interrogación (Figura 1).

A partir del descubrimiento del microorganismo causal de la Enfermedad de Weil, los desarrollos subsecuentes sobre la patogenia y epidemiología permitieron descubrir al portador principal de la enfermedad, la rata (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Brightman, 2018; Organización Mundial de la Salud Animal, 2021).



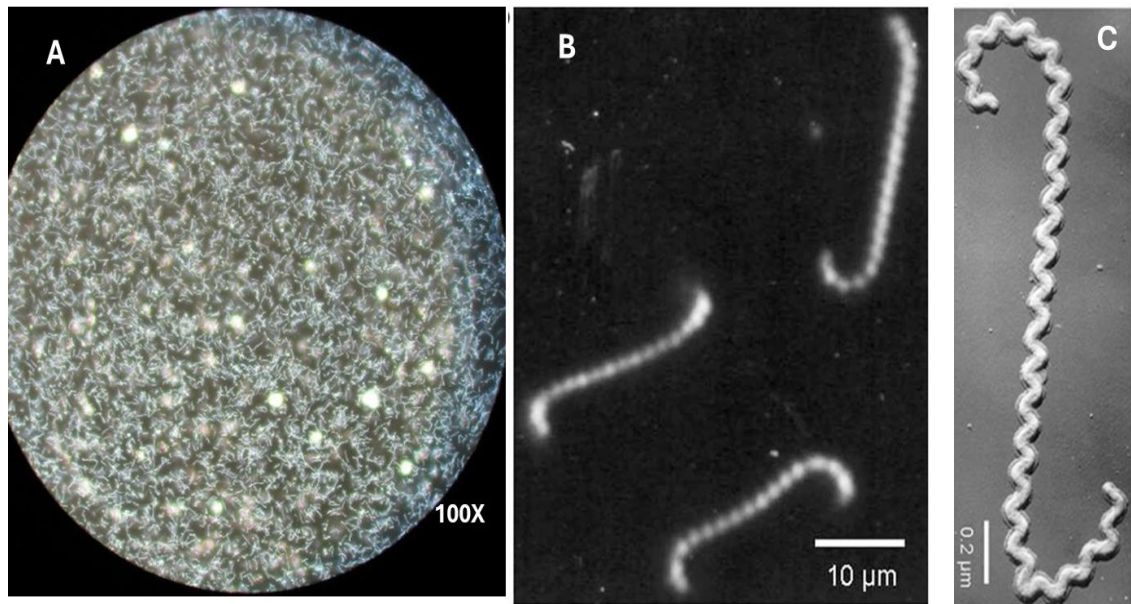


Figura 1. *Leptospira* spp. observada mediante diferentes técnicas de microscopía.

Fuente: A: <https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/> , B y C: (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2010).

### 3.2 AGENTE ETIOLÓGICO Y SUS CARACTERÍSTICAS

La leptospirosis es una enfermedad de origen bacteriano provocada por espiroquetas del género *Leptospira* spp. Son bacterias gram negativas por la doble pared que presentan y por la estructura de sus lipopolisacáridos (LPS) (Ellis, 1984; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Torres-Castro et al., 2016). Su forma es helicoidal y se encuentran enrolladas en dirección a las manecillas del reloj, tienen unos ganchos en ambos extremos que son característicos de las leptospirosis patógenas (Torres-Castro et al., 2016; Bautista T. et al., 2019). Estas bacterias se consideran aerobias estrictas con capacidad de movimiento gracias a un endoflagelo interno que también contiene el antígeno somático, responsable de la inmunidad protectora (Masmela Castillo & Gutiérrez Nieto, 2022), al igual tienen la capacidad de penetrar la barrera de la piel por su tamaño, 0.25 µm de diámetro con una longitud aproximada de 6 - 25µm. La *Leptospira* crece a temperaturas entre 28-30°C en ambientes con pH de 7.2 a 7.6 (casi neutro); estas características las hacen aptas para sobrevivir y desarrollarse en ambientes con

alta humedad, pero no en ambientes desérticos o con sequía (Mohammed et al., 2011).

### 3.2.1 CLASIFICACIÓN

Las espiroquetas son un orden de bacterias divididas en dos familias: Spirochaetaceae y Leptospiraceae; el agente *Leptospira* spp. pertenece a la familia Leptospiraceae (Mohammed et al., 2011). Actualmente existen más de 21 especies de *Leptospira* y 320 serovariedades agrupadas en 20 serogrupos, los cuales se agrupan en 3 grupos 1) patógenas (con potencial zoonótico), 2) intermediarias y 3) saprófitas (encontradas naturalmente en el medio ambiente y no causan enfermedad); siendo *Leptospira interrogans* la especie patógena de mayor importancia en salud pública y pecuaria (Alonso-Andicoberry et al., 2001; Mohammed et al., 2011). La clasificación de los serogrupos y serovariedades se basa en la expresión de los epítomos de sus antígenos lipopolisacáridos (LPS) encontrados en la superficie de la bacteria y se diferencian por sus determinantes antigénicas, comportamiento bioquímico, virulencia, velocidad y capacidad de crecimiento en cultivo, entre otras (Torres-Castro et al., 2016). Entre las más de 250 serovariedades patógenas encontradas, existe una clasificación que contempla las más comunes, aquellas demostradas con mayor impacto pecuario, potencial zoonótico y las más frecuentemente encontradas en los animales domésticos: Tabla 1.

Existen serovariedades que predominan de acuerdo con la región y con cada especie animal, así como el posible cruce de serotipos entre especies animales (Masmela Castillo & Gutiérrez Nieto, 2022) y la coinfección con más de una serovariedad en un animal.

**Tabla 1**

**Reservorios animales domésticos y silvestres de las diferentes serovariedades de *Leptospira*<sup>(\*)</sup>.**

<b>Serovariedad de <i>Leptospira</i></b>	<b>Hospederos comunes</b>
Icterohaemorrhagiae, ballum	Ratas
ballum	Ratones
grippotyphosa, hardjo, pomona	Bovinos
ballum, pomona, tarassovi, bratislava, canicola,	Suinos
ballum, pomona, hardjo, grippotyphosa,	Ovejas y cabras
ballum, pomona, grippotyphosa, tarassovi, paidjan,	Caninos

**(\*) Fuente:** Mohammed et al., (2011) y Torres-Castro et al., (2016).

### **3.3 BIOLOGÍA DE LAS LEPTOSPIRAS**

Como todo organismo, las leptospiras necesitan de ciertas condiciones para poder desarrollarse y sobrevivir, tanto en la naturaleza como en el laboratorio. En la naturaleza, estas bacterias sobreviven en suelos con alta humedad como pantanos, lodo, ríos, arroyos y suelos alcalinos (Adugna, 2016). En el huésped se encuentran en órganos colonizados y tejidos, tanto de animales vivos y muertos y en la leche (Mohammed et al., 2011). El crecimiento y desarrollo de las leptospiras depende de una confluencia de factores básicos y fundamentales, como lo es el pH del suelo, la precipitación pluvial y las temperaturas adecuadas. A pesar de estas condiciones, las leptospiras no pueden reproducirse fuera del huésped. En contraste, las temperaturas elevadas (arriba de 50°C) (Torres-Castro et al., 2016), períodos de sequía, ácidos y desinfectantes básicos como el hipoclorito de sodio al 1% no permiten la supervivencia de la bacteria y son susceptible a la mayoría de los antisépticos y antibióticos comunes.

Bajo condiciones de laboratorio, las leptospiras necesitan estar a temperatura de 28-30°C en conjunto de un ambiente controlado con humedad, a un pH de 7.2 a

8.0 y rico en nutrientes (Organización Mundial de la Salud Animal, 2021). Los medios de cultivo y mantenimiento necesitan estar enriquecidos con vitaminas, ácidos grasos de cadena larga, sales de amonio y suero de conejo al 10% (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; OMSA, 2021). Existen bases para medios de cultivo de *Leptospira* comerciales que permiten el mantenimiento y crecimiento de las bacterias. Estos medios pueden ser sólidos, líquidos o semi sólidos y se encuentran enriquecidos con los nutrientes necesarios requeridos por la bacteria. Los medios más utilizados son los Ellinghausen, McCullough, Johnson y Harris (EMJH); estos medios permiten viabilidad a las leptospiras por semanas en el laboratorio. Mientras que muestras de tierra, estiércol diluido con orina (“slurry”) o fuentes de agua contaminadas con la bacteria también pueden actuar como medio de mantenimiento para encontrar leptospiras vivas, siempre y cuando permanezcan a temperaturas entre 28° - 30°C (Torres-Castro et al., 2016).

### **3.4 EPIDEMIOLOGÍA**

La zoonosis de mayor distribución a nivel mundial es la leptospirosis, afectando a más de 160 especies animales; entre ellas aves, reptiles, anfibios e incluso al ser humano (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Masmela Castillo & Gutiérrez Nieto, 2022; Torres-Castro et al., 2016). Los animales silvestres y domésticos son marcados como los reservorios naturales de la bacteria, sin embargo, los roedores son considerados los reservorios naturales de mayor importancia (Ellis, 1984; Gonzáles Dardayrol, 2004; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015), porque existe un comensalismo entre los roedores y las espiroquetas. La circulación de la serovariedad patógena de *Leptospira* en el ambiente se efectúa cuando los roedores transfieren la bacteria vía vertical a sus crías, eliminando la necesidad de involucrar un hospedero accidental (Mohammed et al., 2011; Torres-Castro et al., 2016). Sin embargo, cualquier animal infectado, persona contagiada o medio de transmisión (agua, tierra o superficie) que contenga la bacteria, actúa como reservorio; o en el caso del hombre como huésped accidental. Dado que las leptospiras se establecen en los túbulos renales de los portadores y se excretan

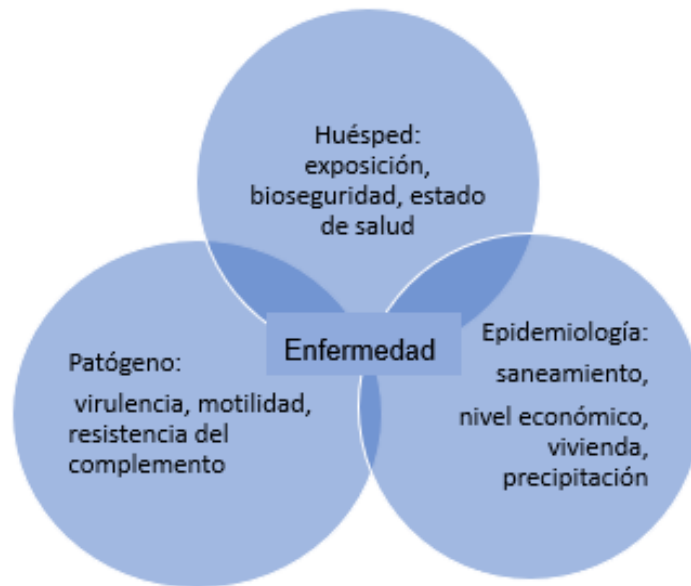
vía orina, el suelo contaminado con la orina puede permanecer infeccioso hasta por 14 días (Johnson & Faine, 1984).

### **3.5 PATOGÉNESIS**

La infección en el hombre ocurre cuando de manera incidental entra en contacto con la bacteria. El medio de transmisión más frecuente es el contacto directo, el cual reside exponiéndose a la orina, sangre, tejidos u órganos de animales infectados (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Brightman, 2018). Usualmente la bacteria ingresa por medio de abrasiones en piel, vía mucosa o por la falta de bioseguridad durante el manejo animal o equipo de protección de acuerdo con la actividad a realizar. La orina de animales infectados es el principal medio de contagio indirecto a través de suelos, agua o vegetación infectada con esta. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son diversas, variando de cuadros asintomáticos a graves, presentándose en ocasiones la forma icterica o enfermedad de Weil (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Brightman, 2018; Bautista T. et al., 2019). El riesgo de infección aumenta en aquellos individuos con “ocupaciones riesgosas”, trabajos de alta exposición como son los veterinarios, productores agropecuarios, agricultores, trabajadores en mataderos/rastros y otros oficios donde existe mayor probabilidad de entrar en contacto con la bacteria. Adler y De la Peña-Moctezuma (2015) describen 3 factores clave y su interacción para la infección del ser humano: huésped, epidemiología y patógeno (Figura 2). Debido a que el hombre es “hospedero accidental”, no existe una especie o serovariedad de *Leptospira* spp. específica para humanos y toda infección se transmite a partir de animales portadores o superficies contaminadas. (Carrada-Bravo, 2005; Organización Mundial de la Salud, 2008).

La patogénesis animal ocurre cuando el microorganismo penetra los tejidos por medio de abrasiones cutáneas, por ingestión de agua o alimento contaminado, por vía mucosa o transmisión vertical (Ellis, 1984; Mohammed et al., 2011). La presentación clínica de la enfermedad tiene un curso bifásico, el período agudo

o leptospirémico puede durar hasta siete días y comienza de 1 a 2 días post infección (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015).



**Figura 1 Factores clave concurrentes para la infección en humanos.**

Fuente: Adler & de la Peña-Moctezuma (2015).

Durante este tiempo se puede lograr aislar la bacteria a partir de muestras sanguíneas, órganos, tejidos o muestras post mortem (InDRE, 2018; Organización Mundial de la Salud Animal, 2021). Las manifestaciones durante el periodo clínico son variables, pudiendo observarse hemoglobinurias, anemia hemolítica, ictericia o debilidad al nacimiento (Adler & de la Peña-Moctezuma 2015; Adugna, 2016), estas manifestaciones se observan principalmente en animales jóvenes. Las septicemias se deben principalmente a serovariedades generadoras de hemolisinas como son *L. pomona* e *L. icterohaemorrhagiae* (Palaniappan et al., 2005). En animales adultos las manifestaciones son en su mayoría reproductivas, entre las cuales se incluyen: intervalo inter-parto prolongado, aumento en el número de servicios por concepción, agalactia, mastitis y los abortos (Herrera, 2001).

Concluido el primer ciclo, el curso de la enfermedad continúa con la fase de leptospiruria; caracterizada por ser asintomática y por la aparición de anticuerpos circulantes en sangre. Durante este tiempo, las leptospiras se alojan en los túbulos renales donde se multiplican para ser diseminadas por la orina al tiempo que se alojan en el sistema reproductivo (Mohammed et al., 2011; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015). Si no existe algún tratamiento, el animal se torna portador de la enfermedad, diseminando la bacteria vía orina, descargas uterinas o abortos (Faine & WHO, 1982; Johnson & Faine, 1984; Organización Mundial de la Salud Animal, 2021). El tiempo de diseminación va de acuerdo con la especie animal y a la serovariedad infectante de *Leptospira*.

### **3.5.1 ABORTOS**

Siendo uno de los principales agentes infecciosos transplacentarios (Barraza et al., 1999), *Leptospira* spp. puede provocar abortos debido a que las leptospiras son capaces de persistir en el tracto reproductivo de los hospederos de mantenimiento. Una vez gestante el animal, la bacteria es capaz de provocar graves lesiones en el placentoma, alterando la función fisiológica de la placenta (Mcgowan & Kirkland, 1995) y resultando en el aborto. La expulsión del producto se observa a partir del segundo tercio de la gestación, cuando el feto es susceptible a los agentes infecciosos y cuando el sistema inmune del producto se encuentra en desarrollo (>120-125 días) (Reggiardo, 2000; Rivera, 2001). Durante este tiempo de desarrollo, el feto es capaz de responder a la estimulación antigénica, activando los procesos inflamatorios y el sistema inmune humoral y celular (Rivera, 2001). El periodo y el número de abortos dependerá de factores como el estado inmunitario de la madre, la virulencia del agente y la carga bacteriana.

### **3.6 DIAGNÓSTICO**

Para confirmar la presencia y evaluar la prevalencia de la enfermedad en la unidad de producción, es importante realizar una investigación epidemiológica exhaustiva y detallada. Esto incluye recabar una historia clínica que contemple

los hallazgos clínicos observados (Herrera, 2001; Ryan et al., 2012; Selim et al., 2024), la temporada (s) en las que se presentó el brote de enfermedad, el estado sanitario general del hato, los ingresos de nuevos animales al predio, si existe contacto con otros animales (fauna silvestre/domestica), la signología predominante, las prácticas de vacunación y detalles reproductivos de los animales, como abortos, retenciones placentarias y nacimientos prematuros (Alonso-Andicoberry et al., 2001; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015). Es crucial descartar las enfermedades con cuadros clínicos similares, patologías del abanico reproductivo, patologías virales y enfermedades hepatorenales. Una vez descartadas otras patologías, sí existe sospecha de leptospirosis, se continúa con el diagnóstico de laboratorio.

Las técnicas de laboratorio para el diagnóstico de leptospirosis se dividen en dos categorías principales: técnicas directas que detectan la presencia de leptospiras, sus antígenos y/o ácidos nucleicos en los tejidos y/o fluidos corporales; y las técnicas indirectas que se basan en la detección de anticuerpos (Alonso-Andicoberry et al., 2001; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Barnabé et al., 2023). Las técnicas directas son útiles para muestras procedentes de fetos, donde la carga bacteriana suele ser alta, y cuando el diagnóstico individual es crucial. En contraste, las técnicas indirectas se emplean con mayor frecuencia, especialmente en muestras de animales adultos y en rebaños con un gran número de animales (Alonso-Andicoberry et al., 2001). Estas técnicas son más sencillas de realizar y tienen un costo menor.

### **3.6.1 TÉCNICAS DIRECTAS**

Son técnicas basadas en el estudio de ácidos nucleicos, las principales son reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y aislamiento en medio de cultivo.

#### **3.6.1.1 PCR**

La técnica de PCR amplifica segmentos específicos del DNA de *Leptospira* para confirmar la infección por medio de la detección e identificación de estos



segmentos en las muestras (Organización Mundial de la Salud, 2008). Los genes más utilizados en PCR son componentes de la membrana bacteriana como el lipopolisacárido (LipL32) y proteínas similares a las inmunoglobulinas (LigA y LigB); que son factores de virulencia específicos de las leptospiras patógenas (Barnabé et al., 2023; Palaniappan et al., 2005).

Una ventaja importante de la PCR es la confirmación rápida de la enfermedad durante la fase aguda de la enfermedad (Picardeau, 2013), antes de la aparición de anticuerpos a niveles detectables. Sin embargo, existen desventajas asociadas con el uso del PCR. Estas incluyen la necesidad de contar con equipos especializados y costosos, así como personal capacitado para llevar a cabo la técnica. También se pueden presentar falsos positivos debido a problemas del mal manejo y contaminación de las muestras y del área de trabajo. Además, la PCR solo confirma la presencia de la enfermedad, pero no identifica la serovariedad específica involucrada (Organización Mundial de la Salud, 2008). Debido a estas limitaciones, la PCR no es una prueba ampliamente usada para el diagnóstico de *Leptospira* spp.

### **3.6.1.2 CULTIVO**

El cultivo bacteriano consiste en aislar las bacterias a partir de muestras de orina, en medios de cultivo. Este método no es un diagnóstico rápido debido a que depende de un proceso de crecimiento de las bacterias, que puede tardar hasta 6 semanas (Alonso-Andicoberry et al., 2001). Para esta técnica, se utilizan medios de cultivo selectivos que contienen los nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento bacteriano de *Leptospira*. Las muestras se siembran en estos medios y se observa el crecimiento mediante microscopio de campo oscuro, por lo menos una vez por semana.

Una ventaja importante del cultivo es la capacidad de tipificar los aislados para identificar las serovariedades locales circulantes, además proporciona información retrospectiva sobre el estado de salud de la unidad de producción (Organización Mundial de la Salud Animal, 2021). Sin embargo, como

inconvenientes se incluyen el largo tiempo necesario para el crecimiento bacteriano; y aunque el cultivo tiene una especificidad del 100%, su sensibilidad es bastante baja (Adler & De la Peña-Moctezuma, 2012), lo que limita su utilidad como método viable para la detección en fase temprana de la infección.

### **3.6.1.3 TIPIFICACIÓN O CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA**

La caracterización serológica de los aislados de *Leptospira*, se lleva a cabo mediante la identificación de las serovariedades presentes en la orina. Los aislados se confrontan con sueros que contienen anticuerpos específicos contra diversas serovariedades del panel de antígenos (Organización Mundial de la Salud, 2008). El procedimiento se realiza de acuerdo a los lineamientos del MAT.

### **3.6.2 TÉCNICAS INDIRECTAS**

Son los métodos de diagnóstico más frecuentemente empleados para el diagnóstico de leptospirosis, siendo la serología la técnica más utilizada (Organización Mundial de la Salud, 2008; Romero-Vivas & Falconar, 2016). La técnica de microaglutinación en placa (MAT) se basa en la detección de anticuerpos y puede confirmar la infección una vez pasado el periodo agudo de la enfermedad (Organización Mundial de la Salud, 2008; Picardeau, 2013). En conjunto con la serología, se debe tomar en cuenta la expresión clínica de la enfermedad en los animales y los datos epidemiológicos del historial clínico (César, 2019) para dar un resultado concreto y certero sobre la confirmación de la enfermedad.

#### **3.6.2.1 TÉCNICA DE MICROAGLUTINACIÓN EN PLACA (MAT)**

Es la prueba de oro de acuerdo con la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) (2013) para el diagnóstico de la leptospirosis. El MAT es fundamentado en la aglutinación ocurrida entre la bacteria y los anticuerpos desarrollados durante la respuesta humoral específica (IgG e IgM). La aparición de IgM es más temprana debido a que es una de las primeras respondientes ante la infección general, mientras que la IgG, es específica contra el microorganismo invasor y

responsable de la inmunidad, esta se produce después (Ramírez-García et al., 2019). Las inmunoglobulinas presentes en el suero actúan atrayendo a las leptospiras haciendo que se unan entre ellas, aglutinándose en forma de grumos. Ambos anticuerpos se consideran marcadores de la enfermedad, sin embargo, la vacunación también es capaz de producir estas inmunoglobulinas (Cuba-Romero et al., 2016); por lo tanto, es importante conocer la historia clínica de los animales.

El MAT es una prueba estándar pero no estandarizada, ya que es necesario contar con paneles de *Leptospiras* vivas correspondientes a las diferentes serovariedades circulantes localmente (Organización Mundial de la Salud, 2008). Se debe de contar con al menos 9 serovariedades, entre ellas las de mayor prevalencia y circulación en la región, de no ser así, los anticuerpos de las serovariedades ausentes en el panel no podrán ser detectadas, lo que conlleva a falsos positivos.

La superioridad del MAT en contraste con los otros métodos de diagnóstico incluye su bajo costo, es una prueba de rebaño por lo que se puede realizar cuando hay una gran cantidad de animales y no es necesario un diagnóstico individual, además de tener una especificidad de alrededor del 95% (Niloofa et al., 2015; Vijayachari et al., 2001). Esta técnica permite identificar las diferentes serovariedades presentes, incluso endémicas en una región. Sin embargo, es necesario el uso y mantenimiento de bacterias vivas, lo que conlleva un riesgo para la salud de quien realiza la prueba. La interpretación de los resultados dependerá del área bajo estudio (si la enfermedad es endémica o raramente se presenta o desconoce la situación epidemiológica), la historia clínica, el título de anticuerpos, y el criterio de la persona haciendo la lectura. El punto de corte en un área donde se desconoce la prevalencia de la enfermedad y no existe un calendario de vacunación, un título bajo (1:100) se considera positivo; sin embargo, existen trabajos que aceptan títulos a partir de 1:200, 1:400 o 1:800 en áreas endémicas (Organización Mundial de la Salud, 2008; Romero-Vivas & Falconar, 2016).

### **3.7 TRATAMIENTO**

El tratamiento de elección en los animales son los antibióticos como las penicilinas y tetraciclinas, la combinación de ambas o la aplicación de uno solo resulta más eficaz si se administra en la primera fase de la infección (Carrada-Bravo, 2005). Si se trata de una infección a nivel de hato o tormenta de abortos, el tratamiento con antibióticos puede combinarse con la aplicación de la vacuna para contrarrestar las pérdidas. La terapia conjunta funciona también en infecciones crónicas o en caso de una tormenta de abortos

### **3.8 CONTROL Y PREVENCIÓN**

En los sistemas de ganado lechero existen factores que contribuyen a la diseminación y mantenimiento de la bacteria en los rebaños. Una parte fundamental de la prevención es controlar estos factores de riesgo. Las buenas prácticas pecuarias y la implementación de buenas prácticas de higiene en las unidades de producción ayudan a evitar el contagio y la diseminación de la bacteria en los bovinos (Masmela Castillo & Gutiérrez Nieto, 2022). Otra opción viable es la vacunación, la cual se implementa en aras de controlar la infección. Actualmente, existen vacunas comerciales en combinación con otros antígenos o bien bacterinas específicas para *Leptospira* solamente. Estas bacterinas pueden ser mono o polivalentes, las cuales cuentan con 1 a 8 antígenos de *Leptospira* (Virbac, 2024; Zoetis, 2024), entre estas serovares se encuentran las más comunes encontradas en rumiantes como hardjo bovis, hardjoprjaitno bratislava, canicola, pomona, icterhaemorrhagiae, gryppothyphosa, tarassovi y Wolffi. El número de serovares, la duración de la inmunidad y frecuencia de revacunación dependerá de las indicaciones del laboratorio productor. El calendario de vacunación dependerá de la prevalencia de la enfermedad en la región o en el hato, el tipo de sistema de producción y del objetivo que se tenga (prevención, tratamiento o erradicación) (César, 2019).

### **3.9 FACTORES DE RIESGO**

Los factores de riesgo son aquellas características detectables en el animal o unidades de producción asociadas con la probabilidad de exponer, diseminar o mantener un proceso de enfermedad (Fávero et al., 2017). Estos factores dependerán del tipo de explotación y del manejo sanitario de la unidad de producción, así como del higiene y salud del personal, ya que la leptospirosis es una enfermedad ocupacional. Dentro de los factores de riesgo encontrados en rebaños bovinos productores de leche se incluyen: el tamaño del hato, el sistema de producción (intensivo, semi-intensivo), el pastoreo con otro tipo de ganado como ovejas o cabras, el acceso a fuentes de agua contaminada, las prácticas de reproducción implementadas (inseminación artificial o uso de un toro) (Ryan et al., 2012), las malas prácticas de higiene en la unidad de producción (corrales, comederos, bebederos), la presencia de fauna silvestre o doméstica, la compra o ingreso de animales infectados, la elevada densidad animal en corrales, la infraestructura que facilite la acumulación de excreta y la ineficiencia en la prácticas de vacunación y uso de antibióticos) (Zuluaga León, 2009; Fávero et al., 2017).

## **4. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN**

Todo sistema de producción láctea tiene como finalidad el ingreso monetario derivado de la producción y venta de leche. Para alcanzar este objetivo, existen dos tipos de sistemas de producción implementados en México para ganado lechero. Estos sistemas dependen del tipo de explotación (grande/baja escala), ubicación (región/zona) y/o de las posibilidades del productor. El ganado bovino con fines de producción láctea puede mantenerse bajo sistemas de estabulación total (intensivo) o con una combinación entre pastoreo y estabulación (semi-intensivo) (SENASICA, 2011).

#### 4.1 SISTEMA INTENSIVO

Es también llamado sistema de estabulación permanente y es caracterizado por mantener a los bovinos delimitados en corrales toda su vida productiva, donde dependen totalmente del ser humano para satisfacer sus necesidades básicas (alimento, agua y refugio); así como su salud y bienestar (OMSA, 2023). El diseño de estas unidades de producción y el tipo de instalación dependerán del entorno, las condiciones climáticas, el nivel de bioseguridad y nivel de tecnificación implementado en la ordeña y en el manejo de los animales. Este tipo de sistema es frecuente en cuencas lecheras con producción a grande escala.



Figura a



Figura b

**Figura 2 Sistema intensivo a) Bovinos en ordeña automatizada con capacidad de 30 a 40 bovinos por ronda  
b) Bovinos bajo estabulación permanente**

#### 4.2 SISTEMA SEMI-INTENSIVO

También llamado sistema mixto, se caracteriza por manejar a los animales entre tiempos de pradera y confinación. Los animales no dependen enteramente del hombre para sus necesidades básicas, pero si para su manejo productivo

(OMSA, 2023). Estos sistemas son frecuentes cuando la producción es de tipo familiar y es a baja escala.



**Figura 3 Perspectiva del sistema semi intensivo en los establos lecheros bajo estudio.**

- A) Bovinos con comedero de madera y en contacto cercano con miembros de la familia.
- B) Becerros en corrales en convivio con otras especies animales.

## **5. BACTERINAS ANTI *LEPTOSPIRA***

Las bacterinas contra *Leptospira* son soluciones inactivas que pueden contener una, cinco u ocho serovariedades. Estas pueden presentarse como bacterinas que solo incluyen antígenos de *Leptospira*, o bien como vacunas recombinantes que también incorporan antígenos de enfermedades virales como IBR y DVB, entre otras. Las vacunas disponibles en el mercado están formuladas para prevenir y/o controlar la leptospirosis bovina (Virbac, 2024; Zoetis, 2024), e incluso para detener la colonización de *Leptospira* en los riñones y su eliminación a través de la orina durante un período de hasta 12 meses (Zoetis, 2024). Dado que las *Leptospira* son bacterias invasoras sistémicas, la protección se logra principalmente mediante la producción de anticuerpos inducidos por la vacunación, los cuales pueden ser medidos (Clerc et al., 2003). De acuerdo a estos autores y los laboratorios fabricantes, se encuentran anticuerpos vacunales

contra las serovariedades incluidas en las bacterinas en los bovinos inmunizados, con títulos elevados como resultado de la vacunación (Stringfellow et al., 1983).

**Tabla 2 Serovariedades de la bacterina comercial\* aplicada en los bovinos de estudio manejados bajo sistema intensivo.**

<b>Especie</b>	<b>Serovar</b>	<b>Cepa</b>	<b>Concentración de antígeno por dosis</b>
<i>L. interrogans</i>	canicola	C-51	$\geq 10^7$
	gryppotyphosa	MAL 1540	$\geq 10^7$
	icterhaemorrhagiae	NADL (11403)	$\geq 10^7$
	pomona	T262	$\geq 10^7$
	hardjo-prajitno	WHO	$\geq 10^7$

\* Leptoferm-5® , <https://www.zoetis.mx/products/bovinos/leptoferm-5.aspx>

## **6. SALUD PÚBLICA VETERINARIA**

Los Servicios Veterinarios constituyen una parte del enfoque global “Una sola salud”, que abarca distintas áreas relacionadas directa o indirectamente con la producción animal y sus derivados productos/subproductos; con el objetivo de contribuir y mejorar el bienestar físico, mental y social del ser humano (Organización Mundial de la Sanidad Animal, 2023). La salud pública veterinaria (SPV) tiene como función y objetivo prevenir, mitigar y controlar los riesgos hacia la salud pública humana desde su origen o fuente de infección. La SPV contribuye en especial en el área de control de zoonosis, siendo la prevención y erradicación los objetivos principales.



La leptospirosis es una zoonosis que tiene incidencias desconocidas en animales como en humanos. Actualmente, existe una mayor concientización hacia las enfermedades zoonóticas, sus riesgos y las pérdidas económicas que conllevan en salud animal y en salud pública; a pesar de esto sigue habiendo desconocimiento de esta enfermedad. Es importante la aplicación y divulgación de la SPV para que existan medidas de bioseguridad y profilaxis adecuadas. El conocimiento de la leptospirosis, sus causas y signos, ayudarán a conocer la prevalencia real en el ganado y la región, así como concientizar a las personas sobre la prevención y propagación de la bacteria. Esto con el fin de preservar la integridad de las relaciones animal-humano para beneficio de la salud de ambas partes.

## 7. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La situación epidemiológica y los factores de riesgo que favorecen la presencia y circulación de *Leptospira spp* en las poblaciones de bovinos productores de leche bajo diferentes sistemas de producción en Durango, México, aún no se conocen completamente. La falta de datos o cifras actualizadas sobre los efectos de estas bacterias zoonóticas, que tienen graves implicaciones en la producción lechera, justifica la realización de estudios para determinar la frecuencia, seroprevalencia y factores de riesgo que influyen en la incidencia de *Leptospira spp* en sistemas de producción intensivos y semi intensivos. La recopilación de estos datos puede contribuir significativamente a comprender el comportamiento epidemiológico y la distribución de la enfermedad de acuerdo el manejo y el sistema de producción en áreas semidesérticas. Sobre estas bases de información, se podrían establecer las medidas de seguridad y profilaxis pertinentes en la región y hatos de estudio; teniendo como objetivo mejorar la salud y producción del hato lechero.

El estudio actual se enfocó en estudiar a bovinos productores de leche gestionados bajo dos sistemas de producción, con especial énfasis en la circulación y prevalencia de *Leptospira* en regiones semiáridas. Por un lado, se buscó establecer un precedente sobre la presencia de *Leptospira* en hatos lecheros del estado de Durango y, por otro lado, evidenciar los factores de riesgo y las condiciones que favorecen su circulación. Este análisis epidemiológico se llevó a cabo con el fin de proporcionar una base para la mitigación y control de esta enfermedad.

## 8. HIPÓTESIS

La frecuencia serológica y los factores de riesgo asociados a la seropositividad hacia *Leptospira* spp son diferentes en unidades de producción de bovinos lecheros alojados en el área semidesértica del estado de Durango , México.

## 9. OBJETIVOS

### 9.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar los factores de riesgo asociados a la frecuencia serológica de leptospirosis en dos sistemas de producción lechera bovina mediante pruebas serológicas y epidemiológicas para identificar la presencia de diez serovariedades de *Leptospira* spp. en los hatos de estudio y la región.

### 9.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar la frecuencia serológica contra *Leptospira* spp. en bovinos productores de leche entre los sistemas de producción
2. Determinar los factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de *Leptospira* spp.
3. Aislamiento y caracterización serológica de *Leptospira* spp. a partir de orina de bovinos de leche bajo sistemas intensivos y semi intensivos

## **10. MATERIALES Y MÉTODOS**

La investigación se llevó a cabo como un estudio prospectivo, transversal y de oportunidad. La selección de los hatos y municipios analizados se realizó en colaboración de los propietarios, considerando además el tipo de sistema de producción predominante en cada municipio.

### **10.1 LUGAR DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS**

Todas las muestras se transportaron en refrigeración al laboratorio de virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León donde se analizaron y procesaron.

### **10.2 ÁREA Y TIEMPO DE MUESTREO**

El presente estudio se realizó en hatos bovinos lecheros manejados bajo sistemas intensivos y semi intensivos en diferentes municipios del estado de Durango, ubicado en el Noreste de México. Las coordenadas geográficas del estado son al norte 26°50' 42", al sur 22°20' 42" de latitud norte; al este 102°28' 22", al oeste 107° 12' 37" de longitud oeste (INEGI, 2021). Los municipios seleccionados para la toma de muestra fueron Gómez Palacio, Nuevo Ideal, Peñón Blanco, Santiago Papasquiaro y Victoria de Durango (Figura 3), los cuales se encuentran distribuidos al oeste, centro-sur y este del estado. El muestreo se llevó a cabo durante los meses de diciembre 2022 a enero 2024.

### **10.3 TAMAÑO DE MUESTRA**

Debido que no se encontró un padrón ganadero que especifique el número de UPP's (unidades de producción pecuaria) intensivas y semi intensivas en el estado, el tamaño mínimo de muestra (n) se calculó con la ayuda del programa computacional WinEpi versión 2.0 (de Blas et al., 2006) y mediante la fórmula de estimación de proporciones (Jaramillo Arango & Martínez Maya, 2010); dando un tamaño mínimo de muestra de 384.



**Figura 4 Estado de Durango con los municipios seleccionados para el muestreo epidemiológico. Al oeste Santiago Papasquiaro, al Centro Nuevo Ideal, Centro-Sur Victoria de Durango, al Este Peñón Blanco y al Noreste Gómez Palacio.**

Puesto que no hay estudios o reportes previos de leptospirosis en el estado, se consideraron valores de referencia para prevalencia esperada (0.50), nivel de confianza (1.96) y error estimado o precisión. La fórmula para estimar el tamaño mínimo de muestra fue:

$$n = (z^2 \cdot p \cdot q) / d^2$$

Donde: z = nivel de confianza 95%

p = prevalencia 50%

$q = 1-p$

$d = \text{error estimado } 5\%$

Sin embargo, el número total de muestras fue de 445, las cuales se distribuyen en 157 muestras semi intensivas y 298 muestras intensivas. El muestreo se realizó en dos etapas, seleccionándose primero los hatos y posteriormente los animales aleatoriamente dentro de cada rebaño, considerándose arbitrariamente, un efecto de diseño de 2 (Segura y Honhold, 2000). De las reacciones positivas en la prueba de MAT de cada animal y hato se estimó la seroprevalencia calculada a Leptospirosis de forma general y por serovariedad mediante el programa estadístico WinEpi® versión 2.0 (de Blas et al., 2006).

Para la estimación de los factores de riesgo, se recabó la información de cada encuesta aplicada en las unidades de producción visitadas. La encuesta se enfocó en el manejo general del hato, sistema de producción, medidas de bioseguridad, calendario y práctica de vacunación, problemas reproductivos, así como el estado de salud general e individual del hato. (Anexo 1)

#### **10.4 TIPO DE MUESTRAS COLECTADAS**

Se recolectaron un total de 445 muestras de sangre por medio de venopunción de la vena coccígea de los bovinos examinados, utilizando tubos al vacío sin EDTA (Vacutainer® Becton Dickinson, USA) (Ilustración 4). Cada muestra obtenida fue registrada con datos del animal, número de identificación de acuerdo con el Sistema Nacional de Identificación Individual de Ganado (SINIIGA), nombre y ubicación del predio. Además, se tomaron 16 muestras de orina al azar de algunos animales para su aislamiento y caracterización serológica.

Las muestras sanguíneas se centrifugaron a 3000 rpm/ 5 minutos para la obtención del suero. Posteriormente el suero fue transferido a tubos para microcentrífuga etiquetados con la identificación de cada animal y se almacenaron en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso (Ilustración 5).



Figura A



Figura B

**Figura 5 Toma de muestras. A) Toma de muestras sanguíneas por medio de “vacutainer” de la vena coccígea. b) Toma de muestra de orina en contenedor estéril por medio de masaje de estimulación en la zona entre la vulva y ubre.**

Por otro lado, las muestras de orina fueron sembradas en medio de cultivo preparado de acuerdo con las especificaciones del fabricante y se incubaron a 29°C en una incubadora E41 Riossa® para su crecimiento. Se empleó la prueba diagnóstica MAT tamiz para establecer la frecuencia serológica de *Leptospira* spp en los bovinos productores de leche. El MAT detecta anticuerpos específicos contra serovar/serogrupo en comparación con las pruebas actualmente disponibles para *Leptospira* (OMSA, 2021). Además, el MAT se considera el estudio de referencia para el diagnóstico de *Leptospira* a nivel de hato (OMS., 2008, 2021).

Para el cultivo de muestras orina, se utilizó el medio de cultivo EMJH líquido para el aislamiento de las bacterias. Tanto las pruebas serológicas como las de orina, se realizaron de acuerdo al protocolo y lineamientos establecidos por Goris y Hartskeerl (2014) (y por la OMS (2008).



Figura A

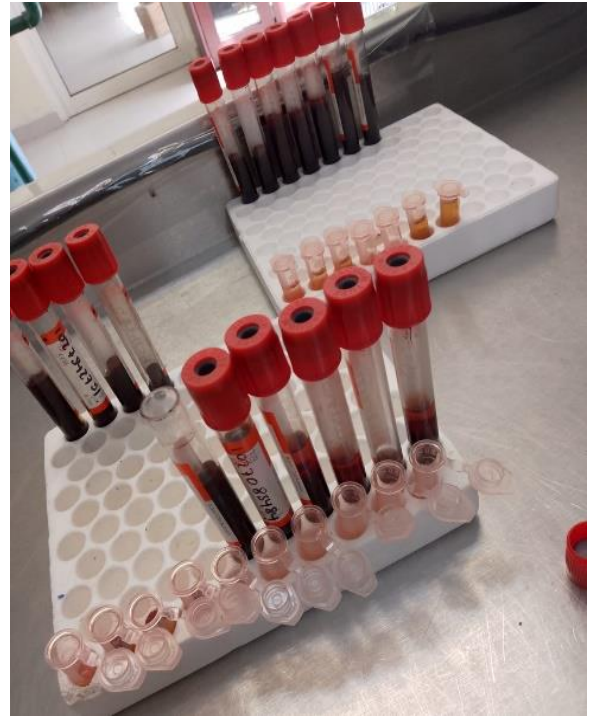


Figura B

**Figura 6 Muestras sanguíneas.** A) Transferencia de suero a tubo de microcentrífuga por medio de micropipeta. B) Tubos de microcentrífuga rotulados con la misma información que los tubos “vacutainer” conteniendo el suero, previo a ser centrifugados.

### 10.5 CRITERIO DEL ESTUDIO SEROLÓGICO

El MAT se llevó a cabo utilizando un panel de diez serovares pertenecientes a nueve serogrupos diferentes y tres especies distintas de *Leptospira*. Estas serovares han sido empleadas en estudios anteriores ya que son comúnmente encontradas en bovinos (Tabla 3).

### 10.6 CUANTIFICACIÓN DE ANTÍGENO

Para calcular la cantidad de antígeno necesaria, se aplicó la siguiente fórmula (Chávez Sánchez, 2019):

$$N * 50 \mu\text{l} * \text{pozos a utilizar} = \text{Cantidad en } \mu\text{l} \text{ de antígeno a utilizar}$$

Dónde: N = número de muestras a procesar; 50  $\mu\text{l}$  cantidad de antígeno por pozo



Todo manejo del antígeno se trabajó en una cámara de bioseguridad nivel II CSB 120 PRENDO®.

**Tabla 3 Panel de antígenos de Leptospiras empleados**

<b>Especie</b>	<b>Serovariedad</b>	<b>Serogrupo</b>	<b>Cepa</b>
<b><i>L. interrogans</i></b>	Bratislava	Australis	Jes-Bratislava
	Canicola	Canicola	Hond Utrech IV
	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
	Pomona	Pomona	Pomona
	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
	Hardjo	Sejroe	Hardjoprajitno
	Wolfii	Sejroe	3707
<b><i>L. kirschneri</i></b>	Gryppotyphosa	Gryppotyphosa	Moska V
<b><i>L. borgspetersenii</i></b>	Tarassovi	Sejroe	Peripelitsin
	Hardjo	Sejroe	Hardjobovis

### **10.7 MAT TAMIZ**

Para la ejecución del MAT, se realizó una dilución inicial de 1:25 suero/solución tamponada de fosfato (PBS). Posteriormente, en una placa de 96 pocillos fondo plano, se dispensaron 50 µl de PBS + 50 µl de la dilución inicial, obteniendo una dilución de 1:50. Adicionalmente, en una cámara de bioseguridad nivel II CSB

120 PRENDO®, se colocó 50 µl de antígeno por cada serovariedad en los pocillos a utilizar (esto depende de las serovares a utilizar, ejemplo 10 serovares = 10 pocillos por animal), para obtener una dilución final de 1:100. Se cubrió la microplaca con una tapa para placa de micro titulación y se dejó incubar a 29°C en una incubadora E41 Riossa® por 2 horas. Para la lectura, se transfirió una gota de cada pocillo por medio de una micropipeta de 20-200 µl Bio/Pet® a un portaobjetos limpio y se observó por microscopia de campo oscuro utilizando un microscopio óptico Axioskop 40 ZEISS® con resolución de 10X. En la lectura de las muestras se inspeccionó la aglutinación presente en cada gota. Se tomó como punto de corte un 50% de aglutinación de acuerdo al tamaño de la gota para considerarse positiva (OMS, 2008)(Ilustración 6).

### **10.8 MAT CUANTITATIVA**

A cada muestra positiva a MAT tamiz se le realizó la prueba de MAT cuantitativa. Esta técnica se llevó a cabo realizando una serie de diluciones doble seriadas a partir de la dilución inicial para determinar el título de los anticuerpos para cada una de las serovariedades (antígenos) positivas.

Se realizó en una microplaca de 96 pocillos de fondo plano, colocando 50 µl de la dilución inicial de 1:25 suero/ (PBS) en la fila A columna dos. Posteriormente en las columnas 1, 2, 3, 4 y 5 se colocaron 50 µl PBS, añadiendo 50 µl de dilución inicial en la columna dos para homogenizar de 3 a 5 veces entre columnas;



Figura A

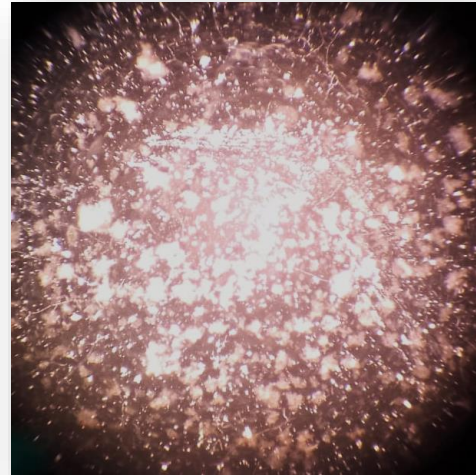


Figura B

**Figura 7 A) Muestra negativa a MAT con más del 50% de leptospiras libres. B) Muestra positiva a MAT con más del 50% de aglutinación.**

obteniendo 50  $\mu$ l de cada columna y desechando los últimos 50  $\mu$ l de la columna cuatro Finalmente se añadieron 50  $\mu$ l de antígeno en cada pocillo (muestra control y muestras de suero). De esta forma resultaron las siguientes diluciones: Columna dos 1:100, columna tres 1:200, columna cuatro 1:400, columna cinco 1:800 (Tabla 4). Como control positivo se tomó una muestra previamente clasificada positiva y caracterizada por un laboratorio acreditado y se le dio el mismo manejo que las muestras procesadas.

Para la interpretación se consideró el mismo punto de corte que para MAT tamiz; donde de acuerdo con la dilución, un 50% o más de aglutinación se consideró positivo al título.

**Tabla 4 Diagrama de interpretación para MAT cuantitativa**

	<b>Columna 1</b>	<b>Columna 2</b>	<b>Columna 3</b>	<b>Columna 3</b>	<b>Columna 4</b>	<b>Columna 5</b>
	Muestra control negativo	Dilución final 1/100	Dilución final 1/200	Dilución final 1/400	Dilución final 1/800	Muestra control positivo
<b>Fila A</b> Suero 1	PBS + Ag	Suero 1 + PBS + Ag	Suero 1 + PBS + Ag	Suero 1 + PBS + Ag	Suero 1 + PBS + Ag	Suero Positivo + PBS
<b>Fila B</b> Suero 2	PBS + AG	Suero 2 1/100 + Ag	Suero 2 1/200 + Ag	Suero 2 1/400 + Ag	Suero 2 1/800 + Ag	Suero Positivo + PBS
<b>Fila C</b> Suero 3	PBS + Ag	Suero 3 1/100 + Ag	Suero 3 1/200 + Ag	Suero 3 1/400 + Ag	Suero 3 1/800 + Ag	Suero Positivo + PBS
<b>Fila D</b> Suero 4	PBS+ Ag	Suero 4 1/50 + Ag	Suero 4 1/100 + Ag	Suero 4 1/200 + Ag	Suero 4 1/400 + Ag	Suero Positivo + PBS
<b>Fila E</b> Suero x	PBS + Ag	Suero x 1/50 + Ag	Suero x 1/100 + Ag	Suero x 1/200 + Ag	Suero x 1/400 + Ag	Suero Positivo + PBS

## **10.9 AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN**

De cada muestra de orina colectada, se tomó 1 ml y se inoculó en un tubo con 9 ml de medio de cultivo líquido para *Leptospira* (Faine & WHO, 1982) EMJH previamente preparado y esterilizado de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Posteriormente, los tubos con medio de cultivo y orina fueron incubados a 29°C en una incubadora E41 Riossa®. El crecimiento se observó por medio de microscopía de campo oscuro a una resolución de 10X una vez por semana durante 16 semanas. Se catalogaron como positivas aquellas muestras de orina que revelaron crecimiento y características de motilidad propias de la bacteria *Leptospira* spp. Una vez catalogadas como positivas, estas muestras se filtraron utilizando un filtro para jeringa de 15 mm, .02 µm (Corning Inc.™) para eliminar la posible contaminación existente. Una vez filtradas, las dos muestras de orina se resembraron nuevamente en medio de cultivo estéril para su caracterización serológica. Pasados siete días, se observó crecimiento bacteriano con la suficiente carga para realizar la caracterización serológica.

El procedimiento para la caracterización se realizó de acuerdo a los lineamientos por Faine (1982), implementado sueros previamente caracterizados por trabajos anteriores (Chávez Sánchez, 2019) representativos de 10 serovares (Tabla 3). Se observó por medio de un microscopio de campo oscuro, a una resolución de 10X, la reacción aglutinante entre las muestras previamente aisladas y los anticuerpos policlonales.

## **10.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS**

La variable de este estudio fue la presencia o ausencia de *Leptospira* en bovinos productores de leche bajo sistema intensivo y semi extensivo. Debido a que no existe información previa referente a la presencia o seroprevalencia en contra de *Leptospira* en sistemas de producción de bovinos productores de leche en Durango, México, la prevalencia serológica se calculó de acuerdo a la fórmula:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Animales Positivos}}{\text{Total de Animales Analizados}} \times 100$$

El grado de asociación entre la seroprevalencia con los individuos y el tipo de sistema de producción se determinó mediante el análisis estadístico de Chi-cuadrada ( $\chi^2$ ). Esta prueba denota que si el valor calculado P fue mayor a 0.05 ( $P > 0.05$ ), las variables son independientes o bien, no existe asociación entre ellas. Por lo contrario, si el valor calculado P es menor a 0.05 ( $P < 0.05$ ), nos indica una dependencia o asociación entre las variables de estudio. Adicionalmente, se recabó la información de las encuestas aplicadas a los productores para reconocer los posibles factores de riesgo, a los cuales se les calculó el odds ratio, determinando de esta forma la relación entre los factores de riesgo con la presencia o ausencia de la enfermedad. La interpretación para el odds ratio toma valores en base a 1; si el  $OR < 1$  indica una asociación protectora, lo que significa que es poco probable que ocurra el evento. Si el  $OR = 1$ , significa que no existe relación entre el factor de riesgo y la presencia de la enfermedad; y si el  $OR > 1$  indica la asociación positiva entre las variables, por lo tanto, asociación entre la presencia de la enfermedad y el factor de riesgo. El análisis estadístico se realizó mediante el programa computacional WinEpi® (de Blas et al., 2006).

Posteriormente se concluyó con un análisis multivariado, que comprendió de aquellos factores de riesgo destacados en la prueba de  $\chi^2$ , tales como la presencia de la enfermedad en los individuos, el tipo de sistema de producción, fauna silvestre o doméstica presente, manejo sanitario del hato, medidas de bioseguridad, presencia de un médico veterinario y problemas reproductivos. Se calculó los odds ratio ajustados por medio de un análisis de regresión logística utilizando el programa SPSS.

## 11. RESULTADOS

El presente estudio epidemiológico se realizó bajo supervisión y consentimiento de los comités de Bioética y Bienestar Animal y Bioseguridad e Higiene de la Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y se encuentra avalado por los números de folio 059/2022, Dictamen 068/2022 e ID CSBH 079.

Se evaluaron 28 unidades de producción pertenecientes a dos sistemas distintos, caracterizados por condiciones ambientales, de manejo y económicas diferentes entre ellos, pero similares dentro de las unidades de producción de cada sistema en particular. Estas diferencias estuvieron determinadas por el tipo de producción, a gran escala (hatos intensivos) o a menor escala (hatos semi intensivos), según el sistema predominante en cada municipio. Durante el estudio se llevaron a cabo análisis serológicos, se investigaron asociaciones con factores de riesgo y se realizaron aislamientos a partir de muestras de orina.

### 11.1 TAMAÑO DE MUESTRA

La recolección de muestras se realizó en cinco municipios del estado de Durango donde se encuentran hatos de bovinos productores de leche manejados bajo sistemas de producción intensiva y semi intensiva. Pese a que la distribución de las UPP's no es uniforme en el estado, las muestras serológicas se obtuvieron de las unidades de producción ubicadas en los siguientes municipios: Tabla 5. En total se obtuvieron 445 muestras de 28 unidades de producción, lo que resultó en el cumplimiento del tamaño mínimo de muestra (n).

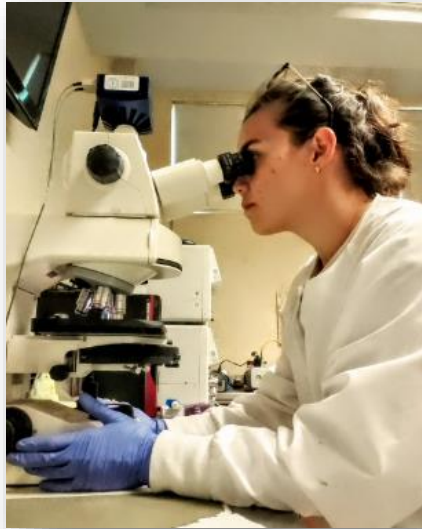
Debido a que fue un estudio prospectivo, transversal y de oportunidad el número de muestras y unidades de producción fue variado de acuerdo con los municipios, el número de muestra tomado de cada UPP y a los recursos disponibles. Aproximadamente se tomaron de 5 a 10 muestras de aquellos hatos con menos de 100 animales y 20 a 25 muestras para aquellos mayores de 100 animales.

**Tabla 5 Número de UPP's y muestras provenientes de esos municipios y el sistema al que pertenecen.**

<b>Municipio</b>	Gómez Palacio	Nuevo Ideal	Peñón Blanco	Santiago Papasquiario	Victoria de Durango
<b>UPP's</b>	12	6	3	6	1
<b>N° de muestras</b>	288	64	25	58	10
<b>Tipo de sistema</b>	Intensivo	Semi- Intensivo	Semi- Intensivo	Semi- Intensivo	Semi- Intensivo

Las muestras se sometieron a la técnica de microaglutinación en placa (MAT) para la detección de anticuerpos contra *Leptospira* (Figura 7). Este estudio permitió comparar de manera más precisa los dos sistemas de producción y las diferentes regiones en el estado de Durango, ofreciendo así un panorama más completo de la situación epidemiológica de la leptospirosis en el estado.





**Figura 8 Lectura de muestras serológicas mediante microscopía de campo oscuro.**

## 11.2 SEROLOGÍA

La seropositividad general de las muestras, independientemente del sistema de producción, serovariedad o título, fue de 31.69% (141/445); en tanto que la prevalencia aparente obtenida de aquellos bovinos bajo sistema semi intensivo, fue de 54.14% (85/157) y para el sistema intensivo fue de 19.44% (56/288). (Tabla 6). La diferencia en la seropositividad en ambos sistemas de manejo fue altamente significativa ( $P:<0.0001$ ).

**Tabla 6 Porcentaje de seropositividad contra *Leptospira* de acuerdo con el tipo de sistema.**

Tipo de Sistema	Positivos (%)	Negativos (%)	Total
<b>Semi Intensivo</b>	85 (54.14)	72 (45.86)	157
<b>Intensivo</b>	56 (19.44)	232 (80.56)	288
<b>Total</b>	141 (31.69)	304 (68.31)	445

La seroprevalencia se mostró muy marcada entre sistemas y de acuerdo con la n, siendo el sistema semi intensivo el de mayor índice de seropositividad en los animales con 54 animales infectados de cada 100.

A nivel de hato, la seroprevalencia general fue de 92.86%, donde el sistema semi intensivo mostró una seroprevalencia de un 100% de los hatos positivos a *Leptospira*; mientras que la seroprevalencia de los hatos bajo sistema intensivo fue de un 83%, teniendo dos hatos completamente negativos a la prueba MAT. (Tabla 7).

La tabla 8 se describe la seropositividad resultante de los animales analizados frente a las diez serovariedades (panel de antígenos) de leptospira en la MAT y su comportamiento en ambos sistemas de producción.

**Tabla 7 Porcentaje de seroprevalencia contra *Leptospira* a nivel de hato en bovinos productores de leche en el estado de Durango, México**

<b>Sistema de Producción</b>	<b>Positivos (%)</b>	<b>Negativos (%)</b>	<b>UPP's</b>
Semi Intensivo	16 (100%)	0	16
Intensivo	10 (83%)	2 (17%)	12
Total	26	2	28

**Tabla 8 Seroprevalencia total por serovares dentro de ambos sistemas de producción de bovinos productores de leche en el estado de Durango, México.**

<b>Serovar</b>	<b>Sistema Semi Intensivo</b>	<b>Sistema Intensivo</b>
<b>pyrogenes</b>	<b>36 (31.30%)</b>	<b>11 (13.75%)</b>
<b>wolfii</b>	<b>23 (20.00%)</b>	1 (1.25%)
<b>tarassovi</b>	<b>16 (13.90%)</b>	4 (5.00%)
<b>gryppotyphosa</b>	2 (1.70%)	<b>12 (15.00%)</b>
<b>pomona</b>	6 (5.20%)	7 (8.75%)
<b>canicola</b>	6 (5.20%)	6 (7.50%)
<b>hardjoprajitno</b>	12 (10.40%)	8 (10.00%)
<b>icterohaemorrhagiae</b>	6 (5.20%)	<b>13 (16.25%)</b>
<b>bratislava</b>	7 (6.10%)	5 (6.25%)

<b>hardjobovis</b>	1 (0.09%)	<b>13 (16.25%)</b>
<b>TOTAL</b>	99.09%	100%

En el sistema semi intensivo, los bovinos manifestaron una frecuencia serológica destacable a varias serovares, sobresaliendo entre ellas, pyrogenes (31.30%), wolfii (20.00%) y tarassovi (13.90%) y obteniendo títulos máximos de 1:800 para pyrogenes (Ilustración 9). Entre las 16 unidades de producción examinadas, solo una implementa prácticas de inmunización. De esta unidad, se encontraron resultados positivos en 4 de los 10 animales, para las serovares pomona (1/4) y tarassovi (4/4).

Los bovinos productores de leche manejados bajo sistema semi intensivo cuentan con un calendario de vacunación contra Leptospira, esta bacterina contiene cinco serovares diferentes de Leptospira (*Leptoferm-5®*) (tabla 8), la cual se aplica en noviembre con refuerzo en diciembre. Los bovinos positivos mostraron títulos dentro del rango 1:100 a 1:800 como título máximo a ciertas serovares como hardjo bovis y pyrogenes. (Figura 8a).

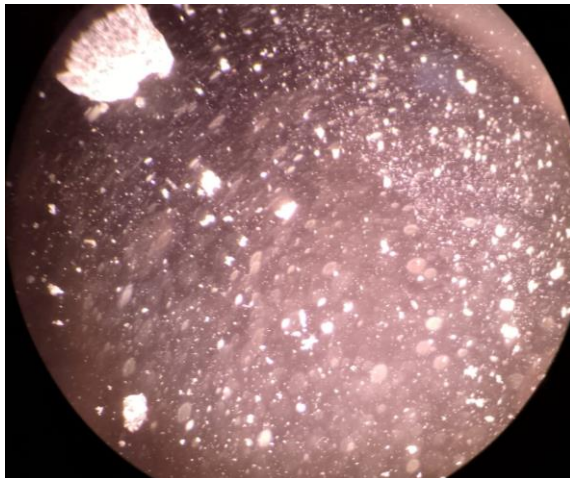


Figura A



Figura B

**Figura 9. A) MAT positivo con títulos de 1:800 a la serovar pyrogenes procedente de un bovino bajo manejo semi intensivo. B) MAT positivo con títulos de 1:400 a hardjo bovis procedente de un bovino bajo sistema intensivo.**

### **11.3 CULTIVO Y CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA**

De las 16 muestras de orina obtenidas al azar (10 semi intensivas, 6 intensivas), dos muestras mostraron crecimiento bacteriano. Una procedente del único hato vacunado del sistema semi intensivo y otra procedente de un hato inmunizado manejado intensivamente. Ambas muestras fueron confrontadas con un panel de sueros previamente caracterizados a las serovares de la tabla #. La muestra semi intensiva reaccionó ante la serovar hardjobovis con títulos de 1:800 y la muestra intensiva reaccionó ante hardjobovis, hardjoprajitno y wolffi con títulos de 1:800 igualmente.

Dado que la segunda muestra presentó una posible co-seropositividad ante dos serovares más, se realizó una resiembra de bacterias en medio de cultivo EMJH sólido en placas petri para la identificación y separación de las colonias pertenecientes a las cepas de *Leptospira*.

### **11.4 FACTORES DE RIESGO**

Entre los factores de riesgo estudiados, 11 elementos tuvieron relevancia en la presencia y circulación de *Leptospira* spp en los hatos de bovinos productores de leche manejados bajo ambos sistemas (Tabla 9). Entre los factores de riesgo (FR) destacados entre sistemas se encontraron la presencia de gallinas (OR 6.264), las prácticas reproductivas de monta natural (OR 4.970), el sistema semi intensivo (OR 4.891), la presencia de perros (OR 4.435), jabalís (OR 4.309), gatos (OR 4.065) y animales domésticos en general (OR 4.260), hacinamiento en corrales (OR 3.131) y la incorrecta disposición de de placentas (OR 2.778). También hubo diez factores de protección (FP) presentes, entre ellos: buena densidad de corral (OR .455), prácticas de vacunación anual (OR .418), control de vectores (OR .285), la presencia de un MVZ de cabecera (OR .259) y la disposición correcta de placentas (OR .238), entre otros.

Tabla 9

Factores asociados a la presencia de *Leptospira* en hatos de bovinos productores de leche manejados bajo sistema semi intensivo.

Variable	P	Odds Ratio	CI (95%)	Rol de Variable
Gallinas	<.0001	6.264	3.534 – 11.459	FR
Monta Natural	<.0001	4.970	3.194 – 7.735	FR
Sistema Semi Intensivo	<.0001	4.891	3.186 - 7.508	FR
Perros	<.0001	4.435	2.877 – 6.837	FR
Jabalís	.002	4.309	1.680 - 11.053	FR
Animales Domésticos	<.0001	4.260	2.789 - 6.506	FR
Gatos	<.0001	4.065	2.626 – 6.292	FR
Densidad de corral alta	<.0001	3.131	1.835 – 5.342	FR
No recoger placenta	<.0001	2.778	1.815 – 4.253	FR
Cerdos	.040	2.056	1.034 – 4.090	FR
Densidad de Corral Buena	.002	.455	.275 - .751	FP
Vacunación Anual	<.0001	.418	.275 - .634	FP
Encalan Placentas	<.0001	.346	.229 - .524	FP
Control Vectores	<.0001	.287	.181 - .456	FP
MVZ de Cabecera	<.0001	.259	.167 - .400	FP
Disposición de Placentas	<.0001	.238	.151 - .374	FP
Vacuna contra Enfermedades Virales	<.0001	.205	.133 - .316	FP
Sistema Intensivo	<.0001	.204	.133 - .314	FP
Inseminación Artificial	<.0001	.201	.129 - .313	FP
Quema o entierra placenta	<.0001	.196	.126 - .304	FP

\*FR = Factor de Riesgo; \*FP = Factor de Protección

## 12. DISCUSIÓN

Este es primer estudio epidemiológico de la Leptospirosis bovina en la región de la laguna y en bovinos lecheros ubicados en zonas semiáridas de México.

En México, más del 70% de los abortos son considerados de origen desconocido (Gutiérrez-Hernández et al., 2020). Aunado a esto, la existencia de problemas de salud que comprometen la productividad eficiente de los animales (Escamilla et al., 2007; Gutiérrez-Hernández et al., 2020). Los agentes infecciosos asociados con desordenes reproductivos en rumiantes incluyen aquellas patologías virales abortivas como Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) y de origen bacteriano, atribuidas a *Brucella abortus* y *Leptospira* spp. (Segura-Correa et al., 2010; Gutiérrez-Hernández et al., 2020). Las pérdidas económicas atribuidas a la leptospirosis, tanto a nivel global como a nivel de unidades de producción, aún no han sido completamente cuantificadas debido a la similitud de los síntomas con otras enfermedades.

No obstante, los efectos adversos en la producción debido a la leptospirosis son significativos tanto en términos pecuarios como económicos. Por otro lado, es necesario resaltar la capacidad de adaptación y persistencia de las leptospiras en el medio ambiente (Adugna, 2016) por periodos prolongados de tiempo, así como en los hospedadores, tornándose una infección crónica y presentando signos de forma subclínica (Mori et al., 2017). Esto resulta en animales aparentemente sanos, y portadores de la enfermedad (Pinto et al., 2017; Barnabé et al., 2023). Los elementos clave de la leptospirosis residen en su naturaleza zoonótica, integrándose en el concepto de "Una Salud". Además, considerando la biología de la bacteria y los actuales cambios climáticos globales, esta enfermedad podría convertirse en un motivo de preocupación sanitaria en un futuro próximo.

A pesar del amplio reconocimiento de la dispersión de la bacteria a nivel mundial (Johnson & Faine, 1984; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Selim et al., 2024;

Suanes et al., 2024), los estudios sobre la frecuencia serológica en bovinos productores de leche en el Noreste de México son escasos. En el estudio actual, se observaron características distintivas en las unidades semi intensivas analizadas, como la ausencia de vacunación con bacterinas de *Leptospira*, la convivencia cercana con animales domésticos y silvestres, y generalmente la falta de medidas de bioseguridad dentro de los hatos. En contraste, las unidades de producción intensivas presentaron un periodo aproximado de 180 días desde su inmunización al momento de la toma de muestra, con al menos una dosis de vacuna que incluía cinco serovares de *Leptospira*. Estos factores ejercieron influencia significativa en los resultados de seropositividad obtenidos en los hatos evaluados.

Los rangos de seropositividad entre los diferentes sistemas de manejo variaron considerablemente, especialmente en los bovinos manejados bajo sistema intensivo. En el caso de los bovinos bajo sistema semi-intensivo, dado que no existen registros de inmunización, se deduce que las serovares y los títulos encontrados se deben a una exposición previa a la enfermedad. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por González Dardayrol (2004), Ryan et al. (2012), Sánchez et al. (2007), Zuluaga León (2009) y Mori et al. (2017), quienes señalan que los anticuerpos detectados previa inmunización en sus estudios no pueden diferenciarse entre aquellos producidos por vacunación y los generados por una infección previa. Sin embargo, en aquellos casos donde la historia clínica del hato no incluye inmunización previa y existe ausencia de medidas bioseguridad, la presencia de anticuerpos es atribuible a la exposición previa a la bacteria por lo que estos bovinos han desarrollado una respuesta natural a la infección (Aduña, 2016; Mori et al., 2017). Esta observación es crucial dado que las infecciones causadas por *Leptospira* a menudo pasan desapercibidas y muchas de las patologías asociadas, ya sean o no provocadas por esta bacteria, pueden confundirse con otros factores. Esto limita la posibilidad de lograr un diagnóstico y control efectivos (Johnson & Faine, 1984; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Niloofa et al., 2015).

Los resultados obtenidos en los bovinos manejados bajo un sistema intensivo, donde se registra el uso de bacterinas, coinciden parcialmente con estudios realizados en hatos bajo manejo similar, donde también se observó una alta frecuencia serológica (Luna Álvarez et al., 2005; Carvajal-De La Fuente et al., 2012; Gutiérrez-Hernández et al., 2020). Las serovariedades más comunes entre los rumiantes, como hardjo, pomona y tarassovi, son frecuentemente encontradas en bovinos debido a que estos animales actúan como hospederos de mantenimiento (Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Ellis, 1984; Gonzáles Dardayrol, 2004; Rinehart et al., 2012). Estas serovariedades, reconocidas por su impacto significativo en la ganadería, están incluidas dentro de las bacterinas comerciales disponibles para la prevención de *Leptospira*. Por lo tanto, es común encontrar ganado, ya sea vacunado o no vacunado, que resulte positivo para estas serovariedades.

Estos datos no coinciden con los resultados obtenidos de los bovinos productores de leche manejados bajo un sistema intensivo. Estos animales siguen un calendario de vacunación contra *Leptospira*, que incluye la aplicación de una bacterina quintuple comercial (“Leptoferm-5<sup>®</sup>”) en noviembre y un refuerzo en diciembre (ver tabla 2/3). Por lo tanto, se esperaba encontrar un índice de anticuerpos mayor al de los 56 positivos detectados (ver tabla 6) a las serovariedades contenidas en la bacterina (ver tabla 9). Sin embargo, la falta de anticuerpos encontrados es consistente con los hallazgos de Stringfellow et al. (1983), Clerc et al. (2003), Sanchez et al. (2007) y Rinehart et al. (2012), quienes evaluaron diversas bacterinas comerciales contra la leptospirosis bovina que contenían las cinco serovariedades mencionadas en la tabla 9. Estos estudios implementaron diversos calendarios de vacunación, observando que los títulos de anticuerpos inducidos por las bacterinas no superaron el rango de 1:400. Así mismo, los títulos encontrados en los bovinos disminuyeron y eventualmente desaparecieron entre las semanas 15-17 después de la segunda y tercera dosis. Solo a partir del cuarto refuerzo con la bacterina se observó un incremento en los títulos de anticuerpos, alcanzando hasta 1:600 para hardjo, 1:800 para icterhaemorrhagie, 1:400 para pomona, 1:200 para gryppotyphosa y 1:100 para



canicola (Clerc et al., 2003). Sin embargo, Clerc et al. (2003), Sánchez et al. (2007), y Rinehart et al. (2012) no reportaron un 100% de presencia de anticuerpos vacunales en los bovinos inmunizados, lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio en relación con el porcentaje de positividad y el nivel de títulos encontrados en los bovinos manejados bajo un sistema intensivo.

Los resultados de estos autores se obtuvieron bajo condiciones y factores controlados, como la aplicación de bacterinas con refuerzos en intervalos específicos y la toma de muestras sanguíneas en distintas etapas del proceso. En contraste, con los establos intensivos analizados en este estudio, la vacunación con la bacterina contra *Leptospira* se realiza solo dos veces al año, con un refuerzo a los treinta días después de la primera dosis. El tiempo transcurrido entre la vacunación y la toma de muestras fue de 24 semanas, lo cual probablemente influyó en los resultados de los títulos de anticuerpos encontrados y en la presencia de animales positivos para las serovariedades incluidas en la bacterina.

Los resultados de este estudio, que muestran bajos niveles de titulación, están en concordancia con lo señalado por Sulzer y Jones (1980) y Sánchez et al. (2007). Donde, los niveles bajos indican la presencia de anticuerpos derivados de la vacunación y la ausencia de títulos en ciertos serovares y bovinos no sugiere que la vacuna sea incapaz de estimular el sistema inmunitario, ya sea humoral o celular, o que no genere anticuerpos protectores en los animales vacunados. Los resultados obtenidos en este estudio son atribuibles tanto a los factores antes mencionados como a factores externos específicos de las unidades de producción, tales como el tipo de bacterina utilizada, el manejo de la cadena de frío, la aplicación de la bacterina, la frecuencia de revacunación y el estado inmunitario de los animales inmunizados. Estos datos se aplican a las serovariedades contenidas en las bacterinas administradas, mientras que la seropositividad frente a otras serovariedades se presume es por resultado de exposición directa con la bacteria.

Entre los resultados obtenidos en ambos sistemas, destaca la alta seroprevalencia de la serovar *pyrogenes*, que representa el 33.33% de los casos positivos totales (Tabla 7). En contraste con las serovariedades de los serogrupos *L. borgspetersenii* (*hardjo-bovis*) y *L. sejroe* (*hardjoprajtno*), que son las más prevalentes en bovinos según estudios previos (Ellis, 1984; Pinto et al., 2015, 2017), solo representaron el 9.92% y 14.18% respectivamente, y no predominaron en este estudio. Aunque *Leptospira pyrogenes* es poco reportada en bovinos y no se considera una de las principales serovariedades en rumiantes, en este estudio alcanzó títulos máximos de 1:800 en ambos sistemas, lo cual concuerda con varios estudios que la destacan como una serovariedad de importancia. A pesar de que ha sido identificada como causante de infecciones esporádicas en bovinos (Adler & De la Peña-Moctezuma, 2015), predominante en regiones desérticas (Samir et al., 2015), aislada en porcinos, y presente en diversas especies domésticas con capacidad de infectar más allá de los bovinos (Miraglia et al., 2008), incluso detectada en humanos (Rodríguez González et al., 2002) con un posible riesgo zoonótico, *L. pyrogenes* no está incluida en las bacterinas comerciales actualmente disponibles.

Esto se debe en parte a que las bacterinas suelen centrarse en serovariedades más prevalentes y con un mayor impacto en la salud animal y humana. Los resultados de este estudio, junto con investigaciones anteriores, indican que la exclusión de *Leptospira pyrogenes* en las bacterinas representa una brecha en la protección del ganado y otras especies, especialmente en áreas donde esta serovariedad es común, como en las regiones desérticas, donde se ha identificado como un riesgo potencial.

En cuanto a las demás serovariedades identificadas en el estudio, todas han sido reconocidas a nivel mundial como patógenas en rumiantes (Ellis, 1984; Johnson & Faine, 1984; Luna Álvarez et al., 2005; Escamilla et al., 2007; Adler & de la Peña-Moctezuma, 2015; Adugna, 2016; Gutiérrez-Hernández et al., 2020). Se ha demostrado que estas serovariedades no solo pueden infectar a su especie de mantenimiento, sino también a otros animales domésticos, como cerdos (Miraglia

et al., 2008), perros (Miraglia et al., 2012), caballos y ovejas (Chávez Sánchez, 2019) e incluso a seres humanos (Alvarado-Esquivel et al., 2015; Samir et al., 2015; Sandoval-Carrillo et al., 2021). Estos hallazgos resaltan la importancia de una vigilancia continua y de estrategias de vacunación que consideren la inclusión de diversas serovariedades para asegurar una protección más amplia, no solo en rumiantes, si no en todas las especies susceptibles, incluida la humana.

Estudios previos han identificado la presencia de *Leptospira* y los factores de riesgo asociados en hatos bovinos, especialmente en aquellos con fines cárnicos, en el noreste de México. No obstante, en los hatos bovinos dedicados a la producción de leche, especialmente en el estado de Durango y en México en general, la información sobre la presencia, circulación y epidemiología de *Leptospira* es limitada. Los factores de riesgo evaluados en este estudio se identificaron mediante una encuesta aplicada a productores y propietarios de explotaciones pecuarias. Se destacaron once variables con significancia estadística significativa ( $p < .05$ ), entre las más relevantes se encontraron las prácticas de monta natural, con un OR de 4.970 (CI 3.194–7.735), y el sistema semi-intensivo, con un OR de 4.891 (CI 3.186–7.508). Estos resultados son similares a los reportados por Ryan et al. (2012), Carvajal de la Fuente et al. (2012) y Selim et al. (2024), quienes demostraron que, en bovinos sin un manejo reproductivo o sanitario adecuado, la prevalencia de *Leptospira* es mayor y más dispersa en comparación con hatos donde se practican medidas de inmunización.

Además, la presencia de animales domésticos y silvestres como perros OR 4.435 (CI 2.877 – 6.837), jabalís OR 4.309 (CI 1.680 -11.053), presencia de animales domésticos en general OR 4.260 (CI 2.789 -6.506) y gatos OR 4.065 (CI 2.626 - 6.292) coinciden con lo reportado por Zuluaga León (2009), Fávero et al. (2017), Selim et al. (2024) y Suanes et al. (2024) quienes indican que estos animales actúan como reservorios y propagadores de ciertas serovariedades de *Leptospira* capaces de infectar a los bovinos especialmente de las serovares de los

serogrupos Sejroe, Icterohaemorrhagiae y Canicola (Fávero et al., 2017). Esto señala un incremento en la seroprevalencia y la dispersión de *Leptospira* en los hatos, situación que podría estar vinculada a la ausencia de un manejo sanitario adecuado, como la vacunación en animales domésticos (Suanes et al., 2024), un dato que fue confirmado en la encuesta realizada a los propietarios en este estudio. La presencia de animales domésticos y/o silvestres también plantea un riesgo para la salud pública, dado que algunas de estas serovariedades tienen un potencial zoonótico (Selim et al., 2024).

El hacinamiento de los bovinos (OR 3.131, CI 1.835 – 5.342) y la nula recolección de placentas (OR, CI 1.815 – 4.253) también fueron identificados como factores de riesgo. Estos resultados coinciden con lo reportado por Fávero et al. (2017) y Suanes et al. (2024), quienes describen a la alta densidad animal o hacinamiento de los animales como asociación entre una mayor prevalencia y la circulación de diversas serovares dentro del hato. Además, Ryan et al. (2012) encontró que a mayor número de animales en el rebaño se incrementa hasta 5.47 veces la probabilidad de infección por *Leptospira*. Por otro lado, Ellis (1983) y Adler & De la Peña Moctezuma (2012) señalaron que las descargas postparto son una de las principales fuentes de infección, ya que las leptospiras pueden permanecer en el útero de las vacas por periodos prolongados, lo que permite la transmisión vertical al feto (Ellis, 1984). En este estudio, se observó que, en la mayoría de los casos, las placentas no se recogen y quedan disponibles para que perros, gatos u otras especies de fauna silvestre se alimenten de ellas.

Finalmente, la presencia de gallinas (figura 11) OR de 6.264 (CI 3.534 – 11.459), surgió como el factor de riesgo principal y sin previas menciones en la literatura previa. Sin embargo, en este estudio se destacó como la variable de riesgo principal y con la mayor significancia estadística. Este hallazgo representa una aportación importante a los factores de riesgo actualmente conocidos que promueven la circulación y prevalencia de *Leptospira* en bovinos. Aunque las gallinas habían sido consideradas como un reservorio de leptospirosis, este estudio sugiere que podrían tener un rol inesperado en la transmisión de la

enfermedad en los bovinos. Identificar y estudiar su función como portadoras o reservorios podría evidenciar nuevas rutas de infección en los rebaños bovinos que coexisten con estas aves, así como en las áreas rurales en general. En conclusión, estos descubrimientos amplían nuestro conocimiento sobre la epidemiología de la *Leptospira*, encaminando futuras investigaciones y estrategias para prevenir y controlar la leptospirosis en ganado bovino.



**Figura 10 Aves de corral conviviendo en el mismo corral que los bovinos**

Así mismo, se identificaron 10 factores de protección (ver tabla 9), la mayoría de ellos relacionados con el sistema intensivo. Estos factores de protección se vinculan con las buenas prácticas de manejo, buenas prácticas sanitarias y de bioseguridad. El manejo implementado en el sistema intensivo probablemente influyó en la baja frecuencia serológica observada en estos bovinos. Esto demuestra que, con cambios simples en la sanidad del hato como la correcta disposición de placentas, la presencia de un MVZ y la vacunación pueden disminuir la circulación y prevalencia de la leptospirosis en los rebaños.

En relación con las muestras positivas a cultivo bacteriano, los resultados obtenidos de las dos muestras de orina provenientes de hatos vacunados en este

estudio son consistentes con los hallazgos reportados por Carbajal-de la Fuente et al. (2012), Adler & Moctezuma de la Peña (2015), Sánchez et al. (2017) y Suanes (2024). Estos estudios indican que los bovinos actúan como hospedadores de mantenimiento para las serovariedades a las que mostraron compatibilidad en el análisis serológico, específicamente *H. bovis*, *H. praetn* y *Wolffi*. Comparando con otros estudios realizados en zonas áridas, se obtuvo un porcentaje de recuperación similar al reportado por Samir y colaboradores en el 2015, quien, de 625 muestras de orina de bovinos, encontró crecimiento morfológico de *Leptospira* en solo siete muestras, lo que representa un 1.1%. En este estudio, el porcentaje de recuperación fue del 12.5% (2 de 16 muestras). En ambos estudios, la situación epidemiológica de los animales era desconocida; los rebaños no presentaban signos de enfermedad por *Leptospira*, no se observó ninguna tormenta de abortos, las muestras no se recolectaron en temporada de lluvias, y no se aplicó ningún diurético como furosemida. Además, la recolección de muestras de orina se realizó de manera aleatoria.

En contraste con otros estudios, como el realizado por Koval et al. (2017) en Saladillo, Argentina, una región de clima templado pampeano con abundantes precipitaciones, se analizaron un total de veinte muestras de orina de animales inmunizados que presentaron tormenta de abortos durante la temporada de lluvias torrenciales. A estos animales se les administró 10 ml de diurético por vía intravenosa antes de proceder con el aislamiento bacteriano. Los resultados obtenidos por Koval mostraron que 7 de las 20 muestras fueron positivas para cultivo de *Leptospira*, logrando un elevado porcentaje de recuperación del 35%. Estos aislamientos resultaron positivos para las serovariedades del grupo Sejroe, especialmente la serovar *H. bovis*, lo cual coincide con nuestros resultados a pesar de las diferencias entre los estudios.

El aislamiento bacteriano es un método de diagnóstico complejo (Adler & de la Peña Moctezuma, 2012), que puede llevar hasta cuatro meses en detectar el crecimiento de leptospiras, además de enfrentar el riesgo de contaminación por el crecimiento de otras bacterias (Romero-Vivas & K. Falconar, 2016). Sin

embargo, Cuba-Romero et al. (2016) indican que "la ausencia de enfermedad en los animales inmunizados no excluye la posibilidad de que estos sean portadores asintomáticos y diseminadores del patógeno a través de la orina", lo cual concuerda con los hallazgos de nuestro estudio y con los de Koval et al. La detección de dos muestras positivas en el cultivo representa un avance significativo en la comprensión de la situación epidemiológica de *Leptospira* en los hatos lecheros del estado de Durango. Este logro es un paso importante hacia una mejor vigilancia y control de la leptospirosis en la región.

## 1. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVA

Este estudio reveló una alta tasa de seropositividad contra *Leptospira* en bovinos bajo sistema semi-intensivo. Se presume que la concurrencia entre los factores de bioseguridad, condiciones de manejo y tipo de sistema hacen posible la prevalencia de la bacteria en estos hatos. Estos hallazgos también exponen la falta de conocimiento de la enfermedad, la escasez de medidas profilácticas y de bioseguridad que podrían mitigar el alto porcentaje arrojado. Además, no se descarta la posible influencia de la región, las condiciones ambientales y la persistencia de la enfermedad en los animales infectados para la prevalencia y circulación de serovares que difieren de aquellas encontradas en las vacunas disponibles o de las habitualmente presentes en rumiantes.

Los factores de riesgo en su mayoría fueron similares a los encontrados en diversos estudios, a excepción de la presencia de gallinas encontrado en esta investigación. Esto demuestra que no todos los hospederos o posibles factores de riesgo para la circulación y mantenimiento de la bacteria han sido encontrados. Por esta razón, es necesario realizar estudios más específicos dirigidos hacia las unidades de producción que emplean ambos sistemas para observar y estudiar mejor el comportamiento de *Leptospira* en esta región y proponer medidas que mitiguen la circulación de la bacteria. Estos estudios contribuirían con datos sobre la infección en ganado bovino productor de leche manejado bajo ambos sistemas de manejo, las serovariedades encontradas en las diversas regiones y los posibles factores de riesgo no identificados hasta ahora.



## 2. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, B., & de la Peña Moctezuma, A. (2010). LEPTOSPIRA AND LEPTOSPIROSIS. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), 287-296.
- Aduña, S. (2016). A REVIEW OF BOVINE LEPTOSPIROSIS. *European Journal of Applied Sciences*, 8(6), 327-355.
- Alonso-Andicoberry, C., García-Peña, F. J., Pereira-Bueno, J., Costas, E., & Ortega-Mora, L. M. (2001). HERD-LEVEL RISK FACTORS ASSOCIATED WITH LEPTOSPIRA SPP. SEROPREVALENCE IN DAIRY AND BEEF CATTLE IN SPAIN. *Preventive veterinary medicine*, 52(2), 109-117.
- Ali, M. R. M., Safee, A. W. M., Ismail, N. H., Sopian, R. A., Hussin, H. M., Ismail, N., & Yean, C. Y. (2018). DEVELOPMENT AND VALIDATION OF PAN-LEPTOSPIRA TAQMAN QPCR FOR THE DETECTION OF LEPTOSPIRA SPP. IN CLINICAL SPECIMENS. *Molecular and Cellular Probes*, 38, 1-6.
- Alvarado-Esquivel, C., Sánchez-Anguiano, L. F. & Hernández-Tinoco, J. (2015). SEROEPIDEMIOLOGY OF LEPTOSPIRA EXPOSURE IN GENERAL POPULATION IN RURAL DURANGO, MEXICO. *BioMed Research International*, 2015: 1-5.
- Arango, C. J. J., & Maya, J. J. M. (2010). *EPIDEMIOLOGÍA VETERINARIA*. Editorial El Manual Moderno.
- Barraza, A., Acosta-Osio, G. & Saad, G. (1999). LEPTOSPIROSIS Y EMBARAZO. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 50(4): 241-243.
- Brightman, C. (2018). LEPTOSPIROSIS: A LEISURE AND OCCUPATIONAL HAZARD. *Trends in Urology & Men's Health*, 9(1), 29-31.

- Carrada-Bravo, T. (2005). LEPTOSPIROSIS HUMANA. HISTORIA NATURAL, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 52(4), 246-256.
- Carvajal-de la Fuente, V., Zapata-Campos, C., Loredó-Osti, J., López-Zavala, R., Jasso-Obregón, J. O. & Martínez-Bautista, E. (2012). SEROPREVALENCE AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH LEPTOSPIROSIS (*L. interrogans*) IN BOVINE CATTLE IN NORTHEASTERN MEXICO. *Thai J Vet Med* 42(1): 7-12.
- Cesar, D. LEPTOSPIROSIS. *Instituto Plan Agropecuario*, 43-45.
- Chávez-Sánchez, J. F. (2019). SEROEPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO DE *Leptospira* spp Y LENTIVIRUS EN HATOS OVINOS Y CAPRINOS DEL NORESTE DE MÉXICO. [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Clerc, K., Aidorevick, L., Tirado, M. & Tovar, C. (2003). ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL DE BOVINOS CEBÚ ANTE UNA VACUNA MULTIVALENTE CONTRA LA LEPTOSPIROSIS BOVINA.
- CONYER, R. T., & de la Federación, D. O. PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-029-SSA2-1999, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de la leptospirosis. *Rev Fac Cs Vets*, 44(2): 107-115.
- Cuba-Romero, Y., Gainza-Santos, N., Saltaren-Cobas, A., & Naranjo-Medina, M. (2016). EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD Y LA CAPACIDAD PROTECTORA HOMÓLOGA DE UN CANDIDATO VACUNAL TETRAVALENTE DE LEPTOSPIRA, PARA USO VETERINARIO. *Vaccimonitor*, 25(3), 0-0.
- Da Costa-Barnabé, N. N., Rodríguez-Soares, R., Silva-Barros, D. K., Batista-Nogueira, D., Ribeiro-da Costa, F., Araújo-Júnior, J. P., Dantas-Malossi,

- C., Ullmann, L. S., Figueiredo-da Costa, D, Rodrigues-Silva, M. L. C., dos Santos-Higino, S. S., Batista-Santos, C. S. A., Santos-de Azevedo, S. & Alves, C. J. (2023). BOVINE LEPTOSPIROSIS IN CAATINGA BIOME, BRAZIL: NEW INSIGHTS INTO DIAGNOSIS AND EPIDEMIOLOGY. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(3), 177-189.
- Ellis, W. A. (1984). BOVINE LEPTOSPIROSIS IN THE TROPICS: PREVALENCE, PATHOGENESIS AND CONTROL. *Preventive Veterinary Medicine*, 2, 411-421.
- Escamilla, H. P., Martínez, J. J., Medina, M. & Morales, E. (2007). FREQUENCY AND CAUSES OF INFECTIOUS ABORTION IN A DAIRY HERD IN QUERETARO, MEXICO. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 71(4), 314-317.
- Faine, S., & World Health Organization. (1982). *GUIDELINES FOR THE CONTROL OF LEPTOSPIROSIS*. World Health Organization.
- Fávero, J. F., de Araújo, H. L., Lilenbaum, W., Machado, G., Tonin, A. A., Baldissera, M. D., ... & Da Silva, A. S. (2017). BOVINE LEPTOSPIROSIS: PREVALENCE, ASSOCIATED RISK FACTORS FOR INFECTION AND THEIR CAUSE-EFFECT RELATION. *Microbial pathogenesis*, 107, 149-154.
- Garcia-Escalera, J. A., 2014. DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Leptospira* SEROVAR Hardjo TIPO bovis EN GANADO LECHERO EN MÉXICO. [Tesis de Maestría]. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- González-Dardayrol, M. A. (2004) SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIRA SPP EN ROEDORES SILVESTRES DE LOS BOSQUES DE PINO-ENCINO CON DIFERENTE MANEJO (CON Y SIN PASTOREO) EN

CHAPA DE MOTA, ESTADO DE MÉXICO. [Tesis de Maestría].  
Universidad Nacional Autónoma de México.

González, R., Obregón, A. M., Rodríguez, J. E., Fernández, C., Arzola, A., & Victoria, B. (2002). CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA DE CEPAS AISLADAS DE PACIENTES CON LEPTOSPIROSIS HUMANA EN CUBA. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 40(1), 11-15.

Goris, M. G., & Hartskeerl, R. A. (2014). LEPTOSPIROSIS SERODIAGNOSIS BY THE MICROSCOPIC AGGLUTINATION TEST. *Current protocols in microbiology*, 32(1), 12E-5.

Gunasegar, S., & Neela, V. K. (2021). EVALUATION OF DIAGNOSTIC ACCURACY OF LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION METHOD (LAMP) COMPARED WITH POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) FOR *Leptospira* spp. IN CLINICAL SAMPLES: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 100(3).

Gutiérrez Nieto, A. C., & Masmela Castillo, R. A. (2022). LEPTOSPIROSIS BOVINA ENFOCADO EN EL POTENCIAL ZONÓTICO, ALTERNATIVAS DE CONTROL Y TRATAMIENTO.

Gutiérrez-Hernández, J., Palomares-Reséndiz, G., Hernández-Badillo, E., Leyva-Corona, J., Díaz-Aparicio, E., Herrera-López, E. (2020). FRECUENCIA DE ENFERMEDADES DE IMPACTO REPRODUCTIVO EN BOVINOS DE DOBLE PROPÓSITO UBICADOS EN OAXACA, MÉXICO. *Abanico Veterinario*, 10, 1-11.

Hernández-Rodríguez, P., Díaz, C. A., Dalmau, E. A., & Quintero, G. M. (2011). A COMPARISON BETWEEN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) AND TRADITIONAL TECHNIQUES FOR THE DIAGNOSIS OF LEPTOSPIROSIS IN BOVINES. *Journal of microbiological methods*, 84(1), 1-7.

Herrera, B. (2001). LEPTOSPIROSIS BOVINA. *XXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría*.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía INEGI. 2022. ASPECTOS GEOGRAFICOS: DURANGO. 1-45.  
[https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/estudios/conociendo/Durango.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/estudios/conociendo/Durango.pdf)

Johnson, R. C. (1984). LEPTOSPIRA. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer Science & Business Media. 62-64.

Khalili, M., Sakhaee, E., Aflatoonian, M. R., Abdollahpour, G., Tabrizi, S. S., Damaneh, E. M., & Hossini-Nasab, S. (2014). SEROPREVALENCE OF BOVINE LEPTOSPIRAL ANTIBODIES BY MICROSCOPIC AGGLUTINATION TEST IN SOUTHEAST OF IRAN. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4(5), 354-357. doi.10.12980/APJTB.4.2014C1206

Koval, A. A., Brihuega, B. F., Loffler, S. G., López, S., Saint-Martin, M., Lagioia, G. G. & Insaugarat, J. R. (2020). PRIMER AISLAMIENTO DE *Leptospira borgpetersenii* SEROVAR Hardjo TIPO Hardjo bovis A PARTIR DE UN CASO CLÍNICO EN ARGENTINA, *Revista Argentina de Microbiología*, 52(3), 198-201.

Luna-Álvarez, M. A., Moles-y Cervantes, L. P., Gavaldón-Rosas, D., Nava-Vásquez, C. & Salazar-García, F. (2005). ESTUDIO RETROSPECTIVO DE SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS BOVINA EN MÉXICO CONSIDERANDO LAS REGIONES ECOLÓGICAS. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 57(1): 28-31.

Luna Álvarez, M. Á., Socci Escatell, G., Morales Arzate, J. J., Oliveros Ibarra, J. M., & Luna Rivera, E. M. (2018). ANTIBODIES AGAINST LEPTOSPIRA SPP. IN DAIRY GOATS IN GUANAJUATO, MEXICO. 611-618.

- McGowan, M. R. & Kirkland, P. D. (1995). EARLY REPRODUCTIVE LOSS DUE TO BOVINE PESTIVIRUS INFECTION. *British Veterinary Journal*, 151: 263-270.
- Miraglia, F., de Moraes, Z. M., Dellagostin, O. A., Seixas, F. K., Freitas, J. C., Zacarias, F. G., ... & Moreno, A. M. (2012). MOLECULAR AND SEROLOGICAL CHARACTERIZATION OF LEPTOSPIRA INTERROGANS SEROVAR CANICOLA ISOLATED FROM DOGS, SWINE, AND BOVINE IN BRAZIL. *Tropical animal health and production*, 45, 117-121.
- Miraglia, F., Moreno, A. M., Gomes, C. R., Paixão, R., Liuson, E., Moraes, Z. M., & Vasconcellos, S. A. (2008). ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF LEPTOSPIRA INTERROGANS FROM PIGS SLAUGHTERED IN SÃO PAULO STATE, BRAZIL. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 501-507.
- Mori, M., Bakinahe, R., Vannoorenberghe, P., Maris, J., de Jong, E., Tignon, M., Marin, M., Desqueper, D., Frentin, D. & Behaeghel, I. (2017). REPRODUCTIVE DISORDERS AND LEPTOSPIROSIS: A CASE STUDY IN A MIXED-SPECIES FARM (CATTLE AND SWINE). *Veterinary Sciences*, 64(4), 1-9. <https://doi.org/10.3390/vetsci4040064>
- Mohammed, H., Nozha, C., Hakim, K., Abdelaziz, F. & Reikia, B. (2011). LEPTOSPIRA: MORPHOLOGY, CLASSIFICATION AND PATHOGENESIS. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 2(6): 1-4.
- Niloofa, R., Narmada, F., de Silva, N. L., Karunanayake, L., Wickramasinghe, H., Dikmadugoda, N., Premawansa, G., Wickramasinghe, R., Janaka-de Silva, H., Premawansa, S., Rajapakse, S. & Handunnetti, S. (2015). DIAGNOSIS OF LEPTOSPIROSIS: COMPARISON BETWEEN MICROSCOPIC AGGLUTINATION TEST, IGM-ELISA AND IGM RAPID IMMUNOCHROMATOGRAPHY TEST. *PLoS ONE*, 10(6): 1-12.

Ojeda-Carrasco, J. J., Espinosa-Ayala, E., Hernández-García, P. A., Rojas-Martínez, C., & Álvarez-Martínez, J. A. (2016). SEROPREVALENCIA DE ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN DE BOVINOS PARA LECHE CON ÉNFASIS EN NEOSPOROSIS. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 3(8), 243-249.

Organización Mundial de la Salud. (2008). LEPTOSPIROSIS HUMANA: GUÍA PARA EL DIAGNÓSTICO, VIGILANCIA Y CONTROL. *Serie de Manuales Técnicos*, 12(1), 1-127.

Organización Mundial de la Sanidad Animal. (2023). BIENESTAR ANIMAL Y SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE GANADO VACUNO DE LECHE. *Código Sanitario para los Animales Terrestres*, 7(1), 1-14. [www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahc/current/chapitre\\_aw\\_dairy\\_cattle.pdf](http://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_aw_dairy_cattle.pdf)

Organización Mundial de la Sanidad Animal. (2023). SALUD PÚBLICA VETERINARIA. *Código Sanitario para los Animales Terrestres*, 6(1), 1-2. [www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahc/current/chapitre\\_introduction\\_sante\\_publique\\_veterinaire.pdf](http://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_introduction_sante_publique_veterinaire.pdf)

Organización Mundial de la Sanidad Animal. (2021). LEPTOSPIROSIS. *Manual Terrestre de la OIE*, 3(12), 1-24. [www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.01.12\\_Leptospirosis.pdf](http://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.12_Leptospirosis.pdf)

Organización Panamericana de la Salud. (15 de septiembre 2024). LEPTOSPIROSIS. <https://www.paho.org/es/temas/leptospirosis#:~:text=La%20leptospirosis%20ocurre%20mundialmente%20pero,de%20lluvias%20fuertes%20o%20inundaciones>.

- Palaniappan, R. U. M., Chang, Y., Chang, Ch., Pan, M. J., Yang, C. W., Harpending, P., McDonough, S. P., Duvobi, E., Divers, T., Qu, J. & Roe, B. (2005). EVALUATION OF LIG-BASED CONVENTIONAL AND REAL TIME PCR FOR THE DETECTION OF PATHOGENIC LEPTOSPIRES. *Molecular and Cellular Probes*, 19(2): 111-117.
- Picardeau, M. (2013). DIAGNOSIS AND EPIDEMIOLOGY OF LEPTOSPIROSIS. *Médecine et maladies infectieuses*, 43(1), 1-9.
- Pinto, P. S., Loureiro, A. P., Penna, B., & Lilenbaum, W. (2015). USAGE OF LEPTOSPIRA SPP. LOCAL STRAINS AS ANTIGENS INCREASES THE SENSITIVITY OF THE SERODIAGNOSIS OF BOVINE LEPTOSPIROSIS. *Acta Tropica*, 149, 163-167.
- Pinto, P. S., Pestana, C., Medeiros, M. A. & Lilenbaum, W. (2017). PLURALITY OF LEPTOSPIRA STRAINS ON SLAUGHTERED ANIMALS SUGGEST A BROADER CONCEPT OF ADAPTABILITY OF LEPTOSPIRES TO CATTLE. *Acta Tropica*, 172, 156-159.
- Ramírez-García, R., Agudelo-Flórez, P. & Acevedo-Sáenz, L. (2019). INMUNOLOGÍA DE LA LEPTOSPIROSIS. *CES Medicina* 33(3): 192-200.
- Raul, B., María, D., Zootec, L. B., Alexander, H., María, A., & Orlando, M. (2019). LEPTOSPIROSIS: ENFERMEDAD DE IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA. *Revista colombiana de ciencia animal recia*, 11(2), 108-118.
- Reggiardo, C. (2000). VACUNAS, INMUNIDAD Y RESISTENCIA A LA INFECCION EN EL TERNERO. XXI Congreso Mundial de Buiatría – XXVIII Jornada Uruguayas de Buiatría. Punta del Este, Uruguay.
- Rineheart, C. L., Zimmerman, A. D., Buterbaugh, R. E., Jolie, R. A. & Chase, C. C. L. (2012). EFFICACY OF VACCINATION OF CATTLE WITH THE



Leptospira interrogans SEROVAR Hardjo TYPE HARDJORAJITNO COMPONENT OF A PENTAVALENT LEPTOSPIRA BACTERIN AGAINST EXPERIMENTAL CHALLENGE WITH Leptospira borgspetersenii SEROVAR Hardjo TYPE Hardjo-bovis. *American Journal of Veterinary Research*, 73(5), 735-740.

Rivera, H. (2001). CAUSAS FRECUENTES DE ABORTO BOVINO. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2):117-122.

Rodríguez-González, I., Obregón, A. M., Rodríguez, J. E., Fernández, C., Arzola, A. & Victoria, B. (2002). CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA DE CEPAS AISLADAS DE PACIENTES CON LEPTOSPIROSIS HUMANA EN CUBA. *Rev Cubana Hig Epidemiología*, 40(1): 11-16.

Romero-Vivas, C. M., & Falconar, A. K. (2016). LEPTOSPIRA SPP. Y LEPTOSPIROSIS HUMANA. *Revista Salud Uninorte*, 32(1), 123-143.

Ryan, E. G., Leonard, N., O'Grady, L., Doherty, M. L., & More, S. J. (2012). HERD-LEVEL RISK FACTORS ASSOCIATED WITH LEPTOSPIRA HARDJO SEROPREVALENCE IN BEEF/SUCKLER HERDS IN THE REPUBLIC OF IRELAND. *Irish veterinary journal*, 65, 1-10.

Salinas-Meléndez, J. A., Narvaez-Arce, C., Riojas-Valdes, V., Cantu-Covarrubias, A., Avalos-Ramirez, R., & Segura-Correa, J. C. (2007). SEROPREVALENCE OF LEPTOSPIROSIS IN BEEF CATTLE OF NUEVO LEON, MEXICO.

Samir, A., Soliman, R., El-Hariri, M., Abdel-Moein, K. & Hatem, M. E. (2015). LEPTOSPIROSIS IN ANIMALS AND HUMAN CONTACTS IN EGYPT: BROAD RANGE SURVEILLANCE. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48(3): 272-277.

- Sánchez, E., Gutiérrez, B., Fernández, E. & Arias, J. (2007). PRODUCCIÓN Y EVALUACIÓN SEROLÓGICA DE UNA BACTERINA CONTRA LA LEPTOSPIROSIS. *Rev. MVZ Córdoba* 12(2): 967-977.
- Sandoval-Carrillo, A. A., Salas-Pacheco, J. M., Antuna-Salcido, E. I., Castro-Martínez, K. S., Ortiz-Montaño, D. S., Beristain-García, I., Alvarado-Retana, H. M., Ramos-Nevárez, A., Salas-Pacheco, S. M., Sifuentes-Álvarez, A., Rábago-Sánchez, E., Cerrillo-Soto, S. M., Castellanos-Juárez, F. X., Contreras-Cisneros, E. & Alvarado-Esquivel, C. (2021). LEPTOSPIRA INFECTION IN PEOPLE IN THE CITY OF DURANGO, MÉXICO: A CROSS SECTIONAL STUDY. *Journal of International Medical Research*, 49(4): 1-8.
- Secretaría de Salud. (2018). LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LA LEPTOSPIROSIS. *Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos InDRE*. 1(1), 1-62. [www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/487559/LVL\\_Leptospira\\_4T.pdf](http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/487559/LVL_Leptospira_4T.pdf).
- Segura-Correa, J. C., Domínguez-Díaz, D., Ávalos-Ramírez, R. & Argaez-Sosa, J. (2010). INTRAHERD CORRELATION COEFFICIENTS AND DESIGN EFFECTS FOR BOVINE VIRAL DIARRHOEA, INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS, LEPTOSPIROSIS AND NEOSPOROSIS IN COW-CALF SYSTEM HERDS IN NORTH-EASTERN MEXICO. *Preventive Veterinary Medicine*, 96(3-4), 272-275. <https://doi.org/10.1023/a:1025185703587>
- Selim, A., Marzok, M., Gattán, H. S., Abdelhady, A., Salem, M. & Hereba, A. M. (2024). SEROPREVALENCE AND ASOCIATED RISK FACTORS FOR BOVINE LEPTOSPIROSIS IN EGYPT. *Scientific Reports* 14(1).
- Suanes, A., Macchi, M. V., Fernández, F., Salaberry, X., Moreira, C., & Gil, A. D. (2024). SEROPREVALENCE AND HERD-LEVEL ASSOCIATED

FACTORS OF PATHOGENIC *Leptospira* spp. CIRCULATING LOCALLY IN DAIRY CATTLE IN URUGUAY. *Preventive Veterinary Medicine*, 223.

Vijayachari, P., Sugunan, A. P. & Sehgal, S. C. (2001). EVALUATION OF MICROSCOPIC AGGLUTINATION TEST AS A DIAGNOSTIC TOOL DURING ACUTE STAGE OF LEPTOSPIROSIS IN HIGH & LOW ENDEMIC AREAS. *Indian Journal of Medicine Research*, 114: 99-106.

Torres-Castro, M., Hernández-Betancourt, S., Agudelo-Flórez, P., Arroyave-Sierra, E., Zavala-Castro, J., & Puerto, F. I. (2016). REVISIÓN ACTUAL DE LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA LEPTOSPIROSIS. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(5), 620-625.

Zuluaga-Leon, A. G. (2009). FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LEPTOSPIROSIS EN HATOS BOVINOS DE PEREIRA. *Investigaciones Andina*, 11(19), 109-117.

## 13. ANEXOS

### ENCUESTA

Fecha \_\_\_\_\_

Con el fin de recabar información del manejo reproductivo y sanitario que afectan la productividad del rancho. La información recolectada es con el fin de detectar factores de riesgo. **TODA INFORMACIÓN ES CONFIDENCIAL.** Será de uso y meramente con fines de investigación.

**Nombre de la UPP:**

**Ubicación:**

**¿Cuentan los animales con arete SINIIGA?** Sí No

1. **Total de Animales:** Hembras\_\_\_ Sementales\_\_\_ **≤1 año:** H\_\_\_ S\_\_\_

2. **Tipo de Explotación:** a) Pastoreo b) Semi-pastoreo c) Intensivo

3. **¿Salen a pradera o se quedan en corral?**

\_\_\_\_\_

4. **¿Hay otros animales domésticos en su rancho?** Sí No

5. **¿Qué animales tiene?** Cerdos\_\_\_\_\_ Perros/Gatos\_\_\_\_\_ Otros

a) **¿Estos animales tienen calendario de vacunación o manejo preventivo?**

Sí No

b) **¿Contra qué enfermedades?**

6. **¿Existen animales silvestres dentro del predio o en sus alrededores?**

A. Si B. No

a. **¿Qué animales?**

7. **¿Existe algún programa de control de vectores?** Sí No

a. **Medidas de control:**

8. **¿De dónde proviene el agua de los bebederos?**

9. **¿Existe algún tratamiento del agua?** Sí No

a. **¿Cual?** \_\_\_\_\_

10. **¿Qué tipo de alimentación se da? (Forraje/Concentrado, etc.)**

\_\_\_\_\_

11. ¿Cuántos animales conviven por corral?

---

12. Dimensiones de los corrales aproximadamente

---

13. Estado general del hato:

a. Bueno

b. Malo

14. ¿Vacuna contra enfermedades? Sí

No

15. ¿Contra qué enfermedades? \_\_\_\_\_

16. Frecuencia de vacunación: Cada 6 meses

1 vez por año

17. ¿Cuáles vacunas utiliza? (Nombre y Laboratorio)

---

18. Fecha de última aplicación de vacuna

---

19. ¿Las hembras son cruzadas por monta o inseminación?

a. Monta

b. Inseminación

20. ¿Existen problemas reproductivos?

Sí

No

21. ¿Qué tipo de problemas reproductivos?

a. Abortos

b. Retenciones placentarias

c. Intervalo entre partos prolongado/Infertilidad

d. Mastitis/Caída de producción láctea

22. ¿Número de abortos?:

a) Este año \_\_\_\_\_ b) Año pasado \_\_\_\_\_ c) No sabe \_\_\_\_\_

23. ¿En qué periodo de la gestación suceden los abortos?

24. (0-3 meses)

b) (3-6 meses)

c) (6-9 meses)

d) No Sabe

25. Época del año en que se presentan enfermedades o abortos (lluvias, secas, etc.)

---

26. Causa más común de abortos en la UPP

---

27. **¿Hembras que abortan?**

- a. Hembras primera monta      b. Hembras > 1 parto      c. No sabe

28. **¿Disposición de placentas y fetos abortados?**

- a) La quema o entierra      b) No se recogen      C) Otro \_\_\_\_\_

29. **% de Mortalidad en Crías**

- a) Menos del 10%      b) Entre el 10 y 20%      c) Mas del 20%

30. **% de Crías nacidas débiles, prematuras o con bajo peso al nacer**

- a) Menos del 10%      b) Entre el 10 y 20%      c) Mas del 20%

31. **¿Existe alguna sintomatología evidente/predominante?**

---

32. **¿Existe algún control para animales de nuevo ingreso?**

Sí

No

- a) ¿Cuál?