

Anticuerpos contra *Leptospira* spp en caprinos lecheros en Guanajuato, México

ANTIBODIES AGAINST *Leptospira* spp IN DAIRY GOATS IN GUANAJUATO, MEXICO

Miguel Ángel Luna Álvarez^{1,4}, Guadalupe Socci Escatell¹, José Javier Morales Arzate², José Manuel Oliveros Ibarra², Eva María Luna Rivera³

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo determinar el perfil serológico de anticuerpos contra leptospirosis en dos unidades caprinas de producción lechera en Apaseo el Alto, municipio de Guanajuato, México en 2014. Se trabajó con animales de las razas Saanen, Alpina, Nubia y Toggenburg categorizados por edad para el muestreo aleatorio. Para la detección de anticuerpos contra *Leptospira* se utilizó la prueba de aglutinación microscópica (MAT) con antígeno vivo propuesta por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se utilizaron 12 serovariedades de *Leptospira* spp, y se consideraron como positivos los sueros con títulos iguales o mayores a 1:100. El 68.3% (41/60) de las muestras de la Unidad «A» resultaron positivas, con títulos entre 1:100 y 1:1600, en tanto que el 72.4% (97/134) de las muestras de la Unidad «B» resultaron positivas, con títulos entre 1:100 y 1:800. La frecuencia de animales positivos por edad varió entre 20% (en el caso de cabritos) y 100% (en animales adultos). Se concluye que los anticuerpos anti-*Leptospira* fueron altos y que se generaron por un proceso infeccioso, dado que los animales nunca fueron vacunados contra la enfermedad.

Palabras clave: leptospirosis; abortos; serología; caprinos; zoonosis

¹ Laboratorio de Leptospirosis, CENID-Microbiología Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), Palo alto CDMX, México

² Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Guanajuato, México

³ Laboratorio de Biología Molecular, Hospital Central Sur Pemex-Picacho, CDMX, México

⁴ E-mail: luamvet@gmail.com

Recibido: 1 de febrero de 2018

Aceptado para publicación: 2 de abril de 2018

ABSTRACT

The study aimed to determine the serological profile of antibodies against leptospirosis in two dairy goat units in Apaseo el Alto, Guanajuato, Mexico in 2014. Saanen, Alpine, Nubian and Toggenburg goats were classified according to age for random sampling. The microscopic agglutination test (MAT) with live antigen proposed by the World Organisation for Animal Health (OIE) and the World Health Organization (WHO) were used for detecting anti-*Leptospira* antibodies. Twelve serovars of *Leptospira* spp were used and animals with equal or higher titres of 1:100 were considered positive. Results showed that 68.3% (41/60) of samples of Unit «A» were positive, with titres from 1:100 to 1:1600, while 72.4% (97/134) of samples of Unit «B» were positive, with titres between 1:100 to 1:800. Frequencies of positive animals according to age ranged from 20% in kids and 100% in adults. It is concluded that the anti-*Leptospira* antibodies were high and were generated by an infectious process since the animals were never vaccinated against the disease.

Key words: leptospirosis; abortions; serology; goats; zoonosis

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad de origen animal que puede afectar accidentalmente al hombre. Es causada por bacterias del género *Leptospira*, especie *L. interrogans*. Se caracteriza por provocar trastornos de tipo reproductivo en el ganado, tales como reabsorciones embrionarias, abortos, retenciones placentarias, mortinatos y muerte perinatal. La bacteria penetra al organismo del hospedero a través de mucosas y piel lacerada o reblandecida. Asimismo, puede ser eliminada a través de la orina y secreciones pos-aborto de animales infectados (Acha y Szyfres, 2001; Adler y De la Peña, 2010).

En el ser humano, la leptospirosis o enfermedad de Weil es capaz de ocasionar trastornos febriles, hepático-renales, ictericia, neumonías, hemorragias pulmonares, hemoptisis, trastornos circulatorios, insuficiencia cardíaca y muerte (Zavala *et al.*, 2008; Seijo *et al.*, 2011). En México, el Sector Salud, por medio de la Secretaría de Salubridad y Asistencia, la consideró una enfermedad de im-

portancia por estar presente a nivel mundial en poblaciones marginadas por pobreza y en zonas carentes de servicios públicos, así como por presentarse en desastres naturales tales como inundaciones y terremotos (Acha y Szyfres, 2001). Es así, que se establecieron una serie de estrategias de control en la norma oficial mexicana NOM-029-SSA2-1999, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de la leptospirosis humana y la incluyó como zoonosis en la NOM-017-SSA-2012, para la vigilancia epidemiológica. Así como en el proyecto de norma oficial mexicana PROY-NOM-029-SSA2-2014, para la prevención y control de la leptospirosis en el humano.

Con respecto a la salud animal, el impacto de la leptospirosis como enfermedad reproductiva se ha visto reflejada principalmente en el ganado bovino, donde la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) desarrolló estrategias para su control, descritas en la norma oficial mexicana NOM-038-ZOO-1995 requisitos mínimos para la elaboración de bacterinas empleadas en la prevención y control de la leptospirosis bovina

(NOM, 1996). Sin embargo, se desconoce la importancia de esta enfermedad en otras especies de interés productivo como en pequeños rumiantes. En caprinos no solo se carece de normas o estrategias preventivas para su control, sino que además no existe un producto biológico en el país para prevenir la enfermedad. Asimismo, se desconoce el papel de la cabra como reservorio y transmisor de la infección a otras especies, incluyendo al hombre. La literatura especializada únicamente menciona la similitud que existe con la leptospirosis bovina y ovina, y reporta a la cabra como una de las especies más ‘resistentes’ a la infección (Manual Merck, 1981; Faine, 1982; Hagan y Bruner, 1983). No obstante, algunos autores difieren en este concepto y consideran a la leptospirosis en pequeños rumiantes como una enfermedad relevante que provoca un impacto negativo en la productividad de los rebaños (Lilenbaum *et al.*, 2007).

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp en suero de cabras lecheras, utilizando la técnica diagnóstica de referencia internacional de aglutinación microscópica (MAT).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un muestreo transversal por oportunidad en animales de dos unidades de producción caprina especializadas en la producción de leche, localizadas en Apaseo el Alto, municipio de Guanajuato, México en 2014. Las unidades contaban con certificado de «rebaño libre de Brucella» y realizaban control de *Chlamydia*, pero continuaban presentando trastornos reproductivos persistentes. En estas unidades no se vacuó contra leptospirosis. Las cabras fueron de las razas Saanen, Alpina, Nubia y Toggenburg.

Los animales fueron estratificados por edad (2, 3, 4, 5, 6 y 9 meses; 1, 2, 3, 5 años y sementales) para el muestreo aleatorio.

El tamaño de muestra se obtuvo considerando una prevalencia de la enfermedad del 60% según lo reportado para ganado ovino en la región (Luna *et al.*, 2014). En la unidad «A» se tomaron 60 muestras de un total de 240 animales (25%) y en la unidad «B» se tomaron 134 muestras de 400 animales (33.5%). Las muestras se tomaron de la vena yugular en tubos tipo vacuntainer y fueron centrifugadas a 3000 rpm. Los sueros se decantaron en crioviales y fueron mantenidos a -20 °C hasta su uso en el laboratorio.

Para la detección de anticuerpos contra *Leptospira* se utilizó la prueba diagnóstica de micro-aglutinación (MAT), propuesta por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2008) y la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013), utilizando 12 serovariedades de *Leptospira* spp (Cuadro 1). De estas, nueve serovariedades eran de referencia internacional, provenientes del Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis (Queensland, Australia) y tres serovariedades aisladas en la región norte y centro de México, tipificadas en el Departamento de Agricultura de Estados Unidos de Norteamérica (Dra Carole A. Bolin, USDA, Ames, Iowa, 1993).

Los sueros fueron trabajados en diluciones de 1:50 en adelante hasta dilución final, en placas de 96 pozos y las reacciones fueron observadas al microscopio de campo oscuro (Carl Zeiss Axiostar Plus, Alemania) a 160X. Todas las pruebas se realizaron en el laboratorio de leptospirosis del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal (CENID-Microbiología Animal) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Ciudad de México.

Cuadro 1. Serovariedades de *Leptospira* de referencia internacional¹ y de aislados nacionales² utilizados como antígenos para el diagnóstico en la prueba de MAT

Especie	Serogrupo	Serovariedad	Cepa
<i>L. interrogans</i> ¹	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
<i>L. interrogans</i> ¹	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<i>L. kirshneri</i> ¹	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moska V
<i>L. interrogans</i> ¹	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
<i>L. interrogans</i> ¹	Pomona	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i> ¹	Sejroe	Wolffi	3705
<i>L. interrogans</i> ¹	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. borgpetersenii</i> ¹	Tarassovi	Tarassovi	Perepelicin
<i>L. interrogans</i> ¹	Australis	Bratislava	Jez-Bratislava
<i>L. interrogans</i> ²	Sejroe	Hardjo	H-89
<i>L. interrogans</i> ²	Icterohaemorrhagie	Icterohaemorrhagiae	Palo Alto
<i>L. interrogans</i> ²	Canicola	Portland-vere	Sinaloa ACR

¹ <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira>

Cuadro 2. Distribución porcentual de los títulos de anticuerpos contra leptospirosis de casos positivos ($\geq 1:100$) en dos unidades de producción caprina, en Apaseo el Alto, municipio de Guanajuato, México (2014)

Título de anticuerpos	Interpretación del título de anticuerpos ¹	Unidad "A" (%)	Unidad "B" (%)
1:100	Positivo/bajo	51.3	65.6
1:200	Positivo /bajo	28.2	16.4
1:400	Positivo alto/moderado	17.9	16.9
1:800	Positivo alto /moderado	1.3	1.1
1:1600	Positivo alto	1.3	0.0

¹ Zamora y Riedemann (1986)

Los criterios de evaluación e interpretación de los títulos de anticuerpos fueron divididos en: a) Evento negativo o sueros sin reacción; b) Evento sospechoso: sueros con títulos 1:50; c) Evento positivo: sueros con títulos $\geq 1:100$. Asimismo, los títulos de 1:100

a 1:200 fueron considerados positivos bajos e indicativos de posible infección, de 1:400 a 1:800 como positivos altos/moderados e indicativos de infección y de 1:1600 en adelante como positivos altos e indicativos de infección y posible estado de portador (Zamora y Riedemann, 1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 68.3% (41/60) de las muestras de cabras de la unidad «A» resultaron positivas a anticuerpos contra leptospirosis. Por otra parte, el 72.4% (97/134) de las muestras de cabras de la unidad «B» fueron positivas (Figura 1). Los títulos de anticuerpos de los animales de la unidad «A» oscilaron entre 1:100 y 1:1600, y los de la unidad «B» entre 1:100 y 1:800 (Cuadro 2).

Las frecuencias de animales positivos por grupo etario en las dos unidades en estudio se presentan en la Figura 2. Las frecuencias variaron entre 20 a 100%. La menor frecuencia se presentó en hembras de dos meses de edad y se fue incrementando con la edad de las cabras, alcanzando el 100% en animales de 9 a 12 meses. Asimismo, se observó una disminución en la frecuencia en animales de 2-3 años. Los sementales presentaron una seropositividad que varió de 54.5% (Unidad «B») a 90% (Unidad «A»).

Las muestras de animales de la Unidad «A» reaccionaron con títulos positivos contra cinco serovariedades, siendo las más frecuentes *Icterohaemorrhagiae* cepa Palo Alto (aislado), *Canicola* Portland-vere (aislado), *Hardjo* cepa H-89 (aislado), *Grippotyphosa* (Figura 3). Los animales de la unidad «B» reaccionaron contra seis serovariedades, siendo las más frecuentes *Bratislava*, *Icterohaemorrhagiae* cepa Palo Alto (aislado), *Canicola* Hond Utrecht IV y *Canicola* serovariedad Portland-vere (aislado) (Figura 3).

La respuesta serológica positiva y las serovariedades involucradas permite inferir que la infección está afectando animales de ambos rebaños en forma similar; lo cual podría deberse a la cercanía de instalaciones (menor a 1 km) así como al préstamo, manejo y compra venta de animales que se realiza entre los propietarios de ambas unidades de producción.

Con respecto a la frecuencia de anticuerpos en los primeros 3-4 meses de vida se debe considerar la protección pasiva transmitida por las madres, la cual ocurre hasta los 4 meses en bovinos (Rebhum, 1999; Gómez, 2005), debiendo disminuir con el avance de la edad. Sin embargo, en este estudio se observó lo contrario, pues la frecuencia y los títulos de anticuerpos se incrementan de los 5-6 meses en adelante, en respuesta a una posible infección en el rebaño. A partir del año de edad, los títulos se mantienen oscilantes, debido probablemente a la circulación de la bacteria dentro del rebaño y a la respuesta inmune del organismo en un esfuerzo por controlar la infección. Los títulos en animales de 2-3 años son interrogantes al encontrarse disminuidos probablemente por ser hembras gestantes y tener disminución inmunológica para la implantación correcta del producto y «secuestro de anticuerpos» por la glándula mamaria al prepararse para la lactación (Mallard *et al.*, 1998).

Con respecto a la alta frecuencia de serovariedades como *Icterohaemorrhagiae*, *Bratislava* y *Canicola* y cuyas especies portadoras en la naturaleza son ratas y perros, se reportó la observación de ratas en bodegas y dentro de los corrales. La presencia de perros dentro de las granjas también fue común, al ser utilizados como mascotas y guardianes de las instalaciones por los propietarios de las granjas en estudio.

Las reacciones cruzadas, coaglutinación o reacciones paradójicas contra 3, 4 o más serovariedades tienden a ser frecuentes en sueros positivos altos en la técnica de MAT; es así que mientras más altos son los títulos positivos, más reacciones de coaglutinación tienden a observarse debido a los antígenos de superficie que comparten las bacterias del género *Leptospira* (Levett, 2001).

Se concluye que fue posible detectar la presencia de anticuerpos anti-leptospira por la prueba de MAT en los rebaños muestreados. Estos fueron generados por un

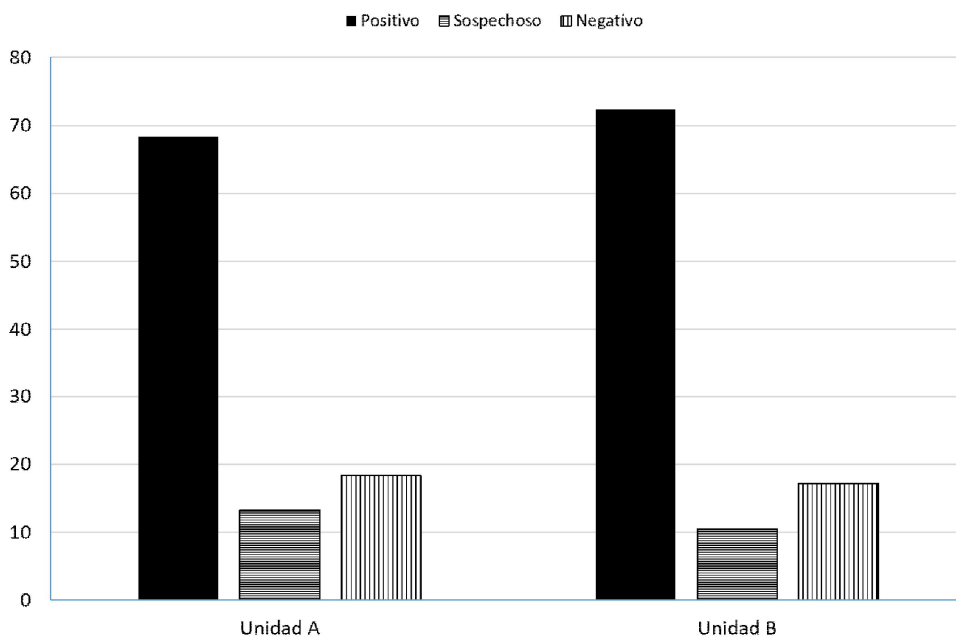


Figura 1. Frecuencia (%) de leptospirosis caprina en dos unidades de producción en Apaseo el Alto, municipio de Guanajuato, México (2014)

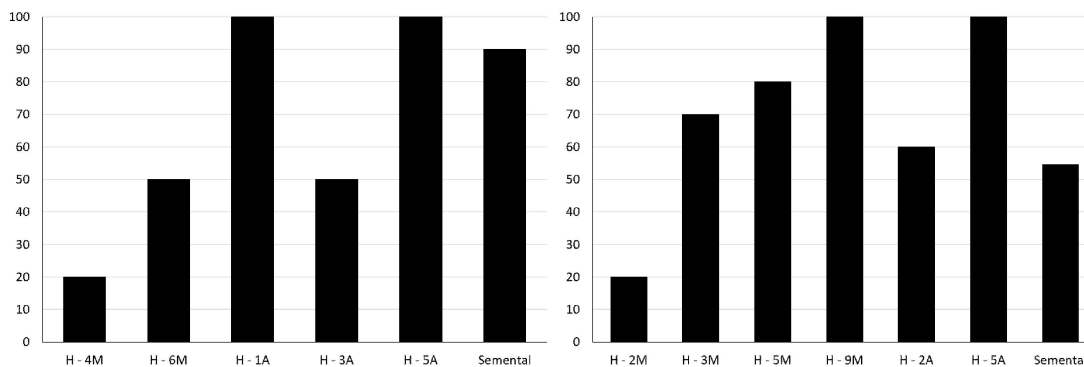


Figura 2. Frecuencia (%) de cabras positivas a anticuerpos contra *Leptospira* en dos unidades de producción caprina (Unidad «A», lado izquierdo; Unidad «B», lado derecho), en Apaseo el Alto, municipio de Guanajuato, México, según el grupo etario (2014) (H: hembra; M: meses de edad; A: años de edad)

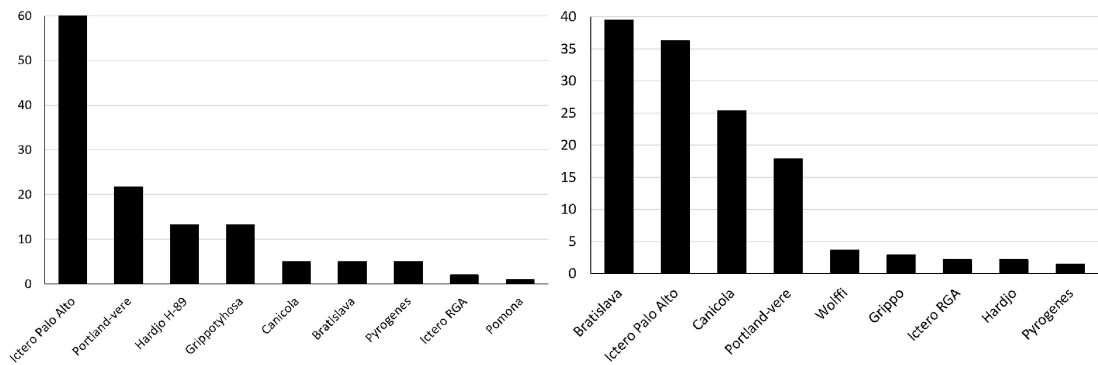


Figura 3. Frecuencia (%) de cabras positivas a anticuerpos contra leptospirosis, según la serovariedad, en dos unidades de producción caprina (Unidad «A», lado izquierdo; Unidad «B», lado derecho), en Apaseo el Alto, municipio de Guanajuato, México

proceso infeccioso, ya que estos animales nunca fueron vacunados contra *Leptospira*. Los títulos altos de anticuerpos podrían estar asociados a la presencia del microorganismo y con algunos de los trastornos reproductivos reportados. Se recomienda establecer un programa de vacunación y aplicación de antibióticos para el control de la enfermedad en estas unidades de producción.

LITERATURA CITADA

1. **Acha P, Szyfres B. 2001.** Leptospirosis. En: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3^o ed. Washington DC: OPS. p 175-186.
2. **Adler B, de la Peña-Moctezuma A. 2010.** Leptospira and leptospirosis. Vet Microbiol 140: 287-296. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.03.012
3. **Faine S. 1982.** Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization. WHO Offset Publication No. 67. p 171.
4. **Gómez M. 2005.** Determinación de anticuerpos maternos transferidos a becerros nacidos de vacas vacunadas contra leptospirosis en un rancho de Atilaquia, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. México: Univ. Nacional Autónoma de México. 41 p.
5. **Hagan W, Bruner D. 1981.** Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 4^a ed. La Prensa Médica Mexicana. 816 p.
6. **Lilenbaum W, Morais ZM, Goncales AP, Souza GO, Richtzenhain L, Vasconcellos SA. 2007.** First isolation of leptospires from dairy goats in Brazil. Braz J Microbiol 38: 507-510. doi: 10.1590/S1517-83822007000300023
7. **Levett P. 2001.** Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 14: 296-326. doi: 10.1128/CMR.14.2.296-326.2001
8. **Luna AMA, Socci EG, Banda RV, Santos ME, Luna REM, Gavaldón RD, Moles CLP. 2014.** Frecuencia de anticuerpos de leptospirosis en ovinos y control de la enfermedad por medio de vacunación. Entorno Ganadero BM Editores No. 66: 101-110.
9. **Mallard BA, Dekkers JC, Ireland MJ, Leslie KE, Sharif S, Vankampen CL, Wagter L, Wilkie BN. 1998.** Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. J Dairy Sci 81: 585-595. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75612-7
10. **Manual Merck de Veterinaria. 1988.** Leptospirosis. 4^a ed. Madrid: Ed Centrum Técnicas. 1918 p.

11. [NOM] *Norma Oficial Mexicana NOM-038-ZOO-1995 Requisitos mínimos para las bacterinas empleadas en la prevención y control de la leptospirosis bovina.* 1996. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. [Internet]. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4894680&fecha=05/08/1996
12. [NOM] *Norma Oficial Mexicana NOM-029-SSA2-1999, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de la leptospirosis en el humano.* 1999. México: Secretaría de Salud [Internet]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/029ssa29.html>
13. [NOM] *Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA-2012 para la vigilancia epidemiológica.* 2012. México: Secretaría de Salud. [Internet]. Disponible en: <http://vpn.salud.df.gob.mx:88/transparencia/art14frac1/Normalidad%20SSPDF/NOM-017-SSA2-2012.pdf>
14. [NOM] *Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-029-SSA2-2014 para la prevención y control de la leptospirosis en el humano.* 2014. México: Secretaría de Salud. [Internet]. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5422281&fecha=07/01/2016&print=true
15. [OIE] *Organización Mundial de Sanidad Animal.* 2008. Leptospirosis. París: OIE [Internet]. Disponible en: http://web.oie.int/eng/normes/MANUAL/2008/pdf/2.01.09_LEPTO.pdf
16. *Rebhum W.* 1999. Enfermedades del ganado vacuno lechero Zaragoza, España: Acribia. 78 p.
17. *Seijo A, Romer Y, San Juan J, Prieto R, Nogueras M, De Vedia L, Font L, Giamperetti S.* 2011. Neumonía aguda de la comunidad y hemorragia pulmonar por leptospirosis en el área metropolitana Buenos Aires. *Medicina (B. Aires)* 71: 127-134.
18. [WHO] *World Health Organization.* 2013. Zoonoses. Leptospirosis. [Internet]. Disponible en: <http://www.who.int/zoonoses/diseases/leptospirosis/en/>
19. *Zamora J, Riedemann S.* 1986. Consideraciones para la interpretación de la prueba de aglutinación microscópica en el diagnóstico de la leptospirosis bovina. *Arch Med Vet* 18: 145-147.
20. *Zavala J, Cárdenas M, Vado I, Cetina M, Cano J, Laviada H.* 2008. Hemorrhagic pulmonary leptospirosis: three cases from the Yucatan peninsula, México. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 404-408.