



UNIVERSIDAD TECNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE**

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNÍSTA

TEMA:

**DETERMINACIÓN DE LA DINÁMICA DE APARICIÓN DE
ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRA PATÓGENA EN TERNEROS
SUSCEPTIBLES BAJO CONDICIONES NATURALES DE MANEJO EN
UN HATO BOVINO DEL CANTON 24 DE MAYO - MANABÍ**

AUTORES:

**MOREIRA MERA JORDY ESTEEVEN
ZAMBRANO MACÍAS ERICK JAIR**

TUTOR:

Dr. VICTOR MONTES ZAMBRANO

SANTA ANA – MANABÍ – ECUADOR

2021

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado, en primer lugar, a Dios, por haberme permitido llegar a realizar mis sueños. A mi Familia, a mis Padres los cuales me han apoyado firmemente a alcanzar mis metas. A mis hermanos que me han acompañado en este caminar. A todas las personas que me han acompañado, ayudado y aconsejado para seguir adelante. A mi compañero de tesis que siempre ha estado firme en cada paso que dimos en el trabajo.

A mi tutor el cual nos ha apoyado, ayudado y aconsejado, siempre en este proyecto.

Y porque no dedicarle este trabajo y esfuerzo una vez más a mis Padres, ya que, gracias a su apoyo, sus consejos y esfuerzos, han hecho posible alcanzar este sueño.

JORDY ESTEEVEN MOREIRA MERA

DEDICATORIA

En primer lugar doy gracias a Dios por darme las fuerzas necesarias para luchar cada día por darme el aliento para seguir este camino que me he trazado ya que sin su ayuda no hubiera llegado hasta donde estoy, a mis padres por apoyarme en todo este proceso, por animarme en los momentos duros, y levantarme en los momentos más difíciles, y así con su ayuda proseguir en mi carrera universitaria, a mi hermana por estar presente en todo este proceso, a mi novia por el apoyo emocional durante todo el asunto, a mi compañero de tesis por el arduo trabajo que realizamos sin detenernos.

A mi docente, tutor e instructor de tesis el Dr. Víctor Montes Zambrano por guiarme en todo el proceso, impartiendo sus conocimientos, además le estoy muy agradecido por instruirme en una formación responsable y correcta.

Este logro se lo dedico a mis padres porque reiteradamente estuvieron apoyándome en todo momento y esto es por ellos y de todo corazón es dedicado este triunfo.

ERICK JAIR ZAMBRANO MACÍAS

AGRADECIMIENTO

Agradecemos primeramente a Dios que nos dio la fortaleza para realizar este trabajo de investigación, a nuestras familias que continuamente nos apoyaron en el transcurso de la carrera en todos los ámbitos.

Al dueño del predio, Señor Jimmy Egberto Madrid Cárdenas por prestar los animales para esta investigación, conjuntamente con los vaqueros que nos ayudaron en todo lo que necesitábamos en el momento del trabajo de campo.

A nuestro tutor de tesis, Dr. Víctor Montes Zambrano por guiarnos en todo el proceso, impartiendo sus conocimientos, además le agradecemos por instruirnos en una formación responsable y correcta.

Al proyecto de investigación titulado “Leptospiras patógenas presentes en animales domésticos y silvestres de tres cantones de la provincia de Manabí: características genómicas, dinámica de eliminación y su distribución en el ambiente” liderado por el Dr. Víctor Montes Zambrano, que nos acogió y nos benefició con una beca de investigación concedida por la Universidad Técnica de Manabí, que permitió cubrir parte de los gastos de esta tesis.

Al Dr. Jimmy Álava Moreira, por su ayuda y colaboración en la realización de este trabajo.

Agradezco a las personas que fueron participes de este trabajo de investigación, aquellos que pusieron un granito de arena en la toma y procesamiento de las muestras obtenidas de los animales, para que así esta investigación fuera posible.

JORDY MOREIRA & ERICK ZAMBRANO

CERTIFICACIÓN

Dr. Víctor Montes Zambrano, Certifica que el trabajo de titulación en la Modalidad Proyecto de Investigación titulada: “DETERMINACIÓN DE LA DINÁMICA DE APARICIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRA PATÓGENA EN TERNEROS SUSCEPTIBLES BAJO CONDICIONES NATURALES DE MANEJO EN UN HATO BOVINO DEL CANTON 24 DE MAYO - MANABÍ”, es trabajo original de los Señores: Moreira Mera Jordy Esteeven y Zambrano Macías Erick Jair, el que ha sido realizado bajo mi supervisión.

Dr. Víctor Montes Zambrano PhD
TUTOR DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

**“DETERMINACIÓN DE LA DINÁMICA DE APARICIÓN DE
ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRA PATÓGENA EN TERNEROS
SUSCEPTIBLES BAJO CONDICIONES NATURALES DE MANEJO EN
UN HATO BOVINO DEL CANTON 24 DE MAYO - MANABÍ”**

Sometida a consideración del tribunal de defensa designado por el H. Consejo
Directivo como requisito previo a la obtención del título de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL TRIBUNAL DE DEFENSA

**Dr. Edis Macías Rodríguez Ph.D
DECANO-PRESIDENTE**

**Dr. Víctor Montes Zambrano Ph.D
TUTOR DE TITULACIÓN**

**Dr. Daniel Burgos Macías
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Dra. Laura De La Cruz Veliz Mg Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Dra. Marina Zambrano Aguayo Ph.D
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

DECLARACIÓN DE AUTORIA

Jordy Esteeven Moreira Mera y Erick Jair Zambrano Macías, declaramos que la investigación titulada “DETERMINACIÓN DE LA DINÁMICA DE APARICIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRA PATÓGENA EN TERNEROS SUSCEPTIBLES BAJO CONDICIONES NATURALES DE MANEJO EN UN HATO BOVINO DEL CANTON 24 DE MAYO – MANABÍ” es un trabajo original de nuestra autoría.

Los autores concedemos a la Universidad Técnica de Manabí, permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de los autores.

Jordy Moreira Mera

Erick Zambrano Macías

ÍNDICE

RESUMEN	IV
SUMMARY	V
I. INTRODUCCION.....	6
II. ANTECEDENTES	8
III. JUSTIFICACION.....	10
IV. HIPÓTESIS	11
V. OBJETIVOS.....	12
5.1. Objetivo General	12
5.2. Objetivos Específicos.....	12
VI. MARCO TEÓRICO	13
6.1. Aspectos Históricos.....	13
6.2. Generalidades	13
6.3. Taxonomía y clasificación	15
6.4. Etiología	15
6.5. Distribución	15
6.6. Epidemiología	16
6.6.1. Reservorio	16
6.6.2. Transmisión	17
6.6.3. Vías de transmisión	17
6.6.4. Factores de riesgo	18
6.7. Biología de la Infección	19
6.7.1. Patogenia.....	19
6.7.2. Signos Clínicos	19
6.7.3. Cuadro Clínico.....	20
6.8. Leptospirosis en Terneros	20
6.9. Respuesta Inmunológica	21
6.10. Presentación de Anticuerpos	22
6.11. Diagnóstico.....	23
6.12. Prueba Diagnóstica.....	23
6.13. Medidas de Control	24
VII. DISEÑO METODOLÓGICO	26
7.1. Ubicación.....	26
7.2. Tipo de estudio y tamaño muestral	26
7.3. Criterios de Inclusión	26
7.4. Criterios de Exclusión	27
7.5. Toma y procesamiento de muestra.....	27

7.6.	Prueba Diagnóstica.....	27
7.7.	Análisis estadístico.....	28
VIII.	PRESENTACIÓN DE RESULTADOS, ANALISIS E INTERPRETACIÓN	29
8.1.	Característica de los animales seleccionados	29
8.2.	Estatus de exposición a leptospira patógena de los terneros y madres seleccionadas en el momento 1	29
8.3.	Serovares presente en los terneros en el momento 1.....	30
8.4.	Serovares que co-aglutinaron con mayor frecuencia en terneros en el momento 1	30
8.5.	Anticuerpos contra leptospira patógena presentes en terneros y en las madres en el M1	31
8.6.	Persistencia de anticuerpos contra leptospira en terneros en condiciones naturales de manejo.	32
8.7.	Presentación de los nuevos casos de exposición a leptospira patógena...33	
IX.	DISCUSIÓN	35
X.	CONCLUSIONES.....	38
XI.	RECOMENDACIONES	39
XII.	PRESUPUESTO.....	40
XIII.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	42
XIV.	BIBLIOGRAFÍA.....	43
XV.	ANEXOS.....	48

INDICE DE TABLA

Tabla 1 Características de los terneros seleccionados para el estudio.....	29
Tabla 2 Estatus de exposición en madres y terneros en el momento 1 dentro del hato lechero.....	29
Tabla 3 Serovares presente en terneros seleccionados en el M1 de evaluación.....	30
Tabla 4 Grupos de serovares que co-aglutinaron en los terneros seleccionados.....	31
Tabla 5 Anticuerpos contra leptospira identificados en Madres y terneros en el momento 1 de evaluación.....	32
Tabla 6 Resumen de los resultados obtenidos en los 27 terneros utilizados en el estudio.....	33
Tabla 7 Cálculo de TI(1) de exposición a leptospira patógena a partir de los terneros negativos en el M1.....	34
Tabla 8 Cálculo de TI(2) de exposición a leptospira patógena a partir de los terneros negativos en el M2 de evaluación a leptospira patógena.....	34

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de gran impacto, tanto a nivel productivo como reproductivo y está presente en casi todo el mundo, con predisposición en climas tropicales, subtropicales y húmedos. Esta enfermedad es causada por una bacteria del género *Leptospira*, la cual es capaz de afectar tanto a los animales domésticos, salvajes e incluso al hombre, por lo que representa uno de los mayores riesgos tanto a nivel económico como en salud animal y pública. Este estudio tuvo como propósito, determinar la dinámica de aparición de anticuerpos contra leptospira patógena en terneros susceptibles bajo condiciones naturales de manejo en un hato bovino del cantón 24 de Mayo – Manabí, los cuales tenían un cruce racial integrado por Brown Swiss y Brahman, donde no manejaban protocolo de control contra leptospira y los terneros vivían conjuntamente con las madres los primeros meses de crecimiento. Se utilizó la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) como prueba diagnóstica, observando un 70,4% de exposición en el momento 1 (M1) a leptospira patógena; existió una relación del 4% entre los anticuerpos maternos y los observados en los terneros; una tasa de incidencia de 1 animal expuesto por cada 439 animales días en riesgo fue identificada; los serovares más frecuentes fueron: Wolffii (15,8%), Hardjo y Canicola (10,5%); existió una persistencia reducida de anticuerpos en los terneros a través de tiempo, imposibilitando su seguimiento y evaluación; concluyendo que los anticuerpos contra leptospira, están presentes en los terneros de esta zona geográfica, y pertenecen a serovares diferentes a los conocidos como adaptados a la especie bovina, lo que daría a pensar la existencia de una libre circulación de diversas cepas en los bovinos de este predio y región geográfica de Manabí.

SUMMARY

Leptospirosis is a zoonotic disease of great impact, both at a productive and reproductive level, and is present almost everywhere in the world, with a predisposition in tropical, subtropical and humid climates. This disease is caused by a bacterium of the genus *Leptospira*, which is capable of affecting domestic and wild animals and even humans, and therefore represents one of the greatest risks both economically and in terms of animal and public health. The purpose of this study was to determine the dynamics of the appearance of antibodies against pathogenic leptospira in susceptible calves under natural management conditions in a bovine herd of 24 de Mayo - Manabi, which had a crossbreed composed of Brown Swiss and Brahman, where there was no control protocol against leptospira and the calves lived together with their mothers during the first months of growth. The Microscopic Agglutination Technique (MAT) was used as diagnostic test, observing 70.4% exposure at time 1 (M1) to pathogenic leptospira; there was a 4% ratio between maternal antibodies and those observed in the calves; an incidence rate of 1 exposed animal per 439 animals days at risk was identified; the most frequent serovars were: Wolffii (15.8%), Hardjo and Canicola (10.5%); there was a reduced persistence of antibodies in calves over time, making it impossible to follow up and evaluate; concluding that antibodies against leptospira, are present in calves in this geographical area, and belong to serovars different from those known as adapted to the bovine species, which would lead to think the existence of a free circulation of various strains in cattle in this farm and geographical region of Manabi.

I. INTRODUCCION

La leptospirosis a lo largo de la historia ha recibido diferentes denominaciones, entre las más comunes son: enfermedad de los cultivadores de arroz, enfermedad de los criadores de puercos y fiebre de otoño (Pacheco, 2015). Esta enfermedad es producida por una espiroqueta del género *Leptospira*, que afecta tanto a los animales silvestre, domésticos, y también al hombre. Castillo (2014) menciona que la leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, que se encuentra presente en casi todo el mundo con excepción de la Antártica. Siendo los países tropicales y subtropicales los más afectados, ya que estos prestan condiciones favorables para la supervivencia del agente infeccioso.

Romero y Col. (2016) mencionan que el hombre y los animales padecen de igual manera la enfermedad, siendo considerada una de las zoonosis más desatendidas en el mundo. Según Pacheco (2015) indica que todas las especies de mamíferos son susceptibles a una infección aguda o crónica de la enfermedad, ya que existen hospedadores de mantención o incidentales de la bacteria que permiten la subsistencia y supervivencia en el medio ambiente.

Cabe destacar que los numerosos factores ambientales, sociales y económicos son determinantes en la presentación de casos y brotes epidémicos de la enfermedad, estos últimos son más frecuentes durante desastres naturales, principalmente cuando hay inundaciones o periodos de lluvias intensas, por lo que la presencia de animales de producción y domésticos sin control sanitario, serán consecuentes para una problemática económica y de Salud Pública (Moral y Col., 2014). Esta bacteria se mantiene en la naturaleza en animales crónicos que son portadores asintomáticos y eliminan el microorganismo por la orina contaminando así el medio ambiente. Los animales de cría (bovinos, ovinos, porcinos, equinos, caprinos) y los animales silvestres, sirven de reservorios de importancia en la zona rural, mientras que los roedores y los perros lo son, en el área urbana.

Ellis (1994) menciona que, en el caso de las infecciones accidentales a leptospira patógena, el ganado bovino puede infectarse a serovares distintos a los reportados

como adaptados a esta especie. Por otro lado, la leptospira, en nuestra región tiene una presentación muy elevada, y se conoce que los serovares que se presenta con mayor frecuencia en algunos cantones de Manabí es Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Canicola, Grippotyphosa y Pomona (Meza y Moreira, 2014; Burgos y Col. 2019).

El diagnóstico de esta enfermedad se basa principalmente en la identificación del agente infeccioso, mediante métodos microbiológicos, moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), e indirectos por medio serológicos como la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) la cual es considerada la prueba Gold Standard, para la detección de anticuerpos contra leptospira en humanos, ya que posee alta sensibilidad y especificidad (Revelo, 2016). La MAT como prueba individual en animales, es útil para detectar la presencia de anticuerpos considerando a un animal como positivo cuando existe un incremento de cuatro veces en los títulos de anticuerpos en sueros pareados de animales con infección aguda o convalecientes, constituyéndose en un diagnóstico claro de la enfermedad (OIE, 2018).

La duración de los anticuerpos en sangre de los bovinos expuestos a la bacteria de forma natural o artificial es muy variable. Reportes en terneros, muestran una vida media de 15 a 17 días de duración y establecen que el MAT puede ser una prueba para su detección desde el día de nacido (Hellstrom, 1978). Con estos antecedentes y ante la poca información existente sobre la duración y velocidad de aparición de anticuerpos en los terneros en la provincia de Manabí, se plantió realizar este estudio.

II. ANTECEDENTES

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa zoonótica, causada por bacteria del género *Leptospira*, y se encuentra distribuida en varias partes del mundo, además puede afectar tanto a los animales domésticos, salvajes y al hombre, por este motivo se han realizado investigaciones referentes a esta enfermedad en la especie bovina.

En Nueva Zelanda por Hellstrom, J (1978) encontró que el 60% de los bovinos presentaron títulos a serovar Hardjo seguido de serovar Pomona y Tarassovi con el 18 y 9%, demostró además mediante este estudio que los anticuerpos maternos son observados en más del 90% de los terneros nacidos detectados por el MAT.

En Chile Leal y col. (2018) reportaron que el 22,1% de un total de 77 terneros de un rebaño lechero comercial, nacieron infectados con leptospira, demostrando una evidencia de transmisión vertical en bovinos diagnosticada por PCR, de la misma forma este estudio demostró que estos terneros positivos provenían el 70% de madres reaccionantes positivas al MAT seis meses antes del parto.

Estudios en Ecuador en la ciudad de Quito, Chiriboga (2019) evaluó el estatus sanitario de la granja experimenta de la Universidad de las Américas, reportando una exposición del 52% de un total de 77 bovinos, siendo los serovares más frecuentes Canicola (35%), Bataviae (30%) y Sejroe (36%), diagnosticados mediante MAT.

En Manabí, Meza y Moreira (2012) evaluaron la prevalencia de *Leptospira* spp. en diez hatos bovinos, obteniendo una prevalencia del 87,92%, observando que los serovares con mayor frecuencia fueron Icterohaemorrhagiae con 23,1%, Bratislava 18,7%, Canicola 17,9% y Pomona 15,4%, desconociendo la seroconversión en animales jóvenes por cuanto este estudio fue realizado en animales mayores de un año. Burgos y Col. (2019) determinaron una seroprevalencia del 97,01%, a partir de 67 hatos bovinos de la provincia de Manabí, siendo los serovares más frecuentes Pomona (27,99%), Icterohaemorrhagiae (21,55%), Grippotyphosa (18,59%),

Bratislava (17,21%) y Canicola (16,51%), diagnosticados mediante la técnica del MAT.

Sin embargo, estudios relacionados con la duración de los anticuerpos en animales naturalmente expuestos a la bacteria se desconocen, así como la dinámica de aparición, razón por la que se hace necesario investigar sobre este tema.

III. JUSTIFICACION

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica bacteriana de distribución mundial, que afecta tanto a los animales domésticos y al hombre; es una patología que tiene predisposición por los climas tropicales y subtropicales, siendo estos donde se presentan con mayor frecuencia.

La Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT), es la prueba diagnóstica recomendada por la OIE contra leptospira patógena, principalmente en individuos y en rebaños, a su vez es una prueba de fácil aplicación y de bajo costo, por lo que fue la seleccionada para este estudio,

Manabí es considerada una zona ganadera, siendo la crianza de bovinos una de las actividades más importantes de la provincia, que genera y acoge a familias de agricultores en las tareas diarias producto de esta actividad. Diversos estudios sobre la presencia de anticuerpos contra leptospira han sido realizados, reportando la presencia de una diversidad de serovares de leptospira patógenas en bovinos; sin embargo, se desconoce de estudios realizados en cuanto a la velocidad de transmisión o aparición de anticuerpos contra leptospira en terneros; por lo que es de interés el conocer esta dinámica, así como, de los serovares que estarían estando presente en terneros bajo condiciones naturales de manejo de un hato lechero bovino del cantón 24 de Mayo; por ser este cantón colindante al cantón Santa Ana donde se reportan casos de leptospira en humanos por el Ministerio de Salud Pública.

IV. HIPÓTESIS

La exposición a leptospirosis patógenas en terneros en la finca del cantón 24 de Mayo, son similares a las observadas en otras partes del mundo y está caracterizada por serovares adaptados, donde los anticuerpos presentan una persistencia a través del tiempo.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Determinar la dinámica de aparición de anticuerpos contra leptospira patógena en terneros susceptibles bajo condiciones naturales de manejo en un hato bovino del cantón 24 de Mayo – Manabí.

5.2. Objetivos Específicos

- ❖ Detectar la exposición a leptospira patógena en terneros de un hato lechero del cantón 24 de Mayo.
- ❖ Relacionar la presencia de anticuerpos contra leptospira patógena presentes en terneros y los observados en las madres en el momento 1 de evaluación.
- ❖ Determinar la Tasa de Incidencia contra leptospira patógena identificando los serovares más frecuentes a partir de una batería diagnóstica de 6 serovares.

VI. MARCO TEÓRICO

6.1. Aspectos Históricos

La leptospirosis, fue descrita por primera vez por Adolph Weil en 1886, por lo que se denomina enfermedad de Weil en honor a su descubridor (Zunino y Pizarro, 2007). Es una enfermedad que afecta a la mayoría de los mamíferos domésticos, aunque también se ha documentado en reptiles, aves, anfibios y artrópodos. En el caso de bovinos, la enfermedad causa pérdidas económicas debido a abortos, infertilidad, terneros que nacen débiles que mueren en los primeros días de vida, así como una disminución de la producción láctea del rebaño (Draghi y Col., 2011).

La leptospirosis es una de las enfermedades zoonóticas, con una gran distribución en el mundo causantes de grandes pérdidas, tanto productiva y reproductiva en los animales de producción, además de causar problemas económicos y de salud pública en el ser humano (Laguna 2000). Esta enfermedad es conocida con diferentes nombres, como enfermedad de Weil, enfermedad de los porqueros, fiebre de los arrozales, fiebre de los cañaverales y otros nombres locales, como enfermedad de Stuttgart. Lacereaux en 1802 citado por Laguna (2000) realizó la primera descripción clínica de leptospirosis, describiendo en 1883 un caso típico con ictericia y hemorragias denominándolo tifus hepático, tres años después, en 1886, Mathieu en Francia y Weil en Alemania describen cuadros agudos febriles con ictericia y manifestaciones de agresión renal.

En Perú, el Instituto Nacional de Salud Pública inició los estudios epidemiológicos en animales y fue entre 1955 y 1957 que Herrer en un estudio en perros y gatos infectados por leptospira encontró que el 46,4% de los 444 perros estudiados, presentaban anticuerpos con títulos positivos y entre 1974 y 1975 en las localidades Tingo María, Huánuco, encontró el 19% (11/57) de muestras humanas con anticuerpos contra leptospira, conjuntamente con la observación de anticuerpos en vacunos, cerdos, cabras y perros contra leptospira patógena (Laguna, 2000).

6.2. Generalidades

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial con un comportamiento endémico, cuya infección o contagio representa no sólo un problema epidemiológico sino también económico y social. El agente infeccioso se transmite al entrar en contacto con agua y suelos contaminados a través de heridas o piel intacta. Constituye un serio problema de salud pública, en especial en aquellas zonas con saneamiento básico inadecuado donde las condiciones de trabajo y el tipo de actividad favorecen su desarrollo (Agudelo y Col., 2007).

Gómez y Col. (2014) mencionan que los miembros del género *Leptospira* son gérmenes Gram negativos, aerobios obligados y móviles, cuya temperatura óptima para su crecimiento es de 30° C, con un pH de 7,2 - 7,6, que se reproducen y se mantienen en fuentes de agua dulce, que tengan estas características y con poco movimiento. También Gómez y Col. señalan que esta pueden sobrevivir en el frío a -20° C hasta 100 días, pero son sensibles a la desecación y al calor, no sobreviven en el agua salada, en la leche normal o con pH bajo ni en la orina ácida por mucho tiempo, pero cabe considerar que el agua es absolutamente esencial para la supervivencia de estos microorganismos, por lo cual, los brotes suelen ocurrir asociados al grado de humedad del medio, siendo posible observar un incremento de la ocurrencia de la enfermedad en la época de lluvia.

La leptospirosis tiene como reservorio a los animales de vida libre como ratas, comadrejas, reptiles, entre otros, quienes actúan como portadores y eliminadores constantes por intermedio de la orina, contaminando el medio en el cual subsisten. En estos animales la bacteria puede persistir por largos períodos en los túbulos renales, estableciendo una relación simbiótica, sin evidencias de enfermedad o cambios patológicos. Un hospedador puede actuar de reservorio para más de una serovariedad y a su vez una serovariedad de leptospira puede tener hospedadores diferentes (Agudelo y Col., 2007).

6.3. Taxonomía y clasificación

Los miembros del género *Leptospira* son serológicamente heterólogos, el taxón básico es el serovar o serotipo, que se define sobre la base de similitudes y diferencias antigénicas como las reveladas en la llamada prueba de absorción de aglutinación cruzada (CAAT) (García y Col. 2013). Por lo que cada serovar tiene una conformación antigénica característica, proporcionada por antígenos superficiales localizados en la membrana externa que facilitan su clasificación. Los anticuerpos generados frente a los lipopolisacáridos de la pared celular son determinantes del serovar y tiene carácter protector, mientras que los formados frente a los antígenos profundos no son protectores ni específicos. Adler y De La Peña (2010) menciona que la leptospira se clasifica entre las bacterias de la siguiente manera:

- **Orden:** Spirochaetales
- **Familia:** *Leptospiraceae*
- **Género:** *Leptospira*
- **Especies:** *L. Interrogans* - 23 serogrupos - más de 200 serovares

L. Biflexa.

6.4. Etiología

La leptospirosis es causada por varias especies de *Leptospira*, una espiroqueta de la familia *Leptospiraceae*, del orden *Spirochaetales* (Aubrey 2005 y Chavarría y Col. 2015). De acuerdo con su estructura antigénica las leptospira se clasifican fenotípicamente en serovares (serotipos) de los cuales se reconocen más de 200 en el mundo (Rodríguez, 2000).

6.5. Distribución

Según Castillo (2014) la leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial, presente en todo el mundo a excepción de la Antártica. Guerrero (2018) menciona que los serotipos Pomona, Grypotyphosa, Hardjo e Icterohaemorrhagiae de *L. interrogans* son las principales, causantes de enfermedades en bovinos en regiones tropicales. Las serovariedades más comunes en algunos de los cantones de la

provincia de Manabí, son; Canicola, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Wolffii, Bratislava y Copenhageni (Burgos y Col., 2019).

6.6. Epidemiología

La leptospirosis es una enfermedad de presentación clínica elevada, ya que el control epidemiológico es extremadamente difícil, y el agente está presente por periodos muy largo en la parte renal, especialmente en los túbulos renales, donde es excretado por la orina, sin producir la enfermedad. Por lo que la presencia de este agente infeccioso en el ambiente, puede poner en riesgos a un gran número de especies animales y humanos (Chiriboga, 2019).

6.6.1. Reservorio

Los animales de vida libre actúan como reservorios de la leptospira, entre los que tenemos a las ratas, comadrejas, reptiles entre otros, que son portadores y eliminadores constantes a través de la orina, contaminando el medio ambiente. En estos animales, la bacteria puede persistir por largos períodos en los túbulos renales, estableciendo una relación simbiótica, sin evidencias de enfermedad o cambios patológicos (Zamora y Riedemann., 1999). Por lo que, en cuanto a las ratas el serovar característico es Icterohaemorrhagiae, en los cerdos Pomona, en el bovino Hardjo, en el perro Canicola y en los mapaches Autumnalis, sin embargo, cabe tener en cuenta que los serotipos no son necesariamente específicos de la especie animal y pueden aparecer diferentes serotipos en los animales (Laguna, 2000).

El hospedador más importante en la transmisión de la leptospira son los roedores, y cada anfitrión pueden actuar de reservorio para más de una serovariedad y a su vez una serovariedad puede tener hospedadores diferentes, generalmente cada serovariedad tiene su hospedador predilecto de mantenimiento al cual se adapta (Caputo y Col., 2018). Otros reservorios han sido incriminados como portadores, entre los cuales tenemos a los venados, ciervos, ardillas, zorros, mapaches, marsupiales y leones de mar inclusive fueron encontrados anticuerpos en crotálicos. En cuanto a las variedades que infectan a los reptiles y anfibios aparentemente no infectan al ser humano (Laguna, 2000).

6.6.2. Transmisión

González (2018) menciona que el componente más crítico en la transmisión de la enfermedad es el portador renal que elimina crónicamente la bacteria a través de la orina. Esta bacteria es muy resistente en condiciones adecuadas para su supervivencia, como aguas estancadas o áreas bajas donde hay gran humedad con baja luminosidad, con temperatura templada, pH neutro o ligeramente alcalino y presencia de materia orgánica.

6.6.3. Vías de transmisión

Las principales vías de transmisión se clasifican en:

- Horizontal
- Vertical

Horizontal directo: Esta forma de transmisión es la más frecuente en los casos de serovares adaptados como Hardjo (Ellis, 1994).

- a. Contacto directo: Esta vía es la más estudiada además de tener diversas formas, como la venérea que fue tomada en consideración después que se demostró la presencia de leptospira en semen bovino (Sandow y Ramírez, 2005).
- b. Núcleos goticulares: Tienen importancia ya que las gotas de orina, se dispersan a varios metros del animal, pudiendo penetrar la leptospira procedente de animales con leptospirosis, tanto por inhalación como por vía conjuntiva (Sandow y Ramírez, 2005).

Horizontal indirecto: Esta desempeña un papel fundamental en las infecciones accidentales ya que se produce tras la exposición al ambiente contaminado con material infectante (Ellis, 1994).

- a. Fómites: Son unos de los factores de transmisión de importancia ya que tienen contacto con el animal y humanos entre ellas podemos identificar, el agua, alimentos, pastos y suelos contaminados pueden facilitar el contacto entre ellos y el agente, la forma importante y más frecuente para la infección humana y animal es el contacto de la piel o las mucosas con aguas o barro contaminados con orina (Sandow y Ramírez, 2005).

- b. Vectores: Existen diversos autores que han evaluado la hipótesis de que los artrópodos podrían jugar un papel relevante en la transmisión mecánica del agente (Sandow y Ramírez, 2005).

Vertical

- a. Transplacentaria: El agente puede atravesar la placenta durante el período de leptospiremia.
- b. Galactófora: Puesto que la infección por serovares de leptospira Hardjo y Pomona, pueden producir una mastitis clínica, los microorganismos presentes en la glándula mamaria podrían ser excretados por la leche e infectar al ternero por vía oral.
- c. Vía oral: En humano, por la ingestión de alimentos contaminados con la orina de animales enfermos o de reservorios (Sandow y Ramírez, 2005).

6.6.4. Factores de riesgo

El factor de riesgo más frecuente es el contacto directo entre roedores y carnívoros con la fuente de alimento peri domiciliar para roedores salvajes, otro factor está asociado a diferentes ocupaciones, como por ejemplo los agricultores, limpiadores de desagües, cortadores de caña de azúcar, arroceros, militares, mineros, veterinarios. En el área urbana hay grupos poblacionales más expuestos y son aquellos que viven en áreas sujetas a inundaciones o sin saneamiento adecuado y que puedan estar en contacto con orina de roedores infectados. Las aglomeraciones de animales también pueden considerarse factores de riesgo para la ocurrencia de leptospirosis, así como las inundaciones y las copiosas lluvias principalmente de la selva tropical (Laguna, 2000).

6.7. Biología de la Infección

La leptospirosis es sostenida en la naturaleza por la infección crónica de los túbulos renales proximales, ya que un animal infectado puede permanecer libre de síntomas y excretar leptospira en su orina durante toda su vida (Cedola, 2014).

6.7.1. Patogenia

Adler y De la Peña. (2010) argumentan que la leptospira patógena ingresa al cuerpo a través de las lesiones en la piel o por la membrana mucosa, posteriormente permanece en sangre en la fase bacteriemia hasta por siete días, cuando el número de *Leptospira* en tejido y sangre aumenta y llega a un nivel crítico comienza a surgir la signología.

Al ingresar la bacteria, esta produce lesiones en el endotelio de pequeños vasos sistémicos que conduce a la isquemia localizada de órganos, pudiendo llevar a la necrosis de riñón, hígado y pulmón, asimismo de meningitis, miositis y placentitis, además como hallazgos también pueden presentar granulocitos y esplenomegalia (Adler y De la Peña, 2010).

Follmer (2017) menciona que los animales afectados pueden recuperarse, pero a su vez la bacteria es mantenida en la naturaleza por la infección crónica de los túbulos renales proximales de los huéspedes reservorios. Por lo que un animal infectado puede permanecer libre de síntomas y excretar *Leptospira* en su orina durante toda su vida.

6.7.2. Signos Clínicos

López (2011) menciona que los signos clínicos, dependerán de la edad del animal, ya que la sintomatología puede variar de acuerdo a lo siguiente:

- **Terneros:** La sintomatología más común es la aguda presentando fiebre, anorexia, conjuntivitis y diarrea. En casos severos ictericia, hemoglobinuria, anemia, neumonía o signos de meningitis como incoordinación, salivación y rigidez muscular. La muerte puede ocurrir en 3 a 5 días.

- **Adultos:** Abortos, disminución en la fertilidad y baja producción láctea, retención placentaria, infertilidad, agalactia. La producción láctea se normaliza después de 10-21 días. La ictericia está presente sólo en animales severamente afectados.

6.7.3. Cuadro Clínico

Calle y Col. (2014) y Yunes y Col. (2016) mencionan que la leptospirosis presenta diversos cuadros clínicos, que están en dependencia del serovar involucrado, del agente causal y de las condiciones inmunitarias del hospedador, en el ganado bovino puede presentarse en tres etapas, como son:

- **Leptospirosis aguda:** Esta se asocia principalmente con el serovar Pomona en animales menores de un año de edad, cursando con septicemia con fiebre elevada (40,5- 41,5°C), anemia hemolítica y hemoglobinuria y congestión pulmonar. A causa de la anemia hay taquicardia, sonidos cardiacos más fuertes y disnea prominente.
- **Leptospirosis sub-aguda:** A este cuadro clínico se asocia al serovar Hardjo, sin la presentación de signos clínicos.
- **Leptospirosis crónica:** Esta se manifiesta con signos clínicos que pueden producir aborto en el último tercio de gestación de un gran número de animales, en esta forma de la enfermedad aparecen infección fetal seguida del aborto, nacimiento de becerros prematuros débiles o pueden sobrevenir becerros clínicamente normales pero infectados.

6.8. Leptospirosis en Terneros

Calle y Col. (2014) recalca que, en los terneros la leptospirosis tiene una presentación de tipo aguda, generalmente y también de tipo subagudo en algunos casos por lo que los serovares involucrados y que generan problemas generalmente es Pomona y Hardjo.

De acuerdo con lo anterior, Salgado y Col. (2015) mencionan que existe la necesidad de aislar, preservar y caracterizar cepas de *Leptospira* para mejorar y estandarizar las técnicas de diagnóstico disponibles actualmente. Esto ayudará a

mejorar nuestra comprensión de la epidemiología y el impacto de esta infección, así como a identificar la opción óptima para la vigilancia y el control.

6.9. Respuesta Inmunológica

Antes de mencionar como actúa el sistema inmune de los terneros contra la leptospira, hay que enfatizar que, la inmunidad innata es la primera respuesta de un animal frente a un microorganismo extraño, mediante la cual se busca eliminar la infección o contenerla hasta la aparición de una respuesta inmune más específica y eficaz, como es la inmunidad adaptativa. En cuanto a los componentes de la inmunidad innata, están principales, las barreras físicas, químicas y biológicas, las células fagocitarias, ciertos linfocitos y células asesinas naturales o NK (Natural Killer) y factores solubles, que incluyen los componentes del complemento y las citoquinas que median la fagocitosis y la inflamación (Doménech, y Col., 2008).

También es importante señalar que las inmunoglobulinas (Igs), son proteínas que se encuentran en el torrente sanguíneo, son componentes del sistema inmunológico cuya función es neutralizar, opsonizar y ayudar a destruir las bacterias, así como otras partículas extrañas que hayan invadido el cuerpo, por lo cual los neonatos requieren asistencia inmune pasiva transferida por la madre a través del calostro, lo cual garantizará que el mecanismo de defensa de los neonatos sean los óptimos y viable para su subsistencia en el medio donde se desarrollara (Aricada y Col., 2004).

De igual forma es de señalar que en los rumiantes no hay paso de moléculas de inmunoglobulinas a través de la placenta, por lo que los neonatos dependen exclusivamente de los anticuerpos recibidos a través del calostro para su subsistencia (Tizard, 2009).

La mayoría de los estudios realizados se basa, únicamente en la investigación de la inmunidad humoral, tras la exposición al agente infeccioso, el cual produce una elevación de las IgM, alcanzando niveles detectables a los pocos días de la desaparición del periodo febril, que acontece durante la fase bacteriémica, es decir a los 2 a 5 días de la aparición de los signos de la enfermedad aguda (Sandow y Ramírez, 2005).

La aparición de anticuerpos específicos son detectables aproximadamente a los 10 días de la infección, junto a la acción leptospiricida de las beta-macroglobulinas del suero y la acción del complemento y la lisozima hacen que desaparezcan las leptospiras del torrente sanguíneo, pero, se localizan en diferentes órganos, tales como: la cámara anterior del ojo, las meninges y el riñón donde los anticuerpos tienen poco acceso y en el útero grávido (Ellis, 1994).

6.10. Presentación de Anticuerpos

Rodríguez. (2005) señala que los antígenos de la superficie de las leptospiras estimulan la respuesta humoral, luego de los 10 a 14 días post infección y que los primeros anticuerpos que forman son los IgM y posteriormente las IgG.

Los anticuerpos IgM dificultan la multiplicación de las leptospiras, pero no las destruyen, disminuyen poco después de la aparición de las IgM, comienzan a detectarse las IgG específicos, que producen la lisis de las leptospiras, las IgM alcanzan su pico máximo a las 3-4 semanas y las IgG a las 4- 2 semanas tras la infección (Sandow y Ramírez, 2005).

Tizard (2009) menciona que a pesar de que el período de gestación de la vaca es de 280 días el sistema inmune de los terneros se forma en las fases tempranas del desarrollo fetal, por lo que el timo fetal es reconocible a los 40 días de gestación, la médula ósea y el bazo aparecen a los 55 días, y los nódulos linfáticos a los 60, pero las placas de Peyer no se observan hasta el día 175. Los linfocitos se aprecian en la sangre periférica en los terneros fetales en el día 45, los linfocitos B IgM+ a los 59 días, y los IgG+ en los días 135. El momento de aparición de los anticuerpos séricos depende de la sensibilidad de las técnicas empleadas.

También cabe destacar que la edad del feto, sorprendentemente, no es determinante de la inmunidad. Más bien, la naturaleza del invasor es el factor clave. Por ejemplo, el feto puede producir anticuerpos a los 90 días de gestación y contra *Leptospira* a los 180 días (Grognet, 1997).

Hellstrom (1978), logró determinar que los terneros recién nacidos adquirieron títulos detectables a la prueba MAT, además de evidenciar que los títulos en los bovinos disminuyeron de manera constante, con una vida media de 15 a 17 días y que los títulos adquiridos pasivamente en terneros se atribuyeron en gran medida a los anticuerpos IgG1, mientras que la respuesta MAT del ganado infectado fue inicialmente anticuerpos IgM atribuibles, pero los anticuerpos IgG1 estuvieron involucrados dentro de la primera semana, después de la seroconversión se convirtieron en la inmunoglobulina predominante en 42 días.

6.11. Diagnóstico

El diagnóstico presuntivo de la leptospira, se basa en los signos clínicos y las nociones epidemiológicas. El aislamiento es un método muy usado para el diagnóstico de la leptospirosis, por lo cual un resultado positivo es un diagnóstico definitivo, pero un resultado negativo no permite tener la certeza de ser un verdadero negativo, debido a que el desarrollo de la infección ocurre en dos fases, leptospiremia y leptospiruria, el microorganismo puede llegar a alojarse en diferentes órganos, se excreta de forma intermitente por la orina y además se debe considerar que requiere de 72 meses aproximadamente para que se observe el crecimiento de la leptospira en el cultivo y por lo que estas desventajas tiene el aislamiento, el diagnóstico se realiza generalmente por pruebas serológicas (Calle y Col., 2014).

6.12. Prueba Diagnóstica

Prueba de aglutinación microscópica (MAT):

Es la prueba estándar para el diagnóstico contra leptospirosis principalmente en individuos y en rebaños, en infecciones agudas; el incremento de los títulos de anticuerpos en los sueros pareados de animales con infección aguda o convaleciente constituye un diagnóstico claro, pero para la obtención de un diagnóstico confiable, se deben examinar el 10% del rebaño (OIE, 2018).

Matamala (2018) menciona que la técnica serológica MAT es una herramienta de mucha utilidad siempre y cuando se tenga en cuenta el momento de la toma de la muestra; ya que los anticuerpos reaccionantes a leptospira aparecen a partir de los

7 días post-exposición, ya que el proceso de seroconversión ocurre entre la primera y segunda semana de haber sido expuesto, sin embargo, tal y como lo menciona Ochoa y Col. (2000) la técnica diagnóstica MAT tiene sus limitaciones para su ejecución e interpretación, ya que es difícil obtener resultados concordantes entre distintos laboratorios y es posible encontrar individuos seronegativos en los que se aíse el microorganismo (falsos negativos), además existe la posibilidad de reacciones cruzadas entre los distintos serotipos. Además, Bolin (2003) argumenta que otra desventaja de la prueba es que los títulos obtenidos pueden estar relacionados con vacunas que hayan sido aplicadas anteriormente, complicando la interpretación de resultados, por otro lado, estos títulos vacunales son relativamente bajos (100 a 400) y persisten por un periodo de 1 a 3 meses.

6.13. Medidas de Control

La prevención contra la leptospirosis se debe centrar en la eliminación del reservorio animal y la vacunación de los animales. En los casos de lugares de alta incidencia se debe realizar la desinfección constante y la prohibición de que animales beban de aguas contaminadas. La leptospirosis es una entidad relacionada con la presencia de vectores, especialmente ratas, por lo que el control de las mismas y la higiene ambiental son fundamentales para evitar el contagio (López, 2011).

García (2002) menciona que el control y prevención de la leptospirosis es fundamental para disminuir las pérdidas económicas y minimizar en lo posible el riesgo de infección humana por el contacto con animales infectados, por lo que la utilización de tratamientos y vacunaciones deben ir acompañado de medidas higiénico-sanitarias para que el control sea eficaz.

En cuanto a la prevención en los establecimientos productivos, se lo debe realizar mediante un permanente control de roedores y de caninos, higiene ambiental (sin encharcamiento, acumulación de basura y suciedad), asistencia veterinaria permanente y evitando la concentración de animales de otra especie (Senasa, 2016). Cesar. (2009) señala que el control y prevención de la enfermedad se basan en medidas de higiene y en el uso de vacunas. Las medidas de higiene tienden a tratar

de eliminar las fuentes de infección y de esta manera disminuir las posibilidades de transmisión. También se deben implementar buenas prácticas de higiene poniendo especial cuidado que la orina de los animales infectados en lo posible no tome contacto con equipos e instalaciones. La entrada de animales nuevos al establecimiento debería tener una cuarentena. El uso de vacunas es una herramienta fundamental para la prevención de la enfermedad. En la vacunación se debe dar una primera dosis y realizar siempre una segunda dosis en un determinado período de tiempo dependiendo del adyuvante utilizado.

VII. DISEÑO METODOLÓGICO

El presente estudio fue realizado en un hato lechero con manejo tradicional de la zona, el cual tiene un cruce racial integrado por Brown Swiss y Brahman, donde no se maneja ningún protocolo de control contra *Leptospira* y los terneros viven conjuntamente con las madres los primeros meses de crecimiento.

7.1. Ubicación

La investigación tuvo lugar en un hato lechero de la parroquia Sucre del cantón 24 de Mayo en el sitio el Tropezón localizada en las coordenadas geográficas 01° 14' 46.4" de latitud sur, y 80° 25' 29.3" de longitud oeste, a una altitud de 156 msnm. (INAMHI, 2020), en el período comprendido de Febrero-Octubre 2020.

7.2. Tipo de estudio y tamaño muestral

Un estudio descriptivo de tipo longitudinal fue realizado; el cálculo del tamaño muestral se lo realizó utilizando la fórmula para detectar exposición dentro de un rebaño sugerida por Cannon (2001)

$$n=(1-\infty^{(1/D)})(N-(D-1/2))$$

Dónde:

∞ =Nivel de significancia

D= Prevalencia *Nº de animales

N=Nº de animales

n= Tamaño de la muestra

Para lo cual se estimó un nivel de confianza del 95% y una prevalencia en terneros del 10%, con un tamaño del rebaño de 150 animales obteniendo un n de 26 animales a ser utilizados en este estudio, sin embargo, un animal más fue incluido (27 Terneros) contribuyendo a aumentar la validez del estudio

7.3. Criterios de Inclusión

Fueron considerados todos aquellos terneros nacidos en los meses de Enero y Febrero del 2020 con una edad promedio y una desviación estándar de 30±15 días desde su nacimiento. Los cuales fueron evaluados a MAT, por un periodo de 6

meses, realizando muestreos cada mes; conjuntamente con los terneros, las madres fueron evaluadas en el momento 1 (M1), para el cálculo de tasa de incidencia (TI) en terneros, se consideraron dos criterios: 1.- Cálculo a partir de terneros negativos al primer muestreo, provenientes de madres negativas y 2.- Cálculo a partir de animales que resultaron negativo después de un periodo positivo durante el estudio.

7.4. Criterios de Exclusión

Para el cálculo de la TI en el criterio 1, fueron descartados todos aquellos terneros que provenían con títulos en el primer muestreo, para el criterio 2 se utilizaron los terneros positivos al primer muestreo pero que fueron negativos al siguiente muestreo.

7.5. Toma y procesamiento de muestra

La muestra fue tomada desde el mes de febrero hasta el mes de noviembre del 2020, donde cada ternero participaba con un muestro mensual por seis meses consecutivo; la extracción de la sangre fue realizada usando la vena yugular y/o de la vena caudal, usando para el efecto, de una jeringa con aguja calibre N° 21, posteriormente la muestra fue trasvasada a un tubo sin anticoagulante para separar el suero sanguíneo, o en su defecto fueron centrifugadas a 3.200 rpm por un tiempo de 15 minutos y posteriormente, almacenada a -20°C hasta su posterior análisis.

7.6. Prueba Diagnóstica

Los sueros sanguíneos almacenados fueron sometidos a la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT), integrada por una batería diagnóstica conformada por 6 serovares de leptospira patógena (Hardjo, Tarassovi, Wolffii, Bataviae, Canicola y Sejroe) disponibles en el área de Leptospira. Para la ejecución del MAT se siguió el protocolo recomendado por Faine (1999) y Salgado y col (2014), la misma que consistió en dos tiempos:

- A. Screening:** Se usaron microplacas en las que se adicionaban solución fisiológica, el suero problema y el antígeno, posterior a esto, se incubaba durante 1 hora a 37°C, para luego ser observada a 100X en el microscopio de campo oscuro, las muestras positivas eran pasadas a la titulación.

B. Titulación: Se evaluaron todas las muestras reactoras al screening. Este consistió en que, cada pocillo de la microplaca se colocó solución fisiológica, posteriormente se colocó 50 µL de la dilución positiva diluyéndola desde el segundo pocillo hasta el último dejando el primer pocillo para el control, quedando las diluciones de 1:100 a 1:6400.

Tanto en el Screening como en la titulación se declaraba como positiva al MAT, aquella muestra donde se observaba aglutinación en el 50% del campo observado para el serovar evaluado.

Finalizado el procesamiento de las muestras los resultados proporcionados, fueron registrados en una base de datos para su posterior análisis.

Todo el procesamiento de las muestras, así como la realización del MAT, fue realizada en los laboratorios Agropecuarios de la UTM en el laboratorio de leptospira, ubicado en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana.

7.7. Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva de los títulos encontrados en los terneros durante el tiempo, así como también se calculó la TI a la presencia de anticuerpos contra Leptospira en los 6 meses de estudio de acuerdo a la metodología establecida por Thursfield y col. (2018) cuya formula se describe a continuación.

$$I = \frac{\text{Números de nuevos casos de la enfermedad que se producen en una poblacion durante un periodo de tiempo}}{\text{Suma de los individuos, del tiempo de riesgo de desarrollar la enfermedad}}$$

VIII. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS, ANALISIS E INTERPRETACIÓN

De acuerdo con el trabajo de investigación realizado se obtuvieron los siguientes resultados:

8.1. Característica de los animales seleccionados

Se seleccionaron 27 terneros, de los cuales el 92,6% correspondieron a terneros con madres y el 7,4% fueron huérfanos ver tabla 1.

Tabla 1 Características de los terneros seleccionados para el estudio

Categoría	Muestra	%
Con madre	25	92,6
Huérfanos	2	7,4
Total	27	100,0
Porcentaje		100,0

8.2. Estatus de exposición a leptospira patógena de los terneros y madres seleccionadas en el momento 1

Del total de las madres seleccionadas, el 91,3% no presentaron exposición a la bacteria (estatus 0), definiendo a este estatus a aquellos animales que no reaccionaron al MAT, mientras el 8,7% tuvieron exposición a la bacteria (estatus 1), considerando en este estatus aquellos animales que reaccionaron al menos a un serovar de los 6 serovares del panel diagnóstico del MAT; los terneros con estatus 0 correspondieron al 29,6% mientras el 70,4% tuvieron estatus 1 ver tabla 2.

Tabla 2.- Estatus de exposición en madres y terneros en el momento 1 dentro del hato lechero

Estatus	Madres n(%)	Terneros n(%)
0	21 (91,3)	8 (29,6)
1	2 (8,7)	19 (70,4)
Total	23(100,0)	27(100,0)

8.3. Serovares presente en los terneros en el momento 1

De los serovares encontrados en el momento 1 (M1), el 15,8% correspondió al serovar Wolffii; seguido del serovar Hardjo y Canicola con un 10,5%; el 5,3% a Sejroe. No se observó positividad a los serovares Tarassovi y Bataviae. Se evidencio co-aglutinación en el 57,9% de las muestras a los diferentes serovares ver tabla 3.

Tabla 3.- Serovares presentes en terneros seleccionados en el M1 de evaluación

Serovares	Terneros	
	Nº.	%
Sejroe	1	5,3
Canicola	2	10,5
Hardjo	2	10,5
Tarassovi	0	0.0
Bataviae	0	0.0
Wolffii	3	15,8
Co-aglutinación	11	57,9
Total	19	100,0

8.4. Serovares que co-aglutinaron con mayor frecuencia en terneros en el momento 1

De un total de 11 muestras que co-aglutinaron, el 54,5% (6/11) reaccionaron a 2 serovares; el 18,2% (2/11) de las muestras reaccionaron a 3 serovares, el 9,1% (1/11) a 4 serovares y el 18,1% (2/11) a los 6 serovares ver tabla 4.

Tabla 4.- Grupos de serovares que co-aglutinaron en los terneros seleccionados

Co-aglutinación	Serovares	n	%	Títulos		
				1/100	1/200	1/400
Sejroe +Wolffii	2	6	54,5	1	1	
Canicola + Wolffii						1
Canicola + Tarassovi					1	
Hardjo + Wolffii				1		
Hardjo + Tarassovi					1	
Hardjo + Tarassovi + Bataviae	3	2	18,2	1		
Canicola + Hardjo + Wolffii					1	
Canicola + Hardjo +Bataviae+Wolffii	4	1	9,1		1	
Sejroe+Canicola+Hardjo+Tarassovi+Bataviae+Wolffii	6	2	18,2	2		
Total		11	100,0	5	5	1

8.5. Anticuerpos contra leptospira patógena presentes en terneros y en las madres en el M1

De un total de 23 madres muestreadas el 9% (2/23) reaccionaron positivamente al MAT, se observó que el 4% (1/27) de los terneros muestreados presentaron relación con el serovar reaccionante detectado en la madre ver tabla 5. Por otra parte, 70,4% (19/27) de los terneros muestreados en el momento1reaccionaron positivamente al MAT.

Tabla 5.- Anticuerpos contra leptospira identificados en madres y terneros en el momento 1 de evaluación

N	Madres		N	Terneros	
	Estatus	Titulo/serovar		Estatus	Titulo/serovar
1	0		1	1	100/C T
2	0		2	1	400/C
3	0		3	1	100/H T B
			20	0	
4	0		4	1	100/*
5	0		5	1	100/*
6	0		6	0	
7	0		7	1	100/H
-	-		8	1	200/S W
8	0		9	1	400/W
9	0		10	1	100/H
10	1	100/*	11	0	
11	0		12	1	100/H W
			21	0	
12	0		13	0	
-	-		14	0	
13	0		15	0	
14	0		16	1	100/S W
15	0		17	1	400/C W
16	0		18	1	200/C H W
17	0		19	1	200/H T
18	1	200/S W	22	1	100/W
19	0		23	1	200/C H B W
20	0		24	1	200/C
21	0		25	0	
22	0		26	1	100/S
23	0		27	1	100/W
Total	2			19	
%	8			70,3	

* Reacción a todos los serovares del panel Dx.

8.6. Persistencia de anticuerpos contra leptospira en terneros en condiciones naturales de manejo.

De un total de 19 terneros que reaccionaron al MAT en el primer muestreo, el 89,5% (17/19) de los animales desaparecieron sus títulos en el M2, se mantuvo el 5,3% (1/19), y el 5,3% (1/19) desapareció del estudio a partir del M2, el 5,2% de los

terneros reaccionó al tercer momento después de haber tenido un estatus 0 en el M2.

Tabla 6.- Resumen de los resultados obtenidos en los 27 terneros utilizados en el estudio

Terneros						
N	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5	M 6
1	100 C T	-	-	-	-	-
2	400 C	100 C	-	-	-	-
3	100 H T B	0	-	-	-	-
4	100*	0	0	0	0	0
5	100*	0	0	0	0	0
6	100 H	0	0	0	0	0
7	200 S W	0	0	0	0	0
8	400 W	0	-	-	-	-
9	100 H	0	0	0	0	0
10	100 H W	0	-	-	-	-
11	100 S W	0	0	0	0	0
12	400 C W	0	-	-	-	-
13	200 C H W	0	0	0	0	0
14	200 H T	0	0	0	0	0
15	100 W	0	0	0	0	0
16	200 C H B	0	0	0	0	0
	W					
17	200 C	0	0	0	0	0
18	100 S	0	100 B	0	0	0
19	100 W	0	0	0	0	0

S, H, T, W, B, C = serovares Sejroe, Hardjo, Tarassovi, Wolffii, Bataviae y Canicola.

--= Terneros que desistieron o desaparecieron del estudio.

* Reacción a todos los serovares del panel Dx.

8.7. Presentación de los nuevos casos de exposición a leptospira patógena.

A partir de 8 terneros que resultaron negativos al MAT en el primer muestreo se realizó el cálculo de la tasa de incidencia uno TI (1), la misma que fue evaluada a través del tiempo, obteniendo un TI (1) de 1 ternero expuestos a leptospira patógenas por cada 439 animales días en riesgo (Tabla 5). Por otra parte, se consideró una segunda tasa de incidencia TI (2) utilizando 12 terneros que fueron negativo después del M2, obteniendo una TI (2) de 1 ternero expuesto por cada 2.449 animales días en riesgo.

Tabla 7.- Cálculo de TI (1) de exposición a leptospira patógena a partir de los terneros negativos en el M1

Terneros		Meses (Días)						DR
N	ID	M1	M2	M3	M4	M5	M6	
1	6	0	1	0	0	0	0	14,5
2	11	0	0	0	0	0	0	182,0
3	13	0	0	0	0	0	0	182,0
4	14	0	1	-	-	-	-	14,5
5	15	0	0	0	0	0	0	182,0
6	20	0	0	-	-	-	-	60,0
7	21	0	0	-	-	-	-	60,0
8	25	0	0	0	0	0	0	182,0

1=animales positivo al MAT

0=animal negativo al MAT

- =animal que se perdió el seguimiento

DR= días en riesgo

Tabla 8.- Cálculo de TI (2) de exposición a leptospira patógena a partir de los terneros negativos en el M2 de evaluación a leptospira patógena

N	ID	M1	M2	M3	M4	M5	M6	DR
1	6	0	1	0	0	0	0	14,5
2	11	0	0	0	0	0	0	182,0
3	13	0	0	0	0	0	0	182,0
4	14	0	1	-	-	-	-	14,5
5	15	0	0	0	0	0	0	182,0
6	20	0	0	-	-	-	-	60,0
7	21	0	0	-	-	-	-	60,0
8	25	0	0	0	0	0	0	182,0
9	4	-	0	0	0	0	0	167,5
10	5	-	0	0	0	0	0	167,5
11	7	-	0	0	0	0	0	167,5
12	8	-	0	0	0	0	0	167,5
13	10	-	0	0	0	0	0	167,5
14	16	-	0	0	0	0	0	167,5
15	18	-	0	0	0	0	0	167,5
16	19	-	0	0	0	0	0	167,5
17	22	-	0	0	0	0	0	167,5
18	23	-	0	0	0	0	0	167,5
19	24	-	0	0	0	0	0	167,5
20	27	-	0	0	0	0	0	167,5

1=animales positivos al MAT

0=animal negativo al MAT

DR= días en riesgo

IX. DISCUSIÓN

La leptospirosis es una enfermedad sistémica de gran impacto, tanto a nivel productivo como reproductivo y presente con mayor frecuencia en regiones tropicales, subtropicales y climas húmedos, por lo que es casi imposible encontrarla en lugares con frío extremos. Es una zoonosis con mayor distribución en el mundo, por lo que se encuentra ampliamente diseminada en los animales domésticos y silvestres, siendo la orina de los animales infectados una de las mayores fuentes de infección y/o contaminación a los animales susceptibles y al ambiente.

El presente trabajo de investigación buscó determinar la dinámica de aparición de anticuerpos contra leptospira patógena en terneros susceptibles bajo condiciones naturales de manejo observando una alta exposición de los terneros al M1 de evaluación, resultados similares a los encontrados en este trabajo fueron reportados por Hellstrom (1978) en Nueva Zelanda donde observó una mayor exposición en los primeros meses de vida de los terneros; esta exposición a leptospira observada en los terneros, puede deberse a múltiples factores dentro de los cuales está: la exposición natural con animales infectados o ambiente contaminado relacionados principalmente con la época del año. Hellstrom (1978) en Nueva Zelanda y Gómez, y Col. (2014) en España, señalan que las altas exposiciones en los terneros estaba altamente correlacionada con el nivel de humedad en el ambiente al que estaban expuesto los animales, por lo que las épocas invernales y principios de primavera, favorecen la supervivencia de la bacteria aumentando el riesgo de exposición, esto concuerdan con lo descrito por Agudelo, y Col (2007) quienes enfatizan que el agente infeccioso está con mayor frecuencia en la regiones tropicales y subtropicales. Los datos obtenidos en el presente estudio permiten suponer que las condiciones como la humedad, lluvias, favorecerían significativamente para la subsistencia de leptospira en el ambiente, así como observar alto nivel de exposición en los animales.

Laguna (2000); y Sandow y Ramírez (2005) manifiestan que en países de clima tropical la bacteria puede resistir altas temperaturas, ocasionando que el agente causal tenga mayor presentación en este tipo de climas en animales susceptibles, debido a la adaptación de esta bacteria al ambiente y mantenerse infectiva por tiempos prolongados.

Por otra parte, Cedola (2014) menciona que los animales pueden infectarse con un animal infectado, a través de piel, mucosa, contacto con agua contaminadas, fluidos de animales infectados, esto indicaría que la exposición natural con la bacteria es muy frecuente, favoreciendo a la presentación de un alto porcentaje de exposición a leptospira y llegando a ser una de las principales causas de la alta exposición a *leptospira* patógena en los terneros de este estudio.

Wolffii y Canicola, fueron los serovares con mayor frecuencia; Chiriboga (2019) en una investigación realizada en la granja experimental de la Universidad de las Américas, donde se observó un alto porcentaje de reacción en bovinos a los serovares Canicola, Bataviae, Sejroe y Hardjo, señalando que la presencia de anticuerpos contra leptospira probablemente se deba a la presencia de individuos de otra especie animal que son hospedadores de mantenimientos de algunas variedades o serovares de leptospira; lo que indicaría que esta exposición posiblemente esta dado por la interacción de los terneros con otras especies animales como los caninos en las fincas que comparten hábitat en sus primeros meses de crecimiento. Por otro lado, Brihuega y Col. (1984), en una investigación en la provincia de Neuquen (Argentina), observó altos niveles de reacción a MAT de serovar Wolffii en bovinos, considerándolo como un serovar intermedio para la especie bovina. Laguna, (2000) y Agudelo, y Col (2007) mencionan que los serovares no son necesariamente específicos de una sola especie animal y pueden aparecer diferentes serovares en un mismo animal, similares a los observados en el presente estudio.

Se logró evidencia que los terneros evaluados reaccionaron a más de un serovar, similar a los resultados reportado por Chiriboga (2019) en Quito Ecuador, además concordamos con lo mencionado, que la presencia de más de un serovar está dada por la apariencia de otros individuos del medio, ya que se pudo observar que los terneros reaccionaban con frecuencia a serovares como Wolffii (murciélago), canicola (caninos) y Tarassovi (cerdo y equinos) los cuales son serovares pertenecientes a otras especies animales.

La relación madre/hijo en cuanto a serovares reaccionantes resultó ser baja (4,3%), contrario a lo observado en el presente estudio, Hellstrom (1978) en Nueva Zelanda, encontró que los título de madre y ternero estaban significativamente relacionados

con la edad de la madre, esto se debe a que las madres más jóvenes suelen tener títulos más altos, lo cual explicaría la poca presentación de títulos en las madres y la nula relación entre madre y ternero en nuestro estudio, ya que las madres de los terneros utilizados en el presente trabajo eran bovinos que tenían más de un parto, por lo que es posible que se haya encontrado poca positividad al MAT en relación a las encontradas en los terneros en el M1.

La persistencia de los títulos a través del tiempo en terneros reaccionantes en el M1 decrecieron de un muestreo a otro, esto puede ser explicado por el estudio realizado por Hellstrom (1978) que establece que los terneros recién nacidos adquirieron títulos detectables a la prueba MAT, observando que estos títulos van disminuyendo de manera constante, reportando una vida media de 15 a 17 días, lo que podría justificar porqué en los terneros del presente estudio desaparecieron los anticuerpos detectados por medio del MAT, por cuanto los muestreos eran hechos con un intervalo de 30 días.

La Tasa de Incidencia calculada a partir de animales negativos en el M1 TI(1) fue de 1 animal expuesto por cada 439 animales días en riesgo, diferentes al observado por Montes (2019) en Chile, donde al evaluar 8 rebaños en el sur de Chile obtuvo una TI global en animales jóvenes de 1 animal expuesto por cada 1.384 animales días en riesgo, cabe mencionar que si bien la TI presentada por Montes es de menor riesgo para los terneros, cuando se analizan los resultados detallados en el estudio hecho en el Sur de Chile, se puede observar que existen TI dentro de rebaños similares a las obtenidas en los terneros de 24 de Mayo. Cuando analizamos la TI (2) calculada en nuestro estudio, la cual fue de 1 animal expuesto por cada 2.449 animales días en riesgos, resulta ser de menor riesgo que la reportada en el sur de Chile. Por otra parte, la persistencia de los títulos a través del tiempo en condiciones naturales de producción de los terneros podría ser determinante en el cálculo de estas TI.

X. CONCLUSIONES

En base al trabajo realizado podemos concluir:

- La presentación de anticuerpos a través del tiempo con los serovares utilizados y con un punto de corte de 1:100 r por la técnica del MAT, resultó ser muy poca informativa para evaluar la persistencia de anticuerpos contra leptospira patógena en los terneros.
- La exposición a leptospira bajo las condiciones naturales de manejo, presento un alto porcentaje de exposición en los terneros en el momento 1.
- La relación anticuerpos observados en las madres y en los terneros fue baja
- Los datos observados en el cálculo de la tasa de incidencia, denota un alto riesgo de exposición en terneros a leptospira patógena en la zona.

XI. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados podemos llegar a las siguientes recomendaciones:

Seguir realizando investigaciones de la respuesta inmunológica de los terneros frente a leptospira patógena, tomando en consideración las primeras horas después de su nacimiento, incluso aquellos que no hayan amamantado calostro porque pudiera ocasionar una interferencia en el diagnóstico por MAT.

Complementar con otra técnica diagnóstica indirecta que permita evidenciar de mejor manera el comportamiento de los anticuerpos de leptospira en los animales, así como evaluar el MAT a diferentes puntos de corte (1:25-1:50) permitiendo un incremento de la detección, así como incrementar el número de serovares incluidos en el panel diagnóstico, para conocer de una forma más cercana la epidemiología de exposición y velocidad de exposición a leptospira patógena.

Se recomienda seguir realizando investigaciones del tema, ya que es importante conocer el comportamiento y presentación de los anticuerpos contra los serovares de leptospira tanto en exposición natural como artificial, bajo diferentes condiciones de manejo y crianza de los terneros

XII. PRESUPUESTO

Cant.	Descripción	Total.
4	Botella Medio Cultivo C/Tapa, 250ml. Unidad. Corning	\$198,24
4	Botella Medio Cultivo C/Tapa, 500ml. Unidad. Corning	
4	Botella Medio Cultivo C/Tapa, 1l. Unidad. Corning	
5	Puntas P/Pipeteador Universal 1-200 Micr Amarillas. Paq/1000. Corning	
3	Alcohol Antiseptico Ecuquimica Galo	\$83,00
1	Tubos Ependorf 1.5ml X 500und Renon	
3	Guantes Nitrilo Azul Safari "M"	
1	Centrifuga Con Rotor Y Accesorios Para 12 Tubos De 1.5ml Marca Mklab	\$2.137,05
1	Termoblock Benchmark De 1 Bloque Serial:8sh5001-1458	\$499,52
4	Filtro De Jeringa 25mm 0.2 Um. Esteril Pk/50	\$875,97
3	Gradillas Para 50 Tubos Nacional	\$86,80
1	Gradilla Plastica 50 Tbos Renon Lab	
2	Guantes Exam. Nitrilo Azul Sp Glove	
2	Gradilla Porta Tubos Ependorf 1.5ml	
1	Termometro De Varilla Alcohol -10 A	
10	Guantes Latex Medident "M" Cx100und	\$114,25
1	Cloro	\$4,98
1	Toalla De Cocin	
3	Puntas Con Filto 20-200ul. Xl. Rack	\$536,26
3	Puntas Con Filtro 0.1-10ul. Rack	
4	Micropipetas Marca Biohit	\$411,18
1	Leptospira Enrichment	\$403,20
1	Rf-3000 Pipette Filler.. Heathrow	\$425,60
3	1000Ul Universal Fit Filter Tip, Clear, Sterile, Rack Pack	\$725,76
3	1.5 Ml Microcentrifuge Tube, Polypropylene, Clear, Non-Sterile	
24	15 Ml Centrifuges Tubes, Yellow Cap, Rack.	
2	Gradilla Porta Tubos Ependorf 1.5ml	\$90,10
3	Tubos Ependorf 1.5mlx 500und Redon	
3	Mango Con Asas Himedia	
2	Termometro De Varilla Alcohol	
10	Puntas Amarillas Grad.Renonlabx10	
1	0.2ml Thin Wall Pcr Tubes With Flat Cap, Clear, Nonsterile	\$67,20
2	100-Well Hinged Tube Storage Box, Assorted	\$112,00
2	High Pure Pcr Template Preparation Kit	\$856,84
8	Guantes De Nitrilo Talla M	\$285,60
5	Guantes De Nitrilo De Laboratorio Talla Small	
5	Cloro Natural	\$42,56
4	Fundas De Basura	

16	Toallas De Papel En Z	
1	Dispensador De Toalla	\$43,43
2	Atomizador	
13	Toallas De Papel En Z	
2	Alcohol	\$22,00
20	Puntas Amarilla	\$60,00
1	Tubos Ependorf 1.5mlx 500und Redon	\$4,50
4	Caja De Guantes	\$52,00
3	Caja De Jeringas	\$25,50
1	Paquete De Aretes De 60	\$40,15
1	Marcador	\$15,17
6	Fletes	\$18,00
1	Caneca De Combustible	\$10,00
1	Caja De Mascarillas	\$8,00
1	Frasco De Vitaminas	\$10,00
2	Esfero	\$0,80
1	Portapapeles	\$3,70
12	Impresiones	\$1,90
	Alimentación	\$24,00
Total		\$8.295,26

XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades/Meses	2020										2021			
	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septienbr	Octubre	Noviembr	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
Compra de materiales	X													
Trabajo de Campo	X	X	X	X	X	X	X							
Análisis de Muestras en el laboratorio	X	X		X	X	X	X	X	X	X				
Aceptación de anteproyecto					X									
Análisis de resultados									X	X	X			
Procesamiento de la tesis									X	X	X			
Informe final de tesis										X	X		X	
Revisión del informe final													X	X

XIV. BIBLIOGRAFÍA

1. **Adler, B., y De la Peña Moctezuma, A.** (2010). Leptospira and leptospirosis. Veterinary Microbiology, 140(3-4), 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.012>
2. **Agudelo., Flórez, P., Restrepo., Jaramillo, B. N., y Arboleda., Naranjo, M.** (2007). Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. Cadernos de Saúde Pública, 23(9), 2094-2102. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2007000900017>
3. **Aricada, H., Bedolla, R., Heredia, C., Maldonado, A., Peláez, C., y Ceballos., A.** (2004). Competencia inmunológica en la primera semana de vida en terneros mantenidos bajo dos sistemas de producción de leche: Obtenido de <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/323937/20781117>
4. **Aubrey.** (2005). Leptospirosis. Obtenido de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/leptospirosis-es.pdf>
5. **Brihuega, B., Pueyo, J., Robles, C., Cacchione, R., y Martínez, E.** (1984). Leptospira en la provincia de Neuquén: estudio serológico en animales y humanos. Veterinaria Argentina, 462-466. Obtenido de https://inta.gob.ar/sites/default/files/ct_62-leptospirosis_animal_y_humana_en_neuquen_1984.pdf
6. **Bolin C.** (2003). Diagnosis and Control of Bovine Leptospirosis 6th Western Dairy Management Conference, Reno, USA, Pp 155-160.
7. **Burgos, D., Pérez, M., Bulnes, C., Zambrano, M., Sandoval, H., Falconí, M., Fonseca, O.** (2019). Determinación de la Seroprevalencia de Leptospira Spp. Y Los Principales Serovares Circulantes En El Ganado Bovino En La Provincia De Manabí Ecuador. Obtenido de https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Publications_&_Documentation/docs/pdf/revue_plurithematique/2019/14032019-00143-ES_Burgos_Macias-Perez_Ruano_ESP.pdf
8. **Calle, G., González, F., Casablanca, L., y Palomino., M.** (2014). Leptospirosis en terneros. Obtenido de http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/26/Cri%CC%81a%20y%20Salud%2026_42-44.pdf

9. **Cannon, R.M.**, (2001). Sense and sensitivity--designing surveys based on an imperfect test. *Prev Vet Med* 49, 141-163.
10. **Castillo, M.** (2014). *Leptospira En Ganado Bovino*. Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7131/MARISOL%20CASTILLO%20HERN%C3%81NDEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
11. **Caputo, J. A., Larsen, R., y Cagnoli, C. I.** (2018). Descripción de un posible caso de leptospirosis en un rodeo de vaquillonas preñadas. Tandil: Facultad de Ciencias Veterinarias-UNCPBA-.
12. **Cedola, M.** (2014). Estudio de mecanismos de la inmunidad innata en la patogénesis de la Leptospirosis. Universidad Nacional de la Plata
13. **Cesar, D.** (2009). *Leptospirosis*. Obtenido de https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R106/R106_43.pdf
14. **Chavarría, L., Lara, D., Méndez, W., y Moscoso, J.** (2015). *Leptospira: revisión del agente causal de una enfermedad zoonótica*. Bogotá: Universidad Libre Seccional Barranquilla.
15. **Chiriboga, C. L.** (2019). Evaluación Del Estatus Sanitario De Bovinos, Ovinos, Caninos Y Porcinos Respecto A Leptospirosis Mediante La Prueba Mat En Granjas Experimentales UDLA Nono, Quito. Quito: UDLA. Obtenido de <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/11827/1/UDLA-EC-TMVZ-2019-40.pdf>
16. **Domenech, A., Gilbello, A., Collado, V., Porras, R., y Blanco, M.** (2008). El sistema inmune innato II. La primera respuesta frente a la infección. *Dialnet*, 17-30. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2731219>
17. **Draghi, M., Brihuega, B., Benítez, D., Sala, J., Biotti, G., Pereyra, M., Guariniello, L.** (2011). Brote de leptospirosis en terneros en recría en la provincia de Corrientes, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 42-44.
18. **Ellis, W. A.** (1994). Leptospirosis as a Cause of Reproductive Failure. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 10(3), 463-478. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30532-6](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30532-6)
19. **Faine, S., Alder, B., Bolin, C., Perolat, P.**, (1999). *Leptospira and Leptospirosis*. MediSci Press, Melbourne.

20. **Fennestad, K.L. y Borg-Petersen, C.** (1956) Studies on bovine leptospirosis and abortion. II. Experimental leptospirosis in pregnant heifers. *Nordisk Veterinary medicin*, 8: 815-833.
21. **Follmer, A.** (2017). Estudio retrospectivo de leptospirosis en fetos bovinos en la provincia de la Pampa. Obtenido de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/83641/Documento_completo.pdf
22. **García, J.** (2002). Tratamiento y control de la leptospira bovina. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4368846>
23. **García, R., Reyes, A., Basilio, D., Ramírez, M., y Rivas, B.** (2013). Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev Latinoamer Patol Clin*, 1-14. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2013/pt131g.pdf>
24. **Guerrero, B.** (2018). Claves para el manejo de Leptospirosis en bovinos. Obtenido de <https://medvetsite.com/leptospirosis-en-bovinos/>
25. **Gómez, L., Fernández, O., López, J., y Martín, P.** (2014). Leptospirosis en terneros. Obtenido de http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/26/Cri%CC%81a%20y%20Salud%2026_42-44.pdf
26. **González, K.** (2018). Leptospirosis Bovina., de zoovetespasión: https://zoovetespasion.com/ganaderia/enfermedades-bovinas/leptospirosis-bovina/#transmisionde_laleptospirosis_bovina
27. **Grognat, J.** (1997). La inmunidad del ternero. Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/destete/08-inmunidad_del_ternero.pdf
28. **Hanson, L.E., Mansfield, M.E. y Andrews, R.D.** (1964) Epizootiology of enzootic leptospirosis in a cattle herd. *Proceedings of the frli ted States Livestock Sanitary Association*, 68: 136-146.
29. **Hellstrom, J.,** (1978). Studies on some aspects of the epidemiology of bovine leptospirosis. Doctoral Thesis, Massey University
30. **Laguna, V.** (2000). Leptospirosis. Obtenido de <https://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/m%C3%B3dulo%20t%C3%A9cnico%2020leptospirosis.pdf>
31. **Leal, V., Montes, V., Alocilla, O., Avilez, C., Tejeda, C., Salgado, M., Monti, G.** (2017). Vertical and Horizontal Transmission of Pathogenic *Leptospira* is

- Newborn and Neonatal Calves. 10th International Leptospirosis Society Conference 2017. Palmerston North New Zealand.
32. **López A.** (2009). Guía para el diagnóstico, control de la Leptospirosis. OMS.
 33. **López, O.** (2011). Leptospirosis. Obtenido de https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_leptospirosis.pdf
 34. **Matamala , S. A.** (2018). Evaluación De La Prueba Mat Y Pcr En Sangre Y Orina Para Determinar El Estatus De Infección De Vacas Lecheras Abortadas Dentro De Los Siete Días Post Aborto. Obtenido De Universidad Austral De Chile: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2018/fvm971e/doc/fvm971e.pdf>
 35. **Meza, J. O., y Moreira, D. O.** (2012). Prevalencia De Leptospirosis En Diez Hatos Bovinos Estabulados De La Zona Central De Manabí, En El Segundo Semestre De 2011. Portoviejo: Universidad Técnica De Manabí.
 36. **Montes, V.** (2019). Estudio Epidemiológico Sobre Leptospirosis En Bovinos Lecheros En Las Regiones De Los Lagos Y Los Ríos, En El Sur De Chile, tesis doctoral Universidad Austral de Chile.
 37. **Moral, M., Laplime, H., Sardi, F., Samartino, L., Vanasco, B., Cudos, C., y otros.** (2014). Lepstospirosis. Obtenido de <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000489cnt-guia-medica-leptospirosis.pdf>
 38. **Ochoa, J. E.** (2000, 1 mayo). SciELO - Saúde Pública - Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. [scielosp.org. https://www.scielosp.org/article/rpsp/2000.v7n5/325-331/](https://www.scielosp.org/article/rpsp/2000.v7n5/325-331/)
 39. **OIE.** (2018). Leptospirosis. Obtenido de https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.12_Leptospiriosis.pdf
 40. **Pacheco, G.** (2015). Una visión general de la leptospirosis. Obtenido de <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/jals/article/view/820/566>
 41. **Revelo, A.** (2016). Optimización de un protocolo de extracción de ADN genómico de *Leptospira ssp*, A partir de muestras de orina, para el diagnóstico de leptospirosis bovina por PCR. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10467/1/T-UCE-0014-032-2016.pdf>
 42. **Rodríguez, G.** (2000). Estado actual de la leptospirosis. Bogotá: Dialnet

43. **Rodríguez.** 2005. Leptospirosis Bovina: diagnostico tratamiento y control. Obtenido de <http://studylib.es/doc/124200/leptospirosis-bo-vina-diagn%C3%B3stico--tratamiento-y-control>
44. **Romero, Y., Santos, N., Cobas, A., y Medina, M.** (2016). Evaluación de la inmunogenicidad y la capacidad protectora homóloga de un candidato vacunal tetravalente de *Leptospira*, para uso veterinario. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-028X2016000300002
45. **Sadow, K., y Ramírez, W.** (2005). Leptospirosis. REDVET, 1-61. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612649001.pdf>
46. **Salgado, M., Otto, B., Sandoval, E., Reinhardt, G., Boqvist, S.,** (2014). A Cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira* spp. serovars in small holder dairy cattle farms in southern Chile. BMC Vet Res 10,126.
47. **Salgado, M., Otto, B., Moroni, M., Sandoval, E., Reinhardt, G., Boqvist, S., y otros.** (2015). Isolation of *Leptospira interrogans* serovar Hardjoprajitno from a calf with clinical leptospirosis in Chile. BMC Vet Res 11, 66 Obtenido de <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-015-0369-x#Sec2>
48. **SENASA.** (2016). Prevención de la leptospirosis en las producciones ganaderas. Obtenido de <http://www.senasa.gob.ar/senasa-comunica/noticias/prevencion-de-la-leptospirosis-en-las-producciones-ganaderas>
49. **Tizard, I.** (2009). Veterinary Immunology. Texas: ELSEVIER.
50. **Thursfield, M.** (2018). Veterinary Epidemiology. Oxford: Blackwell Science ltd
51. **Zamora, J., y Riedemann, S.** (1999). Animales silvestres como reservorios de leptospirosis en Chile: Una revisión de los estudios efectuados en el país. Archivos de medicina veterinaria, 31(2), 1-10. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x1999000200001>
52. **Zunino M, E., y Pizarro P, R.** (2007). Leptospirosis: Puesta al día. Revista chilena de infectología, 24(3), 1-7. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182007000300008>

XV. ANEXOS

Anexo1.-Identificación de los animales seleccionados y método de recolección de muestras.



Predio y animales a tomar en consideración para el estudio.

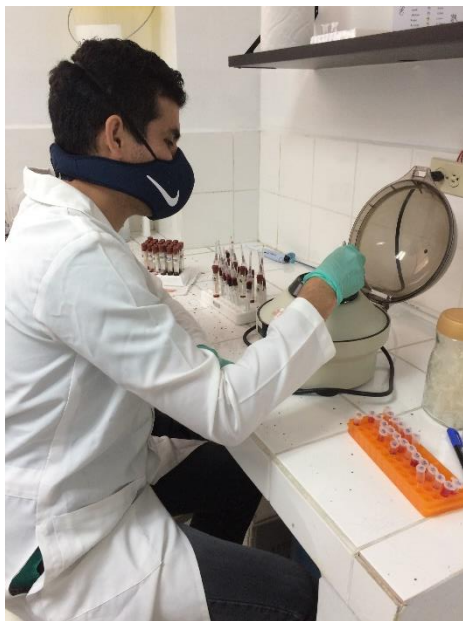


Colocación de aretes para la identificación del animal.



Extracción de sangre de la vena yugular.

Anexo 2.- Procesamiento de las muestras en el laboratorio Agropecuario de la UTM



Centrifugación de las muestras
para separar el suero sanguíneo



Dilución de los sueros
sanguíneos para el MAT