UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTECIÓN DEL TITULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MODALIDAD

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:
¨DETECCIÓN DE LEPTOSPIRA EN BOVINOS SACRIFICADOS EN EL CENTRO DE FAENAMIENTO DE PORTOVIEJO MEDIANTE TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS DIRECTAS E INDIRECTAS ¨

AUTOR:
PINOARGOTE ARTEAGA MERCY ADRIANA

TUTOR:
DR. VICTOR MONTES ZAMBRANO

SANTA ANA - MANABI-ECUADOR

2020

DEDICATORIA

A Dios por ser el pilar fundamental en mi vida

A mi Abuelito FELIX PINOARGOTE por ser el hombre más especial de mi vida, si estuviera a mi lado en estos momentos estaría tan orgulloso de este logro, eres mi luz, eres mi ángel, eres mi guía desde el cielo te extraño.

A JOHAN ARTEAGA el niño de mi vida mi hermano, mi luz, mi ángel que desde el cielo me guía.

A MIA CAROLINA Hija de mi vida quiero que siempre te sientas orgullosa de mi, todo lo que hago siempre será pensando en ti.

A SEBASTIAN, Este logro es tan tuyo como mío, gracias por ser mi amigo, mi esposo y mi apoyo siempre, te agradezco por todos estos años de lucha juntos esto va dedicado a ti gracias por tanto mi amor.

A MERCY, Mami a ti te debo todo lo que soy este logro es tuyo por todos los años de lucha por sacarme adelante y hacerme la mujer de bien que soy hoy y por todo tu apoyo incondicional te amo mami.

A LOLI Y GUIDO, Gracias por apoyarme siempre, por quererme como una hija los quiero.

A mi Papá, Abuelitas, Tíos y Tías gracias por ser mi apoyo siempre esto va dedicado para ustedes

MERCY ADRIANA PINOARGOTE ARTEAGA

AGRADECIMIENTO

Agradezco primero a dios por darme la fuerza para continuar y a mis ángeles que siempre me cuidan.

A mi Esposo por todo el apoyo que me brindó todo este tiempo y a mi hija por ser el motor de mi vida.

Un agradecimiento especial al Dr. Víctor Montes Zambrano por toda su paciencia y dedicación y guiarme en este trabajo de investigación.

Al centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo por abrirme las puertas de esta institución para realizar la toma de muestras, en especial al Dr. Wilson Cevallos.

Agradezco a la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD), por haber colaborado con la donación de un cepario al área de leptospira de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la UTM, permitiendo montar la técnica diagnóstica necesaria para esta investigación, de igual forma a la Dra. Mercy Falconí responsable del área de leptospira en AGROCALIDAD Tumbaco.

Un agradecimiento especial a mi compañero y amigo de siempre Fernando Intriago por toda su ayuda, y a los compañeros Yandri Cedeño, Génesis Díaz y Alexis Torres.

MERCY ADRIANA PINOARGOTE ARTEAGA

CERTIFICACIÓN

Dr. Víctor Montes Zambrano, Certifica que el trabajo de titulación en la Modalidad Investigativa titulada: "DETECCIÓN DE LEPTOSPIRA EN BOVINOS SACRIFICADOS EN EL CENTRO DE FAENAMIENTO DE PORTOVIEJO MEDIANTE TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS DIRECTAS E INDIRECTAS", es trabajo original de la Señora PINOARGOTE ARTEAGA MERCY ADRIANA, el que ha sido realizado bajo mi supervisión.

Víctor Montes Zambrano PhD
TUTOR DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

¨DETECCIÓN DE LEPTOSPIRA EN BOVINOS SACRIFICADOS EN EL CENTRO DE FAENAMIENTO DE PORTOVIEJO MEDIANTE TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS DIRECTAS E INDIRECTAS ¨

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 PhD
DECANO-PRESIDENTE

Dr. Víctor Montes Zambrano PhD
TUTOR DE TITULACIÓN

Dr. Sixto Reyna Gallegos PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Daniel Burgos Macías Mg Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Maritza Barrera Valle PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Los resultados obtenidos en el siguiente trabajo, así como las ideas, conclusiones y recomendaciones, son de propiedad única, total y exclusiva de la autora, queda prohibida la reproducción total o parcial del mismo.

La autora

Adriana Pinoargote

Mercy Adriana Pinoargote Arteaga

ÍNDICE

DEDICATORIA II
AGRADECIMIENTO II
RESUMEN IX
SUMMARY XI
1. INTRODUCCIÓN 1
2. ANTECEDENTES 3
3. JUSTIFICACIÓN 5
4. HIPÓTESIS 6
5. OBJETIVOS ..... - 7 -
5.1. OBJETIVO GENERAL ..... - 7 -
5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS ..... - 7 -
6. MARCO TEORICO ..... - 8 -
6.1. Leptospirosis ..... - 8 -
6.2. Leptospira ..... - 8 -
6.3. Reservorios ..... - 9 -
6.4. Transmisión ..... - 9 -
6.5. Patogenia ..... - 9 -
6.5.1 Forma anictérica ..... - 10 -
6.5.2. Forma ictérica (síndrome de Weil) ..... - 10 -
6.6. Respuesta inmune y vacunación ..... - 11 -
6.7. Epidemiologia ..... - 12 -
6.8. Diagnóstico laboratorial ..... - 14 -
6.8.1 Técnicas indirectas ..... - 15 -
6.8.1.1. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT) ..... - 15 -
6.8.1.2. Inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) ..... - 16 -
6.8.1.3. Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) ..... - 16 -
6.8.2 Técnicas Directas ..... - 16 -
6.8.2.1. Cultivo ..... - 16 -
6.8.2.2. Microscopio de campo oscuro (DFM) ..... - 16 -
6.8.2.3. Reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) ..... - 16 -
7. DISEÑO METODOLÓGICO ..... - 17 -
7.1 Calculo del tamaño muestreal y tipo de muestreo ..... - 17 -
7.2 Recolección y procesamiento de muestra ..... - 18 -
7.3.-Pruebas diagnósticas ..... - 18 -
7.3.1. Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) ..... - 18 -
7.3.2. Técnica de Microscopio de campo oscuro (DFM) ..... - 19 -
7.4 Análisis estadístico ..... - 19 -
8. RESULTADOS ..... - 20 -
8.1. Característica de los animales seleccionados para el estudio según su procedencia, edad y sexo en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019 ..... - 20 -

8.2. Característica de las muestras de sangre proveniente de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019 ..... - 21 -
8.3. Característica de animales positivos al MAT de acuerdo al lugar de procedencia ..... - 22 -
8.4. Características de los animales positivos al MAT por sexo..... - 24 -
8.5. Características de los animales positivos al MAT de acuerdo a la edad..... - 25 -
8.6. Serovares de leptospira usados en el MAT que resultaron más frecuentes en las muestras de sangre obtenidas en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo. ..... - 26 -
8.7. Títulos alcanzados en animales reaccionantes al MAT en muestras recolectadas en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo ..... - 28 -
8.8. Característica de las muestras de orina proveniente de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019 ..... - 29 -
8.9. Característica de animales positivos al microscopio de campo oscuro de acuerdo al lugar de procedencia..... - 29 -
8.10. Característica de los animales positivos al DFM de acuerdo al Sexo..... - 31 -
8.11. Característica de los animales positivos al DFM de acuerdo a la edad .... - 33 -

9. DISCUSIÓN ..... - 35 -

10. CONCLUSIONES ..... - 39 -

11. RECOMENDACIONES..... - 40 -

12. BIBLIOGRAFÍA ..... - 41 -

13. ANEXOS ..... - 47 -
Anexo 1.- Registros de bovinos sacrificios por mes en el centro de faenamiento de Portoviejo durante el año 2018 ..... - 47 -
Anexo 2.- Obtención de muestras de sangre y orina de los bovinos sacrificados en el centro de faenamiento Portoviejo..... - 48 -

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Muestras recolectadas durante los meses de estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante el año 2019 ..... - 17 -
Tabla 2.- Procedencia de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a Septiembre del 2019 - 20 -
Tabla 3.- Características según el sexo y edad de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019 ..... - 21 -
Tabla 4.- Porcentaje de muestras de sangre viables para el procesamiento en el laboratorio provenientes del centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses marzo a septiembre del 2019 ..... - 22 -
Tabla 5.- característica de animales positivos al MAT por provincia..... - 23 -
Tabla 6.- característica de animales positivos al MAT por cantón ..... - 23 -
Tabla 7.-características de los animales positivos al MAT en relación al sexo por cantones..... - 24 -
Tabla 8.- Porcentaje de animales positivos al MAT de acuerdo a la edad..... - 26 -
Tabla 9.- característica de animales reaccionantes a los serovares de leptospira por lugar de procedencia (serovar con título más alto) ..... - 27 -
Tabla 10.- títulos alcanzados en las muestras positivas al MAT en los animales faenados durante los meses de marzo a septiembre del 2019 ..... - 28 -
Tabla 11.- número de muestras de orina obtenidas de los animales seleccionados en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses de marzo a septiembre del 2019 ..... - 29 -
Tabla 12.- característica de animales positivos al DFM por provincia..... - 30 -
Tabla 13.- Característica de animales positivos al DFM por cantones ..... - 31 -
Tabla 14.- Número de muestras positivas a DFM por sexo y cantón a partir de muestras procedentes del centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses de marzo a septiembre del 2019 ..... - 32 -
Tabla 15.- edad en años de animales positivos al DFM a partir de muestras obtenidas en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses de marzo a septiembre del 2019 ..... - 33 -
Tabla 16.- Resultados obtenidos en la prueba de concordancia a las dos pruebas diagnósticas MAT y DFM en bovinos sacrificados en el centro de faenamiento de Portoviejo ..... - 34 -

RESUMEN

La leptospira es una enfermedad infecto contagiosa de distribución mundial, siendo una de las enfermedades con más pérdidas económicas en la industria ganadera del mundo entero, la causante de esta enfermedad es una bacteria del género Leptospira siendo altamente contagiosa para los animales y el hombre. El objetivo es este trabajo fue diagnosticar mediante prueba diagnóstica Directa e Indirecta la presencia de leptospira en Manabí, ya que es una de las provincias en el Ecuador muy golpeada por esta enfermedad dejando año a año grandes pérdidas económicas, este trabajo de investigación se realizó en el centro de faenamiento municipal de Portoviejo, siendo este sitio un lugar idóneo para la recolección de muestras, ya que en este lugar llegan animales de distintas partes de la provincia de Manabí e incluso de otras provincias. Se realizó toma de muestras de orina y sangre a 334 animales en el centro de faenamiento municipal de Portoviejo, la sangre fue tomada directamente de la yugular al momento del sacrificio y la orina mediante punción directa en la vejiga al momento del eviscerado, estas muestras fueron sometidas a la prueba del MAT integrada por 4 serovares (Hardjo, Tarassovi, Sejroe y Wolffii) y a la prueba del microscopio de campo oscuro (DFM), un total de 247 muestras de sangre fueron viables y sometidas al MAT el 17% reaccionaron positivamente al menos a un serovar de leptospira, el serovar que presentó mayor seroreacción fue Hardjo. De las muestras de orina 228 muestras fueron viables y sometidas al DFM, en el 69,3% de las muestras se observó estructuras compatibles con leptospira, no se observó diferencias significativas entre las variables, edad, sexo, procedencia de los animales positivos al MAT y al DFM, la seropositividad fue en igual proporción para todas las variables Estos permiten identificar la diversidad de resultados en esta patología cuando se utilizan diversas pruebas diagnósticas, se recomienda no descuidar el uso de equipos de protección personal en las actividades de faena para evitar el riesgo de infección en los trabajadores.

SUMMARY

Leptospira is an infectious contagious disease of worldwide distribution, being one of the diseases with the most economic losses in the livestock industry in the entire world, the cause of this disease is a bacterium of the genus Leptospira being highly contagious for animals and man. The objective of this work was to diagnose the presence of leptospira in Manabí by means of a Direct and Indirect diagnostic test, since it is one of the provinces in Ecuador very hit by this disease, leaving great economic losses year after year, this research work was carried out in the municipal slaughter center of Portoviejo, this site being an ideal place for collecting samples, since in this place animals arrive from different parts of the province of Manabí and even from other provinces. Urine and blood samples were taken from 334 animals in the Portoviejo municipal slaughterhouse, the blood was taken directly from the jugular at the time of slaughter and the urine by direct puncture in the bladder at the time of evisceration, these samples were subjected to the MAT test composed of 4 serovars (Hardjo, Tarassovi, Sejroe and Wolffii) and to the dark field microscope (DFM) test, a total of 247 blood samples were viable and subjected to the MAT, 17% reacted positively to the Less than one serovar of leptospira, the serovar that presented the highest seroreaction was Hardjo. Of the urine samples, 228 samples were viable and submitted to the DFM, in 69.3% of the samples structures compatible with leptospira were observed, no significant differences were observed between the variables, age, sex, origin of the MAT positive animals and to the DFM, seropositivity was in the same proportion for all the variables. These allow identifying the diversity of results in this pathology when various diagnostic tests are used, it is recommended not to neglect the use of personal protective equipment in slaughter activities workers.

1. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis fue descrita por primera vez por Adolph Weil en 1886 donde observó un tipo particular de ictericia acompañado de esplenomegalia, disfunción renal, conjuntivitis y erupciones en la piel, denominándola enfermedad de Weil. Esta enfermedad fue relacionada con actividades fuera de casa en personas que tenían contacto con agua, siendo común entre los trabajadores de sumideros (alcantarillas) trabajadores de campos de arroz y mineros de carbón (Ellis 2015), esta enfermedad es zoonótica, distribuida a nivel mundial que afecta principalmente a animales domésticos y silvestres; según varios estudios también puede llegar afectar aves y anfibios (Alonso A., 2014). La leptospirosis afecta alrededor de 160 especies de mamíferos domésticos y silvestres y predomina en climas cálidos (Alonso A, 2014).

El ganado bovino es la especie más golpeada y con más pérdidas económicas en la industria ganadera, por los problemas que esta enfermedad causa a nivel reproductivo, siendo el serovar Hardjo el más frecuente a nivel mundial; en los bovinos se pueden presentar 2 fases de la enfermedad una crónica y otra aguda (Banda, 2012).

El ser humano es introducido en la cadena epidemiológica de modo accidental, puede adquirir la enfermedad por medio de dos formas de transmisión, una indirecta por medio del contacto con agua y suelo contaminados con orina de animales enfermos, y la otra a través de exposición directa con la orina de animales infectados. La enfermedad puede afectar a cualquier individuo expuesto, es más prevalente en el sexo masculino joven por sus actividades laborales o recreacionales y prevalece en los meses de épocas lluviosas (Pizarro, 2007).

Las ratas son los mayores difusores de la enfermedad entre los humanos, aunque están involucrados también otros roedores, animales domésticos como perros, gatos, cerdos, así como también el ganado bovino y equino (Pizarro, 2007). Los mamíferos infectados constituyen el reservorio, excretando el microorganismo por largo tiempo a través de la

orina y contaminando el ambiente. La sobrevivencia de las leptospiras se ve favorecida por un ambiente cálido, húmedo y un pH neutro o ligeramente alcalino (Alonso, 2014).

Se han descrito más de 220 serovares de leptospira, pero frecuentemente las infecciones se producen por un número limitado de serovares endémicos de una región o país y su presencia está íntimamente ligada a factores ecológicos y medioambientales (Pizarro, 2007).

2. ANTECEDENTES

En Venezuela Molina et al., (2019) realizaron un estudio en Los Llanos centrales del país, en bovinos a un panel al MAT integrado por 7 serovares, encontrando que el 70% de las fincas fueron seropositivas a leptospira, resultando ser más frecuentes el serovar Hardjo (64,47%) seguido de serovar Hebdomadis (22,48%); el sexo hembra fue el que presentó mayor seropositividad, se recomendó la elaboración de vacunas con los serovares circulantes detectados durante el estudio

En México Carmona et al. (2011) realizaron un estudio en animales cuyo destino final es el abasto al público (Animales para el consumo humano) , se recolectaron muestras de riñón y sangre en 187 animales , en el matadero de la ciudad de México , las muestras recolectadas fueron centrifugadas y se obtuvo el suero para probar en un panel de 7 serovares , siendo el más frecuente Hardjo con 39,9%; Tarassovi 7,10%; Pomona 3,04%; Grippotyphosa 1,52%; Icterohaemorrhagiae 1,52%; Bratislava 1,52% y Canicola 0,50%.

En Ecuador, en la ciudad de Loja Román and Chávez, (2016) realizaron un estudio en ganaderías recolectando 852 muestras de suero, en bovinos hembra en edad reproductiva y con antecedentes de aborto para detectar enfermedades con grandes pérdidas económicas entre ellas leptospira, y se encontró una alta tasa de positividad del 74,3% para leptospira en varias ganaderías, en este estudio también reporta que la raza o edad del animal no es impedimento para esta enfermedad ya que ataca a todas las razas y edades .

En Ecuador, específicamente en la Provincia de Manabí, Meza y Moreira, (2012) realizaron un estudio de prevalencia de leptospiras en la zona central de Manabí, utilizando la técnica del MAT a un panel integrado por 6 serovares, observando una seroprevalencia del 87,92% a leptospira; siendo el serovar Icterohaemorrhagiae el más prevalente con el 23,08%. De la misma forma Sosa, (2015) realizó un estudio en

mataderos de Riochico y Calderón del cantón Portoviejo a través de PCR en orina de bovinos faenados en estos mataderos, observando que el 27% (7/26) de las muestras fueron positivas a leptospira.

3. JUSTIFICACIÓN

Sosa, (2013) realizó un estudio piloto de detección de leptospira en el cantón Portoviejo en donde obtuvo un alto porcentaje de muestras positivas en animales de matadero el 17,80% , Ecuador en especial la Provincia de Manabí siempre se ha visto afectada en especial en épocas del invierno en donde existe un elevado índice de casos de leptospira como lo indica el Ministerio de salud pública en un reporte publicado en el (2020), siendo también está la provincia más vulnerable por el grado de desconocimiento de la enfermedad en esta publicación entre los cantones más afectados estaba Portoviejo y Olmedo (Pérez, 2003).

La prueba del MAT es la prueba indirecta más utilizada al momento de diagnosticar leptospira como lo menciona OMS (2012), mientras que entre las pruebas directas más utilizadas al momento de diagnosticar es la de Microscopio de campo oscuro (DFM) como lo menciona Guerrero y Villavicencio (2019)

El presente trabajo se realizó, teniendo en cuantos antecedentes de investigación anteriores con la finalidad de conocer si existe la presencia de leptospira en animales de la provincia de Manabí, se escogió como sitio idóneo el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo ya que en dicho sitio llegan animales de distintos lugares de la provincia de Manabí e incluso de otras provincias del Ecuador.

Nos vimos en la necesidad de brindar nuevos reportes, ya que aún la enfermedad está presente y Manabí es una de las provincias más golpeada año a año con esta enfermedad que deja incalculables perdidas económicas en el Ecuador.

4. HIPÓTESIS

Existe bovinos expuestos e infectados a leptospira spp en el centro de faenamiento municipal de Portoviejo provocando un riesgo a la salud pública.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de leptospira en bovinos sacrificados en el centro de faenamiento de Portoviejo por métodos diagnósticos directos e indirectos.

5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Detectar anticuerpos de leptospira en bovinos sacrificados en el centro de faenamiento de Portoviejo por medio de la técnica del MAT.
- Detectar leptospira en el sedimento de orina de los animales muestreados a través de la utilización de la técnica del Microscopio de Campo Oscuro.
- Determinar características (lugar de origen, sexo, edad) de animales reactivos al MAT y Microscopio de campo oscuro así mismo comparar lo hallazgos obtenidos en ambas pruebas a partir de los animales muestreados.

6. MARCO TEORICO

6.1. Leptospirosis

La enfermedad fue mencionada por primera vez en la literatura científica-médica en 1886 cuando Adolph Weil describió un tipo particular de ictericia en humanos, acompañada por esplenomegalia, disfunción renal, conjuntivitis y erupción cutánea (Adler, 2015).

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial ocasionada por bacterias del género Leptospira spp., que afecta a más de 160 especies de animales domésticos y silvestres que pueden padecer una afección de distinta gravedad o actuar como reservorios (Pizarro y Junino, 2007).

6.2. Leptospira

El género *Leptospira* pertenece al orden Spirochaetales y a la familia Leptospiraceae, que clásicamente comprenden dos especies: *Leptospira interrogans* que comprende todas las cepas patógenas para el hombre y los animales, aisladas no solo de las muestras clínicas procedentes de estos mamíferos, sino también del medio ambiente contaminado con la orina de los reservorios de mantenimiento y los portadores y *Leptospira biflexa*, que incluía las cepas saprófitas aisladas del medioambiente (Levett, 2001).

La *Leptospira interrogans* se divide en más de 200 serovares y 23 serogrupos de acuerdo con las aglutininas compartidas, esta clasificación tiene importancia epidemiológica ya que el cuadro clínico y en general la virulencia no se relaciona con el serovar (Abdulkader y Silva, 2008).

La leptospira es una bacteria muy fina, de 6 a 20 µm de largo y 0,1 a 0,2 µm de ancho, flexible, helicoidal, con las extremidades incursadas en forma de gancho, extraordinariamente móvil, aerobia estricta, que se cultiva con facilidad en medios artificiales. Puede sobrevivir largo tiempo en el agua o ambiente húmedo, templado, con pH neutro o ligeramente alcalino (Medina, 1998).

6.3. Reservorios

Los principales reservorios de la leptospira en ambiente urbano son los perros y las ratas, así como los bovinos, porcinos y equinos en el campo. La leptospira se adapta a huéspedes reservorios primarios, los cuales comúnmente son animales salvajes, estas mismas especies de leptospira también se presentan en casi cualquier otro huésped mamífero como huéspedes reservorio incidentales o accidentales (Acosta, 1994). Los bovinos son reservorios primarios de los serovares Hardjo y Pomona, y huéspedes accidentales del serovar. Grippotyphosa.

6.4. Transmisión

La leptospira se transmite entre animales por contacto directo o indirecto. La transmisión directa ocurre principalmente con la entrada de leptospiras por vía inhalatoria o conjuntival, procedentes de gotas formadas por dispersión de la orina de animales infectados (Lomar, 2000). La trasmisión indirecta es la más frecuente y generalmente ocasiona brotes epidémicos. Se produce por el contacto de las mucosas y/o piel con agua, lodo, terrenos o vegetación contaminada con orina de animales infectados (Moral, 2014).

En el bovino el modo más frecuente de transmisión en el caso de serovares adaptados como Hardjo, es la transmisión horizontal directa, mientras que la transmisión horizontal indirecta tiene un papel más importante en las infecciones accidentales y se produce tras la exposición del animal a un ambiente contaminado con material infectante. La transmisión de la infección entre hospedadores de mantenimiento se realizará independientemente de las condiciones climáticas y ambientales (Ellis W, 1994).

6.5. Patogenia

Al referirnos a la patogenia de la enfermedad, las leptospiras pueden introducirse en el organismo a través de las heridas cutáneas o incluso a través de la mucosa intacta, ante todo la conjuntiva y la que tapiza la bucofaringe y nasofaringe. Una vez que penetran los microorganismos se produce una leptospiremia y el patógeno se extiende por todos los órganos (Campos, 2014).

Las leptospiras se acantonan en el riñón, lugar de difícil acceso para los anticuerpos, la ubicación en los túbulos renales se ve facilitada por la producción de ureasa por parte de las leptospiras, posteriormente se multiplican en la luz de los túbulos contorneados renales, principalmente en las proximidades de las microvellosidades, donde la nefritis está provocada por el daño capilar (Campos, 2014).

Cuando las leptospiras invaden el músculo estriado provocan tumefacción, degeneración vacuolar de las miofibrillas y necrosis focal. En los casos graves, la vasculitis altera finalmente la microcirculación y aumenta la permeabilidad capilar con la consiguiente pérdida de líquidos e hipovolemia (Ginebra, 2001).

6.5.1 Forma anictérica

Según Acosta et al., (1994) señala que la forma anictérica constituye de 90 a 95% de los casos y presenta 2 fases:
Fase 1 o infecciosa. Presentación de cefalea, fiebre alta, escalofríos y mialgias severas, sobre todo en los miembros inferiores, en ocasiones acompañadas de hiperestesias, de igual forma la anorexia, las náuseas y el vómito ocurren en la mitad o más de los pacientes. Esta fase coincide con la presencia de la leptospira en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en la sangre (Dammert, 2005).

Fase 2 o inmune. Aparece después de un período corto de disminución importante de síntomas y fiebre, lo cual corresponde a la aparición de leptospira en la sangre y del LCR, Las manifestaciones clínicas son más acentuadas que en la fase 1. Hay reaparición de fiebre, casi siempre más baja que la fase 1, o puede faltar. También hay adenopatías, hepatomegalia, esplenomegalia y erupción. A nivel ocular y en forma característica se presenta fotofobia, dolor, hemorragia conjuntival e iridociclitis (Dammert, 2005).

6.5.2. Forma ictérica (síndrome de Weil)

Esta forma representa de 5 a 10% de los casos y es considerada la más severa de la enfermedad. Por lo general su curso clínico es continuo y no bifásico como la forma anictérica. Los síntomas iniciales son similares a los de ésta, pero en el día tercero o

sexto aparece ictericia progresiva con niveles de bilirrubina no mayores de 20 mg/dl y fosfatasa alcalina moderadamente elevada (Dammert, 2005).

En algunos pacientes la fase septicémica inicial evoluciona a una enfermedad ictérica grave, con disfunción renal, fenómenos hemorrágicos, alteraciones hemodinámicas cardiacas, pulmonares y neurológicas (Moral, 2014).

Las hemorragias generalizadas constituyen una de las manifestaciones clínicas más notorias de esta forma de enfermedad, epistaxis, sangrado del tracto gastrointestinal, hemorragias pulmonares que dan infiltrados pulmonares hasta en 40% de los casos. Además, se puede presentar sangrado a nivel de las glándulas suprarrenales y el sistema nervioso central (Acosta et al, 1994).

6.6. Respuesta inmune y vacunación

Abdulkader y Silva., (2008) menciona que durante toda la fase de leptospiruria, los niveles de IgM no se detectan en sangre, en cambio se puede detectar las IgG en la orina, aproximadamente a las 6 semanas después de la infección. Se produce lisis de las leptospiras, estos anticuerpos persisten por años en el animal y las IgM alcanzan pico máximo de 3 a 4 semanas y las IgG de 4 a 12 semanas tras infección (Castillo, 2014).

Se ha observado que los animales al ser hospederos naturales de un serovar en particular, por lo general muestran pocos efectos a la enfermedad, pero pueden llegar a desarrollarla si son infectados con un serovar distinto (Rodríguez, 2011).

De igual forma pueden ser hospederos de mantenimiento o accidentales, y a su vez, portar y transmitir diferentes serovares de leptospira (Levett, 2001).

Las vacunas para humanos y animales han sido usadas desde 1920 y casi todas eran preparadas con leptospiras inactivadas Raó et al, (2003). Las vacunas son serovar específicas y protegen por un corto período de tiempo, por ello la revacunación en distintos intervalos es necesaria para mantener los títulos de anticuerpos protectores. Estas vacunas están enfocadas en la situación local de la enfermedad y no representan la realidad de otras áreas con otros serovares endémicos (Bernardi y Ctenas2012).

Además, los animales que han sido vacunados contra la leptospirosis pueden tener anticuerpos frente a los serotipos presentes en la vacuna utilizada (Faine y Col, 1999).

Las vacunas constituyen una herramienta clave en los programas de control o erradicación, de igual forma las vacunas no eliminarán la infección de un hospedador ya infectado y, por lo tanto, deben administrarse antes de la exposición, lo ideal es vacunar al ganado vacuno antes de la posible exposición, y a partir de ese momento con una frecuencia anual, programando la vacunación de tal modo que preceda a los periodos de mayor riesgo (Adler y de la Peña, 2010).

6.7. Epidemiologia

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial, con mayor incidencia en las zonas tropicales que en las regiones con climas cálidos como la costa; actualmente su transmisión ocurre con mayor frecuencia en zonas donde hay expansión poblacional, especialmente en países en vías de desarrollo.

Los animales salvajes representan un reservorio importante para reinyectar continuamente a los animales domésticos y al hombre. La exposición ocupacional (granjeros, veterinarios, trabajadores de mataderos) y la exposición recreativa (a campantes, nadadores) son frecuentes (Achá, 1977).

Los reservorios de las leptospiras son animales que mantienen una relación de comensales con las bacterias y no sufren o sufren muy levemente la enfermedad y transfieren las Leptospiras a sus crías en útero o el periodo neonatal, favoreciendo la cadena de transmisión. Los portadores son aquellos animales que mantienen las Leptospiras viables y con capacidad de multiplicarse en sus riñones, excretándolas intermitentemente por la orina; muchos de estos pueden tener serología negativa (Faine et al., 1999).

El serovar Hardjo causa infección en el ganado vacuno en todo el mundo, y produce brotes de mastitis y aborto, también se puede encontrar en fetos abortados y en terneros prematuros (Ellis et al, 1981). Además, se ha aislado en fetos sanos, descarga vaginal y en el tracto genital, urinario y en semen de toros (Ellis et al, 1985).

En Venezuela en el año 1999 se recolectaron muestras de sangre de 384 bovinos en el municipio Alberto Adriani, estado Mérida y mediante la prueba de aglutinación microscópica resultaron positivos 231 muestras (60,1%) y 153 negativos (39,9%). El serovar Hardjo estaba presente en el 40,78% y el hebdomadis en un 30,74% de los sueros positivos, 72 (26,83%) reaccionaron aisladamente al serovar Hardjo, y 9 sueros (3,89%) al serovar Hebdomadis, el resto reaccionó contra más de un serovar. Se determinó asociación causal entre leptospira y los factores: sexo, vacunación, abortos y tipo de explotación (Ramírez, 1999).

Según Moles, (2002) en un estudio realizado en México, se analizaron resultados de 4.043 sueros de bovinos de distintas regiones, que fueron remitidos a un laboratorio de diagnóstico en el cual se empleó la técnica de aglutinación microscópica y se consideró la dilución 1:100 o mayor como positiva. El análisis indicó 31,1 % de seroprevalencia y las serovariedades más frecuentes fueron Hardjo, Wolffii y Tarassovi.

Arias, (2011) en dos predios del departamento de Puno en Perú recolectaron 116 muestras de sangre, los sueros se evaluaron mediante la Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT) para la detección de anticuerpos, empleándose una batería de cuatro serovares (Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Hardjo). Se obtuvo una prevalencia total de 2,6% y el serovar Icterohaemorrhagiae fue el único prevalente con un nivel de anticuerpos de 1:200.

Albarracín., (2011) realiza un estudio en los hatos ganaderos de la Hoya de Loja, Ecuador, en el cual se examinaron 152 muestras de sangre obtenidas, de los barrios del sector norte, sur, este y oeste, el método de laboratorio empleado fue el de aglutinación microscópica (MAT) obteniendo una prevalencia del 48,1% (73/152) en el cual se detectó los siguientes serotipos: Hebdomadis con el 29,7%, Icterohaemorrhagiae con el 13,4 %, Pomona con 12,5 %, Canicola con 11,3% Bratislava con 8,8%, Sejroe con 6,7%, Hardjo con 5,9%, Pyrógenes con 3,7 %, Wolffii y Tarassovi con 2,9% y Autumnalis con el 2,2%.

Hurtado, (2013) realizaron un estudio descriptivo para determinar la prevalencia de leptospirosis en bovinos de zonas rurales de Montería, Colombia en donde se colectaron

muestras de suero de 26 toros y 137 vacas procedentes de 28, los cuales fueron analizados mediante técnica de microaglutinación (MAT) y se utilizaron antígenos de los serovares Pomona, Hardjo, Canicola, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae, estableciendo una prevalencia de 41% utilizando un punto de corte 1:20. Los serovares prevalentes fueron grippotyphosa (29,85 %) Hardjo e Icterohaemorrhagiae (28 y 16,41 %).

Conjuntamente Román et al, (2014) en un estudio realizado en las unidades productivas agropecuarias bovinas de las parroquias urbanas y rurales del cantón Loja, Ecuador, analizaron 600 muestras sanguíneas de hembras bovinas en edad reproductiva procedentes de 136 fincas mediante la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) utilizando 25 serovariedades. Se obtuvieron 449 casos positivos en bovinos, se detectaron una seroprevalencia del 75%. Las especies de *Leptospira interrogans* identificadas en los animales fueron: L. Bataviae Swart, L. Grippotyphosa, L Sejroe, L. Icterohaemorrhagiae, L. pomona, L. canicola, L. Autumnalis, L. Hardjo, L. Hebdomadis, L. Wolffi, L. Tarassovi, L. Castellonis, L. Saxkoebing, L. Australis, L. Pyrogenes, L. Panamá, L. Djasiman, L. Javanica, L. Shermani.

Burgos et al. (2019) en la provincia de Manabí, Ecuador, entre el 2015 y 2016 realizaron un estudio epidemiológico de tipo transversal, en el cual seleccionaron 7 cantones y se muestrearon un total de 845 animales pertenecientes a 67 hatos, utilizando la técnica de aglutinación microscópica (MAT) los sueros fueron enfrentados a ocho serovares Canicola, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Wolffii, Bratislava y Copenhageni, obteniendo una prevalencia a nivel de hatos del 97,01%, siendo más frecuentes los serovares Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Bratislava y Canicola.

6.8. Diagnóstico laboratorial

Las técnicas utilizadas para el diagnóstico laboratorial de la leptospirosis se pueden dividir en dos grandes grupos: técnicas indirectas, basadas en la detección de anticuerpos frente a las leptospiras, y técnicas directas que se basan en la detección de leptospiras o sus antígenos y/o ácidos nucleicos en los tejidos y/o fluidos corporales. En el caso de

muestras procedentes de fetos, las técnicas directas están más indicadas que las indirectas, ya que el diagnóstico individual cobra mayor importancia. En el caso de muestras de animales adultos, las técnicas indirectas se utilizan más frecuentemente, pues son más sencillas de realizar y su coste es menor (Ellis, 1986).

6.8.1 Técnicas indirectas

Las técnicas serológicas son las pruebas laboratorio más utilizadas tanto para el diagnóstico como para la realización de estudios epidemiológicos. Su mayor desventaja es que los niveles de anticuerpos, aunque pueden mantenerse durante años, alcanzan niveles indetectables, incluso en el momento del aborto, puesto que éste suele producirse tiempo después de la infección. Además, en el caso de infección por serovares adaptados (como es el caso del serovar Hardjo), el animal puede no presentar respuesta de anticuerpos detectable (Ellis, 1996).

6.8.1.1. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)

La prueba serológica de oro es la microaglutinación (MAT), vista con un microscopio de campo oscuro, en el que los anticuerpos de los sueros de los pacientes aglutinan leptospiras vivas de una batería de serovariedades de referencia (incluyendo idealmente serovariedades caracterizados de la localidad de donde provienen los pacientes) representantes de los principales serogrupos patógenos (Romero y Falconar, 2016).

Este es el método de preferencia a la hora de evaluar leptospira, consiste en una prueba de detección de anticuerpo, en la cual se mezcla en suero problema con un cultivo de células vivas de leptospira luego de incuba y se lee si hubo aglutinación, esta prueba fue creada en 1917 por Martin y Pettit tiene una sensibilidad de 97,7% y una especificidad de 95% (Castillo,2014). La prueba serológica de oro es la micro aglutinación (MAT), vista con un microscopio de campo oscuro, en el que los anticuerpos de los sueros de los pacientes aglutinan leptospiras vivas de una batería de serovariedades de referencia incluyendo idealmente serovariedades caracterizados de la localidad de donde provienen los pacientes, representantes de los principales serogrupos patógenos (Romero y Falconar, 2016).

6.8.1.2. Inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

Esta es una prueba de detección de anticuerpos presentes en suero sanguíneo que reaccionan al ponerlos en contacto con el antígeno, es similar al MAT (Castillo,2014).

6.8.1.3. Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Esta prueba de diagnóstico sirve para detectar IgM que se agudiza en presencia de la enfermedad tiene una sensibilidad y especificidad de 79% y 100%, respectivamente (Castillo,2014).

6.8.2 Técnicas Directas

6.8.2.1. Cultivo

El cultivo y el aislamiento de leptospira es considerado un método definitivo, aunque es una técnica que no es muy utilizada debido a su baja sensibilidad y a los largos periodos de incubación, esta técnica es utilizada cuando se realiza un estudio epidemiológico a fondo y que con ella se puede detectar cepas y patogenia (Rúales, 2014).

6.8.2.2. Microscopio de campo oscuro (DFM)

Este método consiste en observar la bacteria a partir de sedimentos con ayuda de un microscopio de campo oscuro, esta técnica también tiene su grado de dificultad si bien se observan las leptospira, también se pueden confundir con cadenas proteicas en la orina (Castillo,2014).

6.8.2.3. Reacción de la cadena de la polimerasa (PCR)

Esta es la técnica de extracción de ADN o más conocida como PCR, siendo este uno de los métodos con alta sensibilidad y especificidad (Morales, 2014).

7. DISEÑO METODOLÓGICO

El presente trabajo investigativo se realizó en el Centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo, ubicado en la ciudadela el Progreso, el cual estuvo compuesto por dos etapas: la primera etapa que consistió en la toma de muestra y el levantamiento de información relacionada al animal, comprendida dentro de los meses Marzo, Abril, Agosto, Septiembre del 2019, y la segunda etapa de procesamiento de muestras en el laboratorio y análisis de la información comprendida en los meses de Diciembre 2019 a Enero 2020. La información fue procesada y a su vez analizada por provincias (Manabí y Santo Domingo) y así mismo para tener un mayor grado de entendimiento fue analizada por cantones y se realizó una prueba de concordancia entre los resultados.

7.1 Calculo del tamaño muestreal y tipo de muestreo

Se realizó asumiendo una prevalencia del 50%, un error del 5% y un nivel de significancia al 95% a partir del total de animales que se faenaron en el Centro de Faenamiento de Portoviejo en el año anterior al muestreo en el año 2018 (anexo 1) para lo cual se aplicó la fórmula de proporciones. Obteniendo una muestra ajustada de 334 animales los mismos que fueron seleccionados por conveniencia durante los meses de muestreo detallados en la tabla 1.

Tabla 1 Muestras recolectadas durante los meses de estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante el año 2019

Mes	**Nº**
Marzo	136
Abril	54
Agosto	108
Septiembre	36
Total	334

7.2 Recolección y procesamiento de muestra

De los animales seleccionados se recolectó 5 ml de sangre de la vena yugular en el momento del sacrificio con la ayuda de un tubo tipo vacutainer, y una muestra de orina (Aprox. 5 ml) al momento de la evisceración mediante cistocéntesis con la ayuda de una jeringa estéril que posteriormente fue trasvasado en un tubo tipo falcón. Posteriormente las muestras fueron llevadas a los laboratorios Agropecuarios de la Universidad Técnica de Manabí, ubicados en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana particularmente al área de Leptospira. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3200 rpm por un tiempo de 15 minutos. Los sueros sanguíneos recolectados fueron trasvasados en un tubo eppendorf de 1,5 ml y almacenadas a -20ºC hasta su posterior procesamiento mediante la técnica del MAT, mientras que las muestras de orina fueron sometidas a prueba de DFM.

7.3.-Pruebas diagnósticas

7.3.1. Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT)

Las muestras en el laboratorio fueron sometidas al MAT a un panel de 4 serovares de leptospiras: Hardjo, Sejroe, Tarassovi y Wolffii, con la finalidad de detectar anticuerpos contra leptospira. Esta prueba consistió en 2 momentos la primera el tamizaje (screenning), en la cual se colocó solución fisiológica, suero problema y el antígeno se mandaba a la incubadora por un lapso de tiempo de 1 hora a 37grados. Posterior a esto las pruebas que presentaban aglutinación, se las sometía a titulación en la cual se colocaba 50 micro litros de solución en cada pocillo de arriba abajo y eliminando los 50 micro litros restantes quedando una dilución de 1:100 a 1:600.

Se consideró como muestra positiva aquella muestra que presentaba aglutinación en más del 50% del campo observado y el serovar elegido era considerado el que presentaba un título más alto en la titulación. También fueron considerados co-aglutinación en aquellas muestras que reaccionaron a más de un serovar con un mismo título.

7.3.2. Técnica de Microscopio de campo oscuro (DFM)

Las muestras de orina que se encontraban en tubos fueron centrifugadas a 3200 rpm por un tiempo de 30 minutos. Posteriormente se eliminó el sobrenadante y el sedimento fue colocado aproximadamente 3 ul en una placa porta objeto para ser observada al microscopio de campo oscuro a 100X (Banda, 2012). El criterio diagnóstico para declarar una muestra positiva fue la existencia de estructuras compatibles con la forma de la leptospira (Banda, 2012).

7.4 Análisis estadístico

Se realizó comparaciones de proporciones al comparar las características (procedencia, sexo y edad) de los animales positivos al MAT y DFM contra los negativos mediante la Prueba Exacta de Fisher (Fisher Exact Test) utilizando un valor $p \leq 0,05$ para determinar diferencias estadísticas entre las proporciones con la ayuda del software R, además se realizó una prueba de concordancia (kappa) entre los resultados observados en el MAT con las observaciones mediante la técnica DFM.

8. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación fueron los siguientes:

8.1. Característica de los animales seleccionados para el estudio según su procedencia, edad y sexo en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019

Un total de 334 animales fueron seleccionados para el estudio provenientes del centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo correspondiendo el 84% de las muestras a la provincia de Manabí; el 13,5% a la provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas, ver tabla 2. En cuanto al sexo de los animales muestreados se evidenció que el 70,7 % de las muestras correspondieron a hembras y el 23,3 % a machos. La edad fue tomada de forma presuntiva por medio de entrevista del veterinario que realiza la inspección lo que evidenció animales comprendidos entre 3 a 6 años de edad, porcentajes que se detallan en la tabla 3.

Tabla 2.- Procedencia de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a Septiembre del 2019

Provincia	**Total**	**Porcentaje**
Manabí	281	84,1
Santo Domingo de los Tsáchilas	45	13,5
No identificadas	8	2,4
Total	334	100,0

Tabla 3.- Características según el sexo y edad de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019

Procedencia	**Sexo**		**Edad**			
	H	M	3	4	5	6
Manabí	200	81	89	90	101	1
Santo Domingo de los Tsáchilas	30	15	15	15	15	0
No identificadas	6	2	2	4	2	0
Total	236	98	106	109	118	1
Porcentaje	70,7	29,3	31,7	32,6	35,3	0,3

8.2. Característica de las muestras de sangre proveniente de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019

Del total de las muestras que comprenden a la provincia de Manabí, el 73,3% resultaron en muestras viables para el análisis de laboratorio, mientras el 26,7% fueron no viable (deteriorada); en la provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas el 75,6% fueron muestras viables y el 24,4% no viables, ver tabla 4.

Tabla 4.- Porcentaje de muestras de sangre viables para el procesamiento en el laboratorio provenientes del centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses marzo a septiembre del 2019

Provincia	**Sangre**				**Total**	**%**
	Nº	%	Dt	dt%		
Manabí	206	73,3	75	26,7	281	84,1
Santo Domingo de los Tsáchilas	34	75,6	11	24,4	45	13,5
No identificadas	7	87,5	1	12,5	8	2,4
Total	247	73,0	87	27,0	334	100,0

dt=muestra deteriorada

8.3. Característica de animales positivos al MAT de acuerdo al lugar de procedencia

De las 247 muestras de sangre recolectadas, el 17,0% fueron seropositivas al MAT contra leptospira; la provincia de Manabí presento una prevalencia del 17,5% y la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas de 17,6%, no se observó diferencias estadísticas entre estas prevalencias en las dos provincias, ver tabla 5. Al evaluar la seropositividad por cantones, Flavio Alfaro y Sucre presentaron 50% de positividad en sus muestras, seguido del cantón Santa Ana con el 28,6%; los cantones Chone y Portoviejo presentaron prevalencias del 17,9% y 17,6% respectivamente, no se observaron diferencias significativas entre los porcentajes observados en la provincia de Manabí, ver tabla 6.

Tabla 5.- característica de animales positivos al MAT por provincia

Provincia	Positivo	Negativo	Porcentaje
Manabí	36	170	17,5
Santo Domingo de los Tsáchilas	6	28	17,6
No identificadas	0	7	0,0
Total	42	205	17,0

Fisher's Exact Test valor p=0,7339

Tabla 6.- característica de animales positivos al MAT por cantón

Provincia	Cantón	Positivo	Negativo	Porcentaje
Manabí	Portoviejo	26	122	17,6
	Chone	5	23	17,9
	Pichincha	1	15	6,3
	El Carmen	0	3	0,0
	Santa Ana	2	5	28,6
	Flavio Alfaro	1	1	50,0
	Sucre	1	1	50,0
Santo Domingo de los Tsáchilas		6	28	17,6
Sin Identificación		0	7	0,0
Total		42	205	17,0

Cantones de Manabí, Fisher's Exact Test valor p=0,3463

8.4. Características de los animales positivos al MAT por sexo.

Cuando se evaluó la seropositividad por sexo, se evidencio que las hembras presentaron el 17,3% de positividad y los machos el 16,2%, no observando diferencias significativas entre estos porcentajes, los positivos por sexo y cantón son descritos en la tabla 7.

Tabla 7.-características de los animales positivos al MAT en relación al sexo por cantones

Provincia	**Cantón**	**Hembra**		**Macho**	
		(+)	(-)	(+)	(-)
Manabí	Portoviejo	20	91	6	31
	Chone	2	16	3	7
	Pichincha	1	7	0	8
	El Carmen	0	2	0	1
	Santa Ana	2	2	0	3
	Flavio Alfaro	1	1	0	0
	Sucre	1	1	0	0
Santo Domingo de los Tsáchilas		3	18	3	10
Sin Identificación		0	5	0	2

Total	30	143	12	62
Porcentaje	17,3		16,2	

Fisher's Exact Test valor p=1

8.5. Características de los animales positivos al MAT de acuerdo a la edad.

Del total de animales analizados por medio del MAT en relación a la edad se puede observar que los porcentajes mayores fueron observados a medida que la edad se incrementa, tal como se describe en la tabla 8, sin embargo, no se observó diferencias estadísticas entre los porcentajes observados en las diferentes edades.

Tabla 8.- Porcentaje de animales positivos al MAT de acuerdo a la edad

Edad / Años	Positivas	Negativas	Porcentaje
3	9	68	11,7
4	12	67	15,2
5	20	70	22,2
6	1	0	100,0
Total	42	205	17,0

Fisher's Exact Test valor p=0,06212

8.6. Serovares de leptospira usados en el MAT que resultaron más frecuentes en las muestras de sangre obtenidas en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo.

Una vez evaluado las muestras los serovares más frecuentes en los animales muestreados en el centro de faenamiento municipal de Portoviejo, Hardjo fue el serovar que presento mayor porcentaje, seguido de los serovares Tarassovi y Wolffii, los cuales se encuentran descritos en la tabla # 10; sin embargo, no se encontró diferencias entre las proporciones entre los serovares analizados.

Tabla 9.- característica de animales reaccionantes a los serovares de leptospira por lugar de procedencia (serovar con título más alto)

Provincia	Cantón	Serovares				Coagl
		Hardjo	Sejroe	Tarassovi	Wolffii	
Manabí	Portoviejo	9	3	4	7	3
	Chone	1	0	3	1	
	Pichincha	0	0	1	0	
	El Carmen	0	0	0	0	
	Santa Ana	0	1	1	0	
	Flavio Alfaro	0	0	0	0	1
	Sucre	0	0	0	1	
Santo Domingo de los Tsáchilas		3	2	1	0	
Sin Identificación		0	0	0	0	
Total		13	6	10	9	4
Negativos		234	241	237	228	243
Porcentaje		5,3	2,4	4,0	3,8	1,6
IC 95%		2,8-8,0	0,5-4,3	1,6-6,5	1,3-6,0	0,0-3,2

Coagl=coaglutinación cuando una muestra reacciona a más de un serovar a un mismo título

8.7. Títulos alcanzados en animales reaccionantes al MAT en muestras recolectadas en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo

Al evaluar los títulos alcanzado en los diferentes serovares que comprendían la batería diagnóstica, el 52,4% de los titulo alcanzaron una titulación de 1/100; el 33,3% reacciono a 1/200; el 11,9% a 1/400 y el 2,4% a títulos de 1/600, se logró observar co-aglutinación en 4 muestras con títulos de 1/100 a 1/400 tal como se observa en la tabla 10.

Tabla 10.- títulos alcanzados en las muestras positivas al MAT en los animales faenados durante los meses de marzo a septiembre del 2019

Serovar	**Títulos**				**Total**
	1/100	1/200	1/400	1/600	
Hardjo	8	2	2	1	13
Sejroe	2	4	0	0	6
Tarassovi	4	4	2	0	10
Wolffii	6	3	0	0	9
Co-aglutinación	2	1	1	0	4
Total	22	14	5	1	42
Porcentaje	52,4	33,3	11,9	2,4	

8.8. Característica de las muestras de orina proveniente de los animales seleccionados para el estudio en el centro de faenamiento del cantón Portoviejo durante los meses Marzo a septiembre del 2019

Del total de animales seleccionados se obtuvo un 69,3% de muestras efectivas para el análisis de laboratorio y un 30,7% de animales no se pudo obtener una muestra viable. Del total de muestras correspondientes a la provincia de Manabí 195 muestras fueron viables, 30 de la provincia de Manabí y 3 de procedencia no identificada, las cuales están descritas en la tabla 11.

Tabla 11.- número de muestras de orina obtenidas de los animales seleccionados en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses de marzo a septiembre del 2019

Provincia	**Orina**				**Total**	**%**
	Nº	**%**	**So**	**so%**		
Manabí	195	69,4	86	30,6	281	84,1
Santo Domingo de los Tsáchilas	30	66,7	15	33,3	45	13,5
No identificadas	3	37,5	5	62,5	8	2,4
Total	228	69,3	106	30,7	334	100,0

So= animal sin muestra viable

8.9. Característica de animales positivos al microscopio de campo oscuro de acuerdo al lugar de procedencia

De un total de 158 muestras de orina el 69,3% resultaron ser positivas a la técnica de campo oscuro (DFM), correspondiendo al 100% de positividad en las muestras no identificadas su procedencia, seguido de las provincias de Santo Domingo de Los Tsáchilas con el 76,7% y 67,7% respectivamente ver tabla 12

Tabla 12.- característica de animales positivos al DFM por provincia

Provincia	**Positivo**	**Negativo**	**Porcentaje**
Manabí	132	63	67,7
Santo Domingo de los Tsáchilas	23	7	76,7
No identificadas	3	0	100,0
Total	158	70	69,3

Fisher's Exact Test valor p=0,4479

Cuando se evaluó los porcentajes de positividad al DFM por cantones en la provincia de Manabí, se observó diferentes porcentajes, sin embargo, al ser comparados estadísticamente no presentaron diferencias estadísticas significativas ver tabla 13.

Tabla 13.- Característica de animales positivos al DFM por cantones

Provincia	Cantón	Positivo	Negativo	Porcentaje
Manabí	Portoviejo	103	50	67,3
	Chone	18	4	81,8
	Pichincha	7	3	70,0
	El Carmen	1	1	50,0
	Santa Ana	1	4	20,0
	Flavio Alfaro	1	1	50,0
	Sucre	1	0	100,0
Santo Domingo de los Tsáchilas		23	7	76,7
Sin Identificación		3	0	100,0
Total		158	70	69,3

Fisher's Exact Test valor p=0,1682

8.10. Característica de los animales positivos al DFM de acuerdo al Sexo

Cuando evaluamos la positividad al DFM de acuerdo al sexo, el 74,7% correspondieron al de los animales Machos y el 66,7% a Hembras, no se observó diferencias estadísticas entre estos porcentajes, tal como son observados en la tabla 14.

Tabla 14.- Número de muestras positivas a DFM por sexo y cantón a partir de muestras procedentes del centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses de marzo a septiembre del 2019

Provincia	**Cantón**	**Hembra**		**Macho**	
		(+)	(-)	(+)	(-)
Manabí	Portoviejo	68	42	35	8
	Chone	13	2	5	2
	Pichincha	4	0	3	3
	El Carmen	0	1	1	0
	Santa Ana	0	1	1	3
	Flavio Alfaro	1	1	0	0
	Sucre	0	0	1	0
Santo Domingo de los Tsáchilas		15	4	8	3
Sin Identificación		1	0	2	0
Total		102	51	56	19
Porcentaje		66,7		74,7	

Fisher's Exact Test valor p=0,2847

8.11. Característica de los animales positivos al DFM de acuerdo a la edad

Al evaluar esta característica podemos observar que porcentajes mayores son observados en los animales de menor edad, sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ver tabla 15.

Tabla 15.- edad en años de animales positivos al DFM a partir de muestras obtenidas en el centro de faenamiento municipal del cantón Portoviejo durante los meses de marzo a septiembre del 2019

Edad/ Años	Positivas	Negativas	Porcentaje
3	44	18	75,9
4	59	21	73,8
5	55	31	64,0
Total	158	70	69,3

Fisher's Exact Test valor p=0,357

8.12. Características de animales positivos para las 2 pruebas diagnósticas

De un total de 181 muestras sometidas a ambas pruebas de diagnóstico 25 muestras resultaron positivas para la Prueba del MAT y DFM, y 47 muestras resultaron negativas a ambas pruebas, al realizar la prueba de concordancia obtenemos un valor de 0,018, lo que indica que pobre concordancia entre ellas.

Tabla 16.- Resultados obtenidos en la prueba de concordancia a las dos pruebas diagnósticas MAT y DFM en bovinos sacrificados en el centro de faenamiento de Portoviejo

DFM	**MAT**		**Total**
	Positivo	Negativo	
Positivo	25	99	124
Negativo	10	47	57
Total	35	146	181

Coeficiente Kappa: 0,018

9. DISCUSIÓN

La leptospira es una enfermedad infecto-contagiosa distribuida a nivel mundial y conocida por dejar pérdidas económicas en la industria ganadera, es una enfermedad zoonótica que afecta a los humanos, siendo el principal causante los roedores, tiene una alta tasa de contagios es considerada una enfermedad febril que afecta a los animales domésticos e incluso al hombre es altamente contagiosa puede transmitirse mediante exposición directa a la bacteria, aguas estancadas o alimentos contaminadas.

La prevalencia observada en esta investigación es igual a la reportada por Ordoñez, (2017) la cual realizo su estudio en varias provincias del Ecuador (Manabí, Azuay, Santo domingo, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo y Zamora Chinchipe) donde obtuvo el 17% de prevalencia para leptospira a partir de una muestra de 2.668 animales; diferentes prevalencias fueron reportadas por Meza y Moreira (2012) donde observaron una prevalencia superior al 87,92% a partir de 513 muestras obtenidas de los cantones de la zona central de Manabí; por otra parte Román y Chávez (2016) en la ciudad de Loja al sur de Ecuador obtuvo el 75% de seropositivos a partir de un total de 600 muestras. En Barranquilla, Colombia Martínez, (1999), encontró una prevalencia de 21,7% a partir de un grupo de 350 animales.

En Manabí Burgos et al, (2019) realizaron una investigación para determinar la seroprevalencia de leptospira spp y los principales serovares circulantes en la provincia de Manabí, reportaron una prevalencia del 57,3% a partir 854 muestras tomadas de varios cantones de la provincia de Manabí (Junín, Chone, Flavio Alfaro, El Carmen, Jama, Tosagua y Bolívar). La posibles causas de tener una baja prevalencia a comparación con los estudios ya mencionados es que en su mayoría todos los estudios utilizan un panel de más de 5 serovares y se utilizan varios serovares que no fueron utilizados en este estudio así mismo el número de muestras recolectadas son superiores por otro lado se reporta prevalencias inferiores por Arias, (2011) en Perú a partir de 359 animales obteniendo un 1,3% de prevalencia, utilizando una prueba de detección de anticuerpos (MAT).

El MSP, (2020) señala que la época lluviosa es el momento del año en donde los casos de leptospira aumentan, lo que es corroborado por Hernández et al, (2017) que señala que las condiciones climáticas es un factor importante al momento de realizar un estudio de leptospira ya que el invierno favorece a la propagación de la enfermedad. Es posible que este factor climático sea el causante de haber obtenido una prevalencia de 17%.

Aunque numéricamente Hardjo fue el serovar mas reaccionante, estadísticamente se presentó en igual proporción para los 4 serovares del panel de esta investigación, contrario a lo reportado por Meza y Moreira (2012) donde el serovar Icterohaemorrhagiae fue el más frecuente en lecherías de la zona central de Manabí. El serovar Hardjo es considerado el serovar hospedador de mantenimiento en los bovinos (Alder y Moctezuma 2010). En Brasil Cervantes (2002) demostró que Hardjo es el serovar más frecuente y tiene una distribución del 80,9% en un estudio realizada en 21 granjas lecheras del país, así como es observado en la mayoría de países de América del Sur donde reaccionan a este serovar; de igual forma lo afirma Barrientos et al., (1999) en su estudio realizado en Venezuela en donde obtuvo el 50,8% de reacción a favor del serovar Hardjo a partir de 13.000 muestras obtenidas de animales de diferentes edades de 30 fincas lecheras; algo que discrepa Burgos et al, (2019) ya que en su investigación reporta como el serovar mas reaccionante fue Pomona 27,9% seguido de Icterohaemorrhagiae pero obtuvieron porcentajes bajos para Wolffii 9,2% y Hardjo fue el más bajo en su investigación con un 1,9% muy similar a lo reportado por Meza y Moreira (2012). Es muy probable que en esta investigación no se obtuvo un serovar estadísticamente más reaccionante porque en nuestro panel de serovares no estuvieron incluidos varios de los serovares utilizados por otros autores.

El sexo fue una característica que presentó igual proporciones de seropositividad tanto en hembras como en machos, Ramírez (2000) por su parte encontró el 56% de seropositividad en Hembras en su estudio, sin embargo Hurtado et al., (2013) tuvo un 34,4% de seropositivos de leptospira en hembra. Muestras tomadas de bovinos hembra ya que cita que es el sexo que más problemas y pérdidas económicas tiene como lo cita OIE (2018).

En cuanto al índice de concordancia de este estudio se obtuvo un 0,018 esto quiere decir una pobre concordancia, el motivo es que las pruebas utilizadas fueron totalmente diferentes una detectaba anticuerpos y otra la presencia de la bacteria, se obtuvo un número más altos de positivos con la prueba de DFM que con la del MAT. Orellana (2013) establece que la prueba de MAT reacciona positivamente cuando existe presencia de anticuerpos en sangre por ser una prueba indirecta al momento del diagnóstico de leptospira, lo que podría estar indicando una exposición previa al agente infeccioso ya sea de manera natural o artificial por medio de la vacunación. Por otra parte, Castillo (2014) considera que la prueba directa de DFM es más complicada al momento de observar al microscopio las leptospira, sin embargo, sirve de indicio para establecer el estatus infeccioso al detectar un animal positivo a esta prueba, donde el animal puede estar recientemente infectados y diseminar la bacteria por la orina.

La pobre concordancia encontrada en este estudio es similar a la encontrada por Velasco y col, (2007) donde en su estudio encontró que el 87% de muestras fueron positivas al DFM a diferencia del 20% al MAT.

Por otra parte, buenas concordancias son observadas cuando se comparan técnicas indirectas entre sí, tal como lo describe Lottersberger et al., (2002) en donde encontró una concordancia de 0,96 al evaluar ELISA versus MAT en un total de 356 muestras.

Se obtuvo un porcentaje del 27% de muestras de sangre que no fueron viables para el estudio a causa de una hemolisis de la muestras, algo parecido le ocurrió a Zúñiga (2015) en su estudio recolecto 56 muestras a perros para detección de leptospira mediante la técnica de MAT en el cual obtuvo 17% de las muestras le ocurrió hemolisis de la misma, las principales causas de esta hemolisis de las muestras es el manejo de las mismas ya que García (2011) afirma que una muestra de sangre mal manipulada es una muestra deteriorada, se debe manipular con total cuidado sin brusquedad porque suele ocurrir lisis de los eritrocitos. Una de las posibilidades del daño de la muestra es que se recolectaba directamente de la vena yugular al momento del degüello la sangre salía con mucha fuerza, a pesar de que se esperaba que los primeros chorros de sangre salieran para luego tomar la muestra, otro de los motivos que ocasionaron un daño es que al momento de degüello el personal del centro de faenamiento tienen la orden de tirar agua

con una manguera al animal y alguna gota de líquido puede haberle caído a alguna muestra.

10. CONCLUSIONES

Una vez concluido este trabajo investigativo se obtienen las siguientes conclusiones:

- Se detectó la presencia de anticuerpos de leptospira mediante la técnica de aglutinación microscópica (MAT) y se logró observar estructuras similares a leptospira mediante la técnica de microscopio de campo oscuro (DFM) en los bovinos del centro de faenamiento municipal de Portoviejo, existiendo una posibilidad de infección activa en aquellos animales evaluados al encontrar estructuras compatibles con leptospira spp.
- La seropositividad se presentó en igual proporción en todos los cantones, así mismo en hembras y macho y de igual forma por edad.

11. RECOMENDACIONES

- Se recomienda tener un plan piloto que se pueda activar en la época invernal, ya que es la temporada del año que más casos positivos de leptospira se presenta.
- Se recomienda tomar precauciones ya que es eminente la presencia de leptospirosis, y se presenta en iguales proporciones en todos los cantones de Manabí.

Implementar estudios con pruebas diagnósticas como la PCR que son reportadas con mejor confiabilidad al detectar animales infectados.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Adulador R., Dahir E.F., Camargo., Espinosa C., Da Silva. (2002). Leptospirosis severity may be associated with the intensity of humoral inmune response. Rev Inst Med Trop S. Paulo.44(2):79-83
2. Abdulkader Regina y Silva Marcos. (2008). The Kidney in leptospirosis. Nephrology review. Vol. 2. N° 23. p 2111-2120.
3. Acha P.N. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. O.P.S. Publicación Científica Número 354.- Año 1.977.- Pág. 57 – 62
4. Acosta, H.; C. Moreno y D. Viafara. (1994). Leptospirosis: Revisión del tema. Colombia Médica. Vol.25: 36 - 42. Obtenido de: http://colombia médica, univalle.edu.co/ Vol25 N°1/ leptospirosis.html
5. Adler, B. (2015). Leptospira and Leptospirosis. Springer Heidelberg New York Dordrecht London. 2015.
6. Adler B. y De La Peña A. (2010). Leptospira and leptospirosis. Vet. Microbiol., 140, 287–296
7. Albarracín, F. (2011). Prevalencia de leptospirosis en el ganado bovino en la Hoya de Loja. Obtenido de Universidad Nacional de Loja: http://dspace.unl.edu.ec:9001/jspui/bitstream/123456789/5469/1/PREVALENCIA%20DE%20LEPTOSPIROSIS%20EN%20EL%20GANADO.pdf
8. Alonso A. (2014). Epidemiologia, Diagnostico y Control de la leptospirosis bovina. From departamento de salud animal Universidad de Madrid. Recuperado: http://www.inia.es/gcontrec/pub/alons_1161095843046.pdf
9. Arias, F. (2011). Prevalencia de leptospirosis bovina en dos localidades de puno en época de seca y determinación de factores de riesgo. Obtenido de Redalyc: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000200014
10. Banda, C. (2012). Prevalence of leptospirosis and its relationship with pregnancy rate in cattle from the central zone of Veracruz. Nova Scientia, vol. 7, núm. 14, pp. 202-217

11. Bernardi y Ctenas. (2012). Receptores inmunes y moléculas de adhesión en la leptospirosis pulmonar humana. São Paulo.

12. Burgos, D.(2019). Determinación de la seroprevalencia de Leptospira spp. y los principales serovares circulantes en el ganado bovino en la provincia de Manabí. Obtenido de OIE: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/revue_plurithematique/2019/14032019-00143-ES_Burgos_Macias-Perez_Ruano_ESP.pdf

13. Campos, N. (2014). Leptospirosis. Med. leg. Costa Rica vol.31 n.2 Heredia.

14. Carmona., León., Lara., Castillo., Sánchez., de la Peña. (2011). Detección de Leptospira santarosai y L. kirschneri en bovinos: nuevos aislados con potencial impacto en producción bovina y salud pública. Scielo, vol. 42, Obtenido: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S030150922011000400003

15. Castillo, M. (2014). Leptospira en ganado Bovino. Obtenido de Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7131/MARISOL%20CASTILLO%20HERN%C3%81NDEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y

16. Dammert, N. (2005). Leptospirosis: Una revisión bibliográfica. San Marcos.

17. Ellis WA., Brien JJ., Cassells J. (1981). Role of cattle in the maintenance of *Leptospira interrogans* serotype Hardjo infection in Northern Ireland. Vet Rec; 108(26): 555-57.

18. Ellis WA., O'Brien JJ., Cassells JA., Neill SD., Hanna J. (1985). Excretion of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo following calving or abortion. Res Vet Sci; 39(3): 296-98.

19. Ellis W. (1986). The diagnosis of leptospirosis in farm animals, In: Ellis W.A., Little T.W.A. (Eds.) Present state of leptospirosis diagnosis and control. Martinus Nijhoff Publishers, pp.13-31.

20. Ellis, W. (1994). Leptospirosis as a cause of reproductive failure. Vet. Clin. North

21. Ellis W.A. (1996). Leptospirosis. O.I.E. Manual: Amedment I, 1-8

22. Ellis WA. (2010). Control of canine leptospirosis in Europe: time for a change? Vet Rec;167:602-5

23. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. (1999) Leptospira and leptospirosis. 2nd ed. Melbourne, Australia: Medisci.

24. Forbes, B., Sahm, D., y Weissfeld, A. (2009). Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires: Medica Panamericana.

25. Ginebra, O. (2001). Microorganismos espirales. Habana, Cuba: Microbiología y Parasicología Médicas Vol. 1.

26. Hurtado C, A. O. (2013). Seroepidemiología de la leptospirosis en bovinos con trastornos reproductivos en el municipio de Montería, Colombia. Revista de Medicina Veterinaria. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/mv/vol1/iss26/8/

27. Levett P. (2001) Leptospirosis. Clin. Microbiol. Rev. 14(2): 296-326.

28. Lomar. (2000). Infectius diasease clinics of North América. Recuperado el 2018 de noviembre, de Leptospirosis in Latin América: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2864/Arias_cm.pdf?sequence

29. Medina M. (1998). Centro de investigaciones de Enfermedades Zoonóticas y Tropicales.- Pág.- 37 - 47.

30. Meza J; Moreira D., (2013) Prevalencia de leptospirosis en diez hatos bovinos estabulados de la zona central de Manabí, en el segundo semestre de 2011. Universidad Técnica de Manabí. REV. Universidad Nacional de Loja. Obtenido de: file:///C:/Users/User/Downloads/65-Texto%20del%20art%C3%ADculo-227-1-10-20170203.pdf

31. Moles, C. G. (2002). Estudio serológico de leptospirosis bovina en México. Redalyc, 1-2.

32. Molina M., Pérez H., Mosquera O., Rodríguez K., Rivas R. (2019). Epidemiologia de la leptospira en la ganadería de los llanos centrales de Venezuela, diagnosticado por el instituto nacional de investigaciones. SemanticScholar. Recuperado: https://www.semanticscholar.org/paper/Epidemiolog%C3%ADa-de-la-

leptospirosis-en-la-ganader%C3%ADa-Molina-P%C3%A9rez/6b3cbb917cf5f62579937a53050dde977d372343

33. Moral, M. (2014). Guía para el Equipo de Salud. Recuperado de: Enfermedades Infecciosas Leptospirosis: http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000489cnt-guiamedica-leptospirosis.pdf

34. Moral, M. (2000). Guía para el equipo de salud. Recuperado de: Enfermedades Infecciosas Leptospirosis: http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/000000 0489cnt-guia-medica-leptospirosis.pdf

35. Morales. (2014). Diagnóstico de laboratorio en vigilancia de leptospira en la red nacional de laboratorios . Obtenido de laboratorio nacional de bacteriología

36. Pizarro, Zunino. (2007). Leptospirosis. Chil Infect, 24 (3):220-226.

37. Ramírez. (2000). Seroprevalencia de leptospirosis bovina en relación a los factores de riesgo en el municipio Alberto Adriani estado Mérida, Venezuela. Obtenido de Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias: https://go.gale.com/ps/anonymous?id=GALE%7CA498845324&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=07982259&p=AONE&sw=w

38. Rao., Naveen., Agarwal. (2003). Leptospirosis en India y el resto del mundo. Revista Brasileña de Enfermedades infecciosas.

39. Rodríguez, I (2011). The concept serovar in Leptospira. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 12, págs. 1-4. Recuperado de https://www.redalyc.org/pdf/636/63622567008.pdf

40. Román y Chávez. (2016). Prevalencia de enfermedades que afectan la reproducción en el ganado bovino lechero del cantón Loja. REV. Universidad Nacional de Loja. Obtenido de: file:///C:/Users/User/Downloads/65-Texto%20del%20art%C3%ADculo-227-1-10-20170203.pdf

41. Román y Chávez. (2014). Determinación de anticuerpos leptospirales en bovinos y en personal vinculado a la ganadería. Centro de Biotecnología. Universidad Nacional de Loja. Ciudadela Universitaria. "La Argelia". Loja-Ecuador Vol. 3 Nro. 1 Obtenido de Centro de Biotecnología: http://docplayer.es/80683835-

Determinacion-de-anticuerpos-leptospirales-en-bovinos-y-en-personal-vinculado-a-la-ganaderia.html

42. Romero, C. y Falconar, A. (2016). Leptospira spp. y leptospirosis humana. Scielo, 32, 123- 143.

43. Rúales, A. (2014). Optimización de un protocolo de extracción de ADN. Obtenido de http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10467/1/T-UCE-0014-032-2016.pdf

44. J. LOTTERSBERGER, R. PAULI, B. VANASCO M. Cs.(2002) . Development and validation of an ELISA test for the diagnosis of bovine Leptospirosis. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000100009&script=sci_arttext

45. Alexandra Revelo , Euclides De La Torre , Galo Martínez C , María Baquero C Yveth Casart (2002). Evaluación de métodos de extracción de ADN genómico para la identificación de Leptospira spp en muestras de orina bovino mediante por PCR

46. Sosa Moreno R, (2013) . estudio piloto de detección de leptospira en el cantón Portoviejo.

47. Guerrero M y Villavicencio T (2019) . Prevalencia de leptospirosis y factor de riesgo en la población animal.

48. Pérez, M (2003). Leptospirosis en Manabí. El Universo

49. Velasco, Rivas, Espinoza Martínez , (2007) Diagnostico de leptospira comparada con una técnica de aglutinación y 3 confirmatorias .

50. Piedad Agudelo-Flórez; Berta Nelly Restrepo-Jaramillo; Margarita Arboleda-Naranjo, (2007). Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general- Obtenido: https://www.scielosp.org/article/csp/2007.v23n9/2094-2102/es/

51. Ordoñez Guzmán María Teresa, (2017) tesis doctoral de Seroprevalencia y factores de riesgo de la infección por agentes reproductivos del ganado bovino (Brucella spp., Coxiella burnetii, *Leptospira interrogans* serovar Hardjo y Neospora caninum) en explotaciones lecheras y de doble propósito de Ecuador, Universidad de Córdoba

52. Patricia Hernández Rodríguez, Patricia Gómez, Carlos Villamil, (2017) Implicaciones de las prácticas agropecuarias urbanas y rurales sobre la transmisión de la leptospirosis Obtenido: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000700725

53. García Paola, (2011) Hemolisis de las muestras de sangre https://es.slideshare.net/PaoLaGarcia11/la-hemolisis-en-muestras-sanguineas

54. Zúñiga (2015) Detección de leptospira en perros callejeros https://www.portalveterinaria.com/articoli/actualidad/19657/los-diez-errores-mas-frecuentes-que-se-cometen-con-las-muestras-de-laboratorio.html

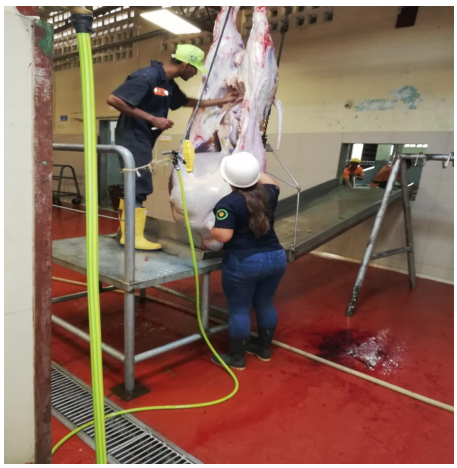
13. ANEXOS

Anexo 1.- Registros de bovinos sacrificios por mes en el centro de faenamiento de Portoviejo durante el año 2018

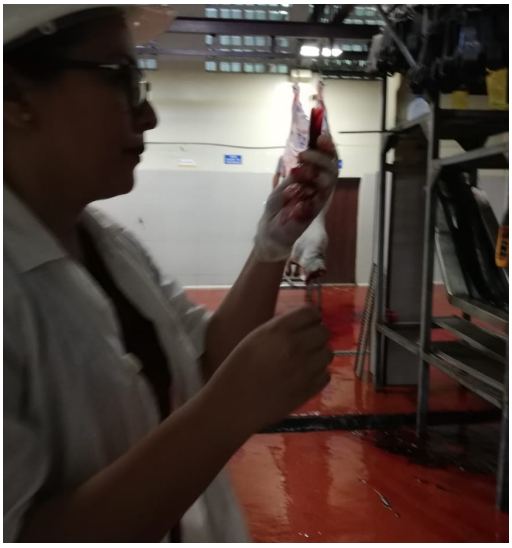
.

Meses	Bovinos	%
Enero	989	9,93
Febrero	830	8,34
Marzo	1101	11,06
Abril	681	6,84
Mayo	932	9,36
Junio	943	9,47
Julio	904	9,08
Agosto	777	7,81
Septiembre	690	6,93
Octubre	639	6,42
Noviembre	757	7,60
Diciembre	712	7,15
Total	9955	100

Anexo 2.- Obtención de muestras de sangre y orina de los bovinos sacrificados en el centro de faenamiento Portoviejo

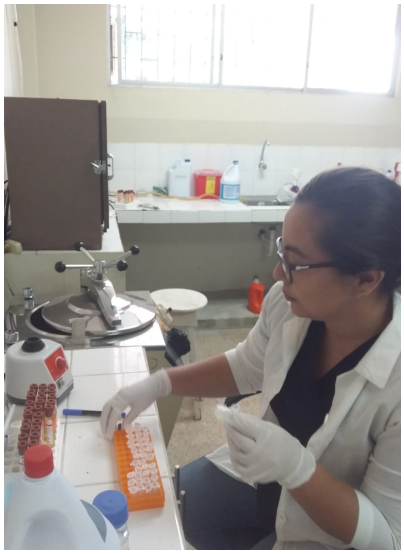


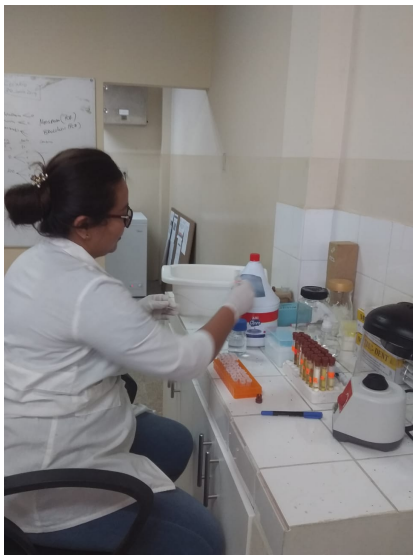
Punción directo a la vejiga para tomar muestra de orina



Recolección de muestra de sangre directo de la yugular al momento del sacrificio del animal

Anexo 3.- Procesamiento de muestra por las técnicas MAT y DFM en el área de Leptospira de los laboratorios de Ciencias Agropecuarias de la UTM





Procesamiento de las muestras en el área de leptospira en la Facultad de Ciencias Veterinaria extensión Lodana.