



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V



**Distribución espacial y factores de riesgo determinantes de
Leptospira en sistemas bovinos de traspatio en la zona centro de
Chiapas**

TESIS
que para obtener el grado de
**MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
TROPICAL**

Presenta
LILIANA DEL ROSARIO VELÁZQUEZ NORIEGA PS2097

Director de tesis
Dr. Gerardo Uriel Bautista Trujillo

Codirector de tesis
MC. Enrique Herrera López

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
Enero 2024.



Villaflores, Chiapas
06 de diciembre de 2023
Oficio N° FCACV/D/1233/23

M.V.Z. LILIANA DEL ROSARIO VELÁZQUEZ NORIEGA
MAESTRANTE EN CIENCIAS-EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS *CAMPUS V*
P R E S E N T E.

En atención a que usted ha presentado los votos aprobatorios del Honorable Jurado designado para su evaluación de posgrado, de la tesis titulada: **“Distribución espacial y factores de riesgo determinantes de *Leptospira* en sistemas bovinos de traspatio en la zona centro de Chiapas”**, por este conducto le comunico que se le autoriza la impresión del documento, de acuerdo a los lineamientos vigentes de la Universidad.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS
ATENTAMENTE
“POR LA CONCIENTIZACIÓN DE LA NECESIDAD DE SERVIR”
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE CHIAPAS
DIRECCIÓN
M. C. CARLOS ALBERTO VELÁZQUEZ SANABRIA
DIRECTOR

C. c. p. Archivo

CAVS*marh.



Código: FO-113-05-05

Revisión: 0

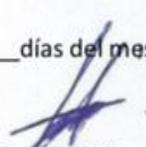
CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LA TESIS DE TÍTULO Y/O GRADO.

El (la) suscrito (a) Liliana del Rosario Velázquez Noriega,
Autor (a) de la tesis bajo el título de "Distribución espacial y factores de riesgo determinantes de *Leptospira* en sistemas bovinos de traspatio en la zona centro de Chiapas".

presentada y aprobada en el año 2024 como requisito para obtener el título o grado de Maestra en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical, autorizo licencia a la Dirección del Sistema de Bibliotecas Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH), para que realice la difusión de la creación intelectual mencionada, con fines académicos para su consulta, reproducción parcial y/o total, citando la fuente, que contribuya a la divulgación del conocimiento humanístico, científico, tecnológico y de innovación que se produce en la Universidad, mediante la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Consulta del trabajo de título o de grado a través de la Biblioteca Digital de Tesis (BIDITE) del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH) que incluye tesis de pregrado de todos los programas educativos de la Universidad, así como de los posgrados no registrados ni reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT.
- En el caso de tratarse de tesis de maestría y/o doctorado de programas educativos que sí se encuentren registrados y reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), podrán consultarse en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Chiapas (RIUNACH).

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; a los 10 días del mes de Enero del año 2024.


Liliana del Rosario Velázquez Noriega

Nombre y firma del Tesista o Tesistas

En memoria
de mi querido hermano:
LCC. Iván de Jesús Velázquez Noriega †
(15/05/1987 - 07/03/2000)

Por impulsarme siempre a tomar nuevos retos, demostrándome la confianza que tenías en mí, fuiste testigo del inicio de este sueño, sin embargo, Dios te llamo a su lado antes de verlo culminado, se quedan en mi corazón tu alegría y tu amor por la familia. Besos hasta el cielo mi Chunco, en donde seguramente estas feliz de verme lograr una meta más en mi vida profesional.

DEDICATORIA

A mis hijos **Ángel Eduardo, Emiliano y Santiago**, por cederme parte del tiempo que les pertenecía para que pudiera cumplir mi objetivo, porque en los momentos que parecía que no lo lograría, ustedes fueron mi fortaleza para continuar, gracias por todo su apoyo para cuidarse mutuamente cuando tuve que ausentarme, por sus abrazos y muestras de amor que me llenaban de buenas vibras, es por todo eso, que este logro se lo dedico a ustedes y no olviden que los sueños no se abandonan, aunque el camino se torne difícil. ¡Los amo hijitos!

A mi esposo **José Ángel**, por siempre apoyar mis proyectos, por las palabras de aliento que me brindabas en los momentos que me sentía agobiada, gracias por el entusiasmo que demostraste con cada logro alcanzado y porque juntos somos un gran equipo, te quiero mucho.

A mis padres **Sr. Ranulfo y Sra. Lesvia**, por el amor que me han brindado toda mi vida, apoyándome para que yo saliera adelante cuando estuve bajo su resguardo, gracias papitos por su esfuerzo para darme un futuro mejor, gracias a eso hoy estoy alcanzando un logro más como profesionalista, sin ustedes no sería lo que hoy soy, Dios los bendiga siempre.

A mis hermanos **Javier y Frank**, por todo su apoyo, aun cuando estamos separados físicamente, nuestros corazones siempre están unidos, gracias por festejar mis logros y animarme en mis tropiezos, haciéndose presentes en cada momento de mi vida, son el mejor regalo que pudieron darme nuestros viejitos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de estar viviendo este momento de plenitud en mi vida, por la salud, por la vida, por mi hermosa familia.

A mi comité tutorial, Dr. Gerardo Uriel Bautista Trujillo, MC. Enrique Herrera López y Dr. José del Carmen Rejón Orantes, por transmitirme sus invaluable conocimientos, por su apoyo, su tiempo y enseñanzas que me brindaron de manera personal y profesional, por la confianza que depositaron en mí y por aceptar ser parte de este equipo de trabajo que me llevó a culminar de manera satisfactoria esta tesis.

A todos los que colaboraron en este proyecto, MC. José Luis Gutiérrez Hernández, Dra. Gabriela Palomares Reséndiz, Dra. María Magdalena Limón González, MC. Fernanda Gaytán Camarillo, MVZ. José Ángel Gutiérrez Martínez, MC. Francisco Antonio Cigarroa Vázquez y MC. Rafael Ruiz Echeverría, por su valiosa aportación en los diferentes ámbitos en los que demostraron tener vasta experiencia para el desarrollo de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por otorgarme una beca de estudios para cursar el posgrado.

Al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), por el apoyo en equipo e insumos, capacitación y facilidades otorgadas para la realización del diagnóstico de laboratorio.

A la MCPAT por cobijarme durante el tiempo que realice mis estudios de posgrado.

A mis colegas, José Ángel, Brenda, Juan Gabriel y Bernardo, por el apoyo en la organización de los productores en sus respectivos municipios, por su colaboración en campo y sobre todo por su amistad desde nuestros tiempos de universitarios en nuestra querida Facultad de Medicina Veterinaria, orgullosamente UNACH.

A los productores de los municipios de Cintalapa, Jiquipilas, Ocozocoautla, San Fernando y Suchiapa, por la confianza y disposición para permitirme entrar a sus unidades de producción, por su entusiasmo y participación durante el muestreo, estoy eternamente agradecida con ustedes.

A mis amigos, Rafael, Daniel, Mónica, Herbey y Elizabeth por su amistad sincera, su apoyo y sobre todo por esa hermandad que me han demostrado en todo momento.

A las personas que de alguna forma contribuyeron a este logro personal, Dr. Benigno Ruíz Sesma, Dr. Miguel Ángel Luna Álvarez y Aaron Rebollo Gallegos, mis más sinceros agradecimientos.

CONTENIDO

| | |
|--|----|
| RESUMEN | xi |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Objetivos | 2 |
| 1.1.1 Objetivo general..... | 2 |
| 1.1.2 Objetivos específicos | 2 |
| 1.2 Hipótesis | 2 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1 Antecedentes | 3 |
| 2.2 Descripción del agente causal | 3 |
| 2.3 Clasificación Taxonómica | 4 |
| 2.4 Transmisión | 4 |
| 2.5 Patogenia..... | 5 |
| 2.6 Signos clínicos | 6 |
| 2.7 Factores de riesgo | 7 |
| 2.8 Diagnóstico | 8 |
| 2.9 Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) | 9 |
| 2.10 Diagnóstico diferencial..... | 10 |
| 2.11 Tratamiento..... | 10 |
| 2.12 Control | 11 |
| 2.13 Distribución espacial de la leptospirosis en México | 12 |
| 2.14 Salud pública | 12 |
| III. MATERIAL Y METODOS..... | 15 |
| 3.1 Localización del área de estudio..... | 15 |
| 3.2 Población objetivo..... | 16 |
| 3.2.1 Criterios de selección | 16 |
| 3.3 Diseño de estudio | 16 |
| 3.4 Calculo del tamaño de muestra | 16 |
| 3.5 Etapa I. Fase de campo..... | 17 |
| 3.5.1 Recolección de la Información..... | 17 |
| 3.5.2 Toma de muestras..... | 18 |
| 3.5.3 Metodología de georreferenciación. | 19 |
| 3.6 Etapa II: Fase de Laboratorio | 19 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.6.1 | Procesamiento de las Muestras | 19 |
| 3.7 | Procesamiento de los datos y Análisis estadístico..... | 20 |
| 3.7.1 | Calculo de la prevalencia de <i>Leptospira</i> spp. | 20 |
| 3.7.2 | Representación de la distribución geográfica de <i>Leptospira</i> spp..... | 20 |
| 3.7.3 | Análisis de factores de riesgo y regresión logística. | 21 |
| IV. | RESULTADOS | 22 |
| 4.1 | Seroprevalencia global de <i>Leptospira</i> spp. | 22 |
| 4.2 | Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., por serovariedad..... | 22 |
| 4.3 | Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., por municipios..... | 23 |
| 4.4 | Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., por sexo | 23 |
| 4.5 | Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., en función a razas puras y cruza. | 24 |
| 4.6 | Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., en hembras con problemas reproductivos y hembras sanas..... | 24 |
| 4.7 | Distribución espacial de la seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., en los municipios de la zona centro de Chiapas. | 25 |
| 4.8 | Distribución espacial de la seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., y su relación con la Precipitación Anual Acumulada (PAA). | 26 |
| 4.9 | Distribución espacial de la seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., y su relación con la Temperatura Media Anual (TMA). | 27 |
| 4.10 | Distribución espacial de la serovariedad <i>Canicola</i> (<i>Portland vere</i>). | 28 |
| 4.11 | Distribución espacial de la serovariedad <i>Bratislava</i> | 29 |
| 4.12 | Distribución espacial de la serovariedad <i>Icterohaemorrhagiae</i> (<i>Palo alto</i>). | 30 |
| 4.13 | Distribución espacial de la serovariedad <i>Hardjo</i> (<i>Inifap H-89</i>). | 31 |
| 4.14 | Distribución espacial de la serovariedad <i>Tarassovi</i> | 32 |
| 4.15 | Distribución espacial de la serovariedad <i>Wolffi</i> | 33 |
| 4.16 | Estimación de la asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con factores demográficos, reproductivos y ambientales. | 34 |
| 4.17 | Factores de riesgo asociados con la seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., mediante regresión logística. | 38 |
| V. | DISCUSIÓN..... | 40 |
| VI. | CONCLUSIÓN..... | 47 |
| VII. | LITERATURA CITADA | 49 |
| VII. | ANEXOS..... | 56 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Métodos analíticos disponibles para el diagnóstico de leptospirosis y su propósito (tomado de OMSA, 2021)..... | 9 |
| Cuadro 2. Cepas del CENID SAI-INIFAP para el diagnóstico con MAT..... | 19 |
| Cuadro 3. Seroprevalencia global de <i>Leptospira</i> spp. en bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas. | 22 |
| Cuadro 4. Análisis de prevalencia de <i>Leptospira</i> spp., por serovariedad en bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas, con la sensibilidad de 98.2% y la especificidad de 96.4% de MAT. | 22 |
| Cuadro 5. Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., con relación al sexo en bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas..... | 23 |
| Cuadro 6. Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., en función a razas puras y cruzas de bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas..... | 24 |
| Cuadro 7. Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., relacionados con el estado de salud reproductivo. | 24 |
| Cuadro 8. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con el área demográfica (N=590)..... | 34 |
| Cuadro 9. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con la edad (N=590).. | 35 |
| Cuadro 10. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con la raza (N=590). | 35 |
| Cuadro 11. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con vacas vacías, gestantes y Sementales (N=590)..... | 36 |
| Cuadro 12. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con el método reproductivo (N=590). | 36 |
| Cuadro 13. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con problemas reproductivos (N=590)..... | 37 |
| Cuadro 14. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con el tipo de abastecimiento de agua (N=590). | 37 |
| Cuadro 15. Asociación de seropositividad de <i>Leptospira</i> spp., con vectores y sistemas de alimentación por unidad de producción (N=38)..... | 38 |
| Cuadro 16. Factores de riesgo asociados a la seropositividad de <i>Leptospira</i> spp. en bovinos de la zona centro de Chiapas. | 38 |
| Cuadro 17. Factores asociados con la serovariedad <i>Canicola (Portland vere)</i> | 39 |
| Cuadro 18. Factores asociados con la serovariedad <i>Bratislava</i> | 39 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Municipios donde se realizó el muestreo. | 15 |
| Figura 2. Reunión con productores independientes y grupos de trabajo. | 17 |
| Figura 3. Obtención de la muestra sanguínea mediante punción de la vena coccígea y registro de los datos en la bitácora de campo. | 18 |
| Figura 4. Variables dependientes de tipo socio demográfico ambiental..... | 21 |
| Figura 5. Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., de cinco municipios de la zona centro de Chiapas. | 23 |
| Figura 6. Mapa de Distribución espacial de <i>Leptospira</i> spp., en cinco municipios de la zona centro de Chiapas. | 25 |
| Figura 7. Mapa de la distribución espacial de la seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., con relación a la precipitación acumulada anual de la zona centro de Chiapas. | 26 |
| Figura 8. Mapa de la distribución espacial de la seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp., con relación a la temperatura media anual de la zona centro de Chiapas..... | 27 |
| Figura 9. Mapa de distribución espacial de la serovariedad <i>Canicola (Portland vere)</i> en municipios de la zona centro de Chiapas..... | 28 |
| Figura 10. Mapa de distribución espacial de la serovariedad <i>Bratislava</i> en municipios de la zona centro de Chiapas..... | 29 |
| Figura 11. Mapa de distribución espacial de la serovariedad <i>Icterohaemorrhagiae (Palo alto)</i> en municipios de la zona centro de Chiapas. | 30 |
| Figura 12. Mapa de distribución espacial de la serovariedad <i>Hardjo (H-89)</i> en municipios de la zona centro de Chiapas..... | 31 |
| Figura 13. Mapa de distribución espacial de la serovariedad <i>Tarassovi</i> en municipios de la zona centro de Chiapas..... | 32 |
| Figura 14. Mapa de distribución espacial de la serovariedad <i>Wolffi</i> en municipios de la zona centro de Chiapas. | 33 |

RESUMEN

La leptospirosis afecta a diferentes especies de mamíferos, tanto silvestres como domésticos incluso al humano, es considerada una de las zoonosis más importantes en todo el mundo. En Chiapas no existen suficientes estudios para determinar el estado actual de *Leptospira* spp., así como de las serovariedades circundantes y los factores de riesgo en la zona, por lo que el objetivo de esta investigación fue identificar la seroprevalencia de *Leptospira* spp. en bovinos de traspatio y su distribución espacial, así como los factores de riesgo que se encuentran en la zona centro de Chiapas. Se recolectaron muestras de sueros sanguíneos de 590 bovinos en 38 unidades de producción, las muestras fueron analizadas por la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) y se usaron cepas de *Leptospira* spp. para su diagnóstico; tres de referencia: *Bratislava*, *Wolffi* y *Tarassovi* y tres aislamientos nacionales: *Hardjo* (H-89), *Icterohaemorrhagiae* (Palo alto) y *Canicola* (Portland vere). El software R Studio Versión 4.2.2 reveló una prevalencia general de *Leptospira* spp., de 27.72% (176/590) y se observó que la serovariedad *Canicola* fue la más prevalente en los municipios estudiados con el 22.89% (149/590), siendo Cintalapa donde se encontró el mayor número de animales positivos a diferentes serovariedades con el 61.75% (80/129) de prevalencia, además, la representación cartográfica a través del programa ArcGIS versión 10.5, nos demuestra la distribución de leptospirosis en este municipio influenciado por la temperatura ambiental y la precipitación pluvial, aunado a otros factores de riesgo propios de la localidad, ya que todos los municipios muestreados pertenecen a la misma zona y tienen datos medioambientales muy similares. Mediante análisis bivariado se encontró asociación estadística de *Leptospira* spp., con la presencia de perros en las unidades de producción, y el análisis de regresión logística nos muestra que los principales factores de riesgo fueron la temperatura ambiental y precipitación pluvial de esta zona entre otros, lo que nos indica que los sistemas bovinos de traspatio del centro Chiapas están expuestos a diversos factores de riesgo que favorecen a la diseminación de *Leptospira* spp., y a la serovariedad *Canicola* (Portland vere), para desarrollar leptospirosis en bovinos y en otras especies.

Palabras clave: *Canicola*, leptospirosis, MAT, seroprevalencia y zoonosis.

ABSTRACT

Leptospirosis affects different species of mammals, both wild and domestic, including humans; it is considered one of the most important zoonoses worldwide. In Chiapas there are not enough studies to determine the current status of *Leptospira* spp., as well as the surrounding serovars and risk factors in the area, so the goal of this research was to identify the seroprevalence of *Leptospira* spp. in backyard cattle and their spatial distribution, as well as the risk factors found in the central area of Chiapas. Blood serum samples were collected from 590 cattle in 38 production units. The samples were analyzed by the Microscopic Agglutination Technique (MAT) and strains of *Leptospira* spp. were used. for your diagnosis; three reference ones: *Bratislava*, *Wolffi* and *Tarassovi* and three national isolates: *Hardjo* (H-89), *Icterohaemorrhagiae* (*Palo Alto*) and *Canicola* (*Portland vere*). The software R Studio Version 4.2.2 revealed a general prevalence of *Leptospira* spp., of 27.72% (176/590) and it was observed that the *Canicola* serovar was the most prevalent in the municipalities studied with 22.89% (149/590), Cintalapa being where the largest number of animals positive for different serovars was found with 61.75% (80/129) prevalence, in addition, the cartographic representation through the ArcGIS version 10.5 program shows us the distribution of leptospirosis in this municipality influenced by environmental temperature and rainfall, coupled with other factors specific to the locality, since all the sampled municipalities belong to the same area and have very similar environmental data. Through bivariate analysis, a statistical association of *Leptospira* spp. was found with the presence of dogs in the production units, and the logistic regression analysis shows that the main risk factors were the environmental temperature and rainfall in this area, among others. which indicates that the backyard bovine systems of central Chiapas are exposed to various risk factors that favor the dissemination of *Leptospira* spp., and the *Canicola* serovar (*Portland vere*), to develop leptospirosis in bovines and other species.

Keywords: *Canicola*, leptospirosis, MAT, seroprevalence and zoonosis.

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la reproducción en los hatos bovinos es afectada por diferentes infecciones como la leptospirosis, es una enfermedad de origen bacteriano distribuida mundialmente y provocada por diferentes serovariedades de *Leptospira* spp. Esta infección tiene mayor impacto en países tropicales y subtropicales, donde se encuentran durante todo el año, afectando a diferentes especies domésticas incluyendo al hombre y es considerada una de las zoonosis más importantes. Se encuentra ligada a diversos factores ambientales como las altas temperaturas y la humedad, que hacen un medio ambiente propicio para la supervivencia de la bacteria, lo que favorece a su transmisión.

Betancur *et al.* (2013) reportaron prevalencias del 35% al 50% de leptospirosis en bovinos en los Estados Unidos de Norte América, *Hardjo* fue la serovariedad que provoco la mayoría de las infecciones. Del mismo modo, en estudios realizados en Venezuela se demostró que el 40.8% de los abortos en bovinos fueron causados por *Leptospira* spp.

En México, en los estados de Puebla y Tabasco se encontraron anticuerpos de las serovariedades *Canicola*, *Hardjo*, *Wolffi* y *Tarassovi*, donde *Hardjo* fue el serovar con mayor prevalencia, mientras que *Wolffi* y *Tarassovi* mostraron prevalencias más bajas, del mismo modo, en los estados de Tamaulipas y Estado de México se observaron anticuerpos a estas serovariedades. En el Estado de Veracruz, se encontraron cinco serovariedades de *Leptospira* spp: *Icterohaemorrhagiae* (*Palo alto*), *Hardjo bovis*, *Inifap* (*Hardjo* H-89) *Tarassovi* y *Wolffi*. *Leptospira* H89 es una cepa de la serovariedad *Hardjo*, endémica, aislada y que fue reportada en México, esta fue la más común en el ganado bovino de esta región, seguida de la serovariedad *Hardjo bovis*. De igual modo, en Chiapas existen reportes de seroprevalencias de leptospirosis en los municipios de Juárez, 63% y Tecpatán 29%, donde las serovariedades presentes fueron *Tarassovi*, *Icterohaemorrhagiae* y *Bratislava* (Zarate *et al.*, 2015; Rosete *et al.*, 2021; Sánchez *et al.*, 2021).

La enfermedad de leptospirosis está ligada a diferentes factores que se consideran de riesgo como los ambientales (altitud, latitud, la humedad relativa, precipitación pluvial y temperatura) que juegan un papel muy importante, debido a que conforman un ambiente óptimo para que la bacteria se encuentre presente durante todo el año, el manejo zootécnico es otro factor de riesgo, características como el tamaño de los hatos, el tipo de pastoreo, la convivencia con animales infectados, el acceso de los animales a aguas contaminadas y la introducción de ganado procedente de hatos contaminados, suelen ser los reportados con mayor frecuencia.

Los signos clínicos en bovinos varían dependiendo de la serovariedad que se encuentre en una región determinada y de las condiciones del medio ambiente. El impacto económico de la leptospirosis es alto en la industria pecuaria, debido al

deterioro del rendimiento reproductivo de los hatos donde la bacteria se encuentra presente, produciendo infertilidad, abortos, repetición de celos, anestros, mortinatos, nacimiento de crías débiles, disminución en la producción láctea, reabsorciones embrionarias, entre otros signos clínicos.

Como se ha mencionado anteriormente, ya existen reportes en México sobre la presencia de *Leptospira* spp., no obstante, las investigaciones utilizando el método de diagnóstico de la MAT (Técnica de aglutinación microscópica) no son suficientes tanto en la república mexicana como en Chiapas, por lo que se considera importante conocer a las serovariedades presentes en la zona centro de Chiapas, así como su distribución espacial y los factores de riesgo que podrían favorecer a su transmisión. La región centro de Chiapas, concentra los municipios con mayor flujo de bovinos con relación a los canales de comercialización (Orantes *et al.*, 2023), por lo que es clave para obtener información de utilidad para crear medidas de control y prevención.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Identificar la seroprevalencia de *Leptospira* spp., en bovinos de traspatio y su distribución espacial, así como los factores de riesgo que se encuentran en la zona centro de Chiapas.

1.1.2 Objetivos específicos

- a)** Estimar la prevalencia por serovariedades de *Leptospira* spp., en los hatos bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas, mediante la Técnica de Aglutinación Microscópica.
- b)** Describir la distribución espacial de serovariedades de *Leptospira* spp., en la zona centro de Chiapas.
- c)** Relacionar los factores de riesgo ambientales, zootécnicos y del hospedero, con los serotipos de *Leptospira* spp., posiblemente presentes en los sistemas bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas.

1.2 Hipótesis

Los sistemas bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas, están expuestos a diversas serovariedades de *Leptospira* spp., a causa de los factores de riesgo que se encuentran presentes en la región.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, que se encuentra distribuida en todo el mundo, en áreas tropicales y subtropicales, afecta a los animales domésticos, silvestres y al hombre, se considera un problema grave de salud pública, esta infección es de tipo bacteriana y puede provocarla cualquier especie del género *Leptospira* spp. (OMSA, 2021).

Los indicios de esta enfermedad datan del año 2500 a.c, presentándose en humanos en la Mesopotamia, donde se reportaba en los papiros del Nilo y en la guerra civil de los Estados Unidos de Norte América, se empezaban a describir cuadros con sintomatología similares a las de la leptospirosis. No obstante, esta enfermedad se conoció a finales del siglo XIX en el año de 1886 en Alemania, donde fue descrita por primera vez por Adolfo Weill, a partir de ese tiempo iniciaron con diversas investigaciones sobre la enfermedad en medicina humana, así como en la medicina veterinaria, con los avances que se lograron en microbiología e histopatología, se descubre el agente etiológico en Japón. Mikhin y Azinov realizaron estudios de esta enfermedad por primera vez en bovinos en 1935 en Rusia, en Australia en 1943 por Johnson y en Estados Unidos en 1994 por Jungherr, las primeras descripciones de los cuadros clínicos de leptospirosis en México se realizaron en 1928 en humanos y 1930 en bovinos, posteriormente en 1969 se aisló la cepa H89 (Serovariedad *Hardjo*), del riñón de un feto bovino recién abortado, con procedencia de la cuenca lechera del Valle de Mexico, con antecedentes serológicos de leptospirosis. A nivel mundial se ha reportado del 15% al 70% de presencia de leptospirosis en bovinos (Saldaña *et al.*, 2018; Monroy *et al.*, 2020).

2.2 Descripción del agente causal

Leptospira spp., es una espiroqueta gram negativa, extracelular, aerobia obligada, catalasa y oxidasa positivas. Tiene una forma helicoidal y una longitud de aproximadamente 6 a 20 μm , tienen forma de un gancho ya sea en uno o ambos extremos, su movimiento es giratorio, que es esencial para su patogenicidad. No son visibles en la observación al microscopio de luz convencional debido al tamaño que tienen y a que son muy delgadas, por lo que se requiere del microscopio de campo oscuro para poder observarlas. La estructura de las leptospiras es de una membrana doble, en donde la membrana citoplasmática, así como los peptidoglicanos de la pared celular están asociados, cubiertos por una membrana externa la cual contiene lipopolisacáridos (LPS), proteínas estructurales (Porina OMP L1) y proteínas funcionales como la secretina GspD (Romero y Veloza, 2014).

Su crecimiento no se da en medios de cultivo ordinarios, sin embargo, en medios que son suplementados con suero de conejo crecen muy bien, así como en medio de Tween 80-albumina en pH de 7.2 a 7.4 (Rodríguez, 2000).

Este microorganismo puede sobrevivir por varios meses en lugares húmedos y cálidos, en aguas estancadas, lagunas y pozos, principalmente cuando la temperatura es de 25°C a 30°C, beneficiando así su supervivencia, lo que representa una fuente de infección peligrosa; también en suelos con un pH de entre 6 y 8. La mayor posibilidad de contagio es en los meses de lluvia, ya que es sensible a la desecación y la supervivencia de esta bacteria es menos probable en tiempo de seca (Chavarría *et al.*, 2015).

2.3 Clasificación Taxonómica

La leptospirosis es provocada por bacterias que se encuentran dentro de la familia *Leptospiraceae*, del orden *Spirochaetales*, del género *Leptospira*. Décadas atrás se clasificaba en dos grupos *Leptospira interrogans* (más de 250 serovares) y *Leptospira biflexa* (60 serovariedades) , patógenas y saprofitas respectivamente. Gracias al uso de herramientas de tipo molecular y a estudios filogenéticos se han identificado más especies. Anteriormente, todas las leptospirosis patógenas estaban clasificadas dentro de la especie *L. interrogans*. Actualmente el género *Leptospira* se reorganizó, por lo que ahora está constituido por 21 genomoespecies, incluyendo diez especies patógenas, cinco especies intermedias y cinco saprofitas. Gran parte de las serovariedades patógenas se encuentran dentro de las tres especies distribuidas mundialmente que son: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii* y *L. kirschneri*. También se encuentran otras especies patógenas con menos distribución que son: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. mayotensis*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. kmetyi* y *L. weilii*. (Picardeau, 2013; Chavarría *et al.*, 2015).

2.4 Transmisión

Diferentes especies de mamíferos están involucrados en el ciclo de transmisión de la leptospirosis; no obstante, los reservorios naturales son de mucha importancia, como los mamíferos silvestres y del orden de los roedores, Los géneros sinantrópicos considerados como los principales diseminadores de especies de *Leptospira* spp., son *Rattus* y *Mus*, ya que tienen capacidad de eliminar las bacterias en la orina, contaminando suelos y aguas, otra fuente de infección son los grandes herbívoros y el humano puede ser hospedador accidental (Torres *et al.*, 2016; Rojas *et al.*, 2021).

La leptospirosis afecta principalmente a las especies de animales domésticos como bovinos, ovinos y perros, sin embargo, la serovariedad infectante va a depender del animal afectado, han sido mencionados otros reservorios como portadores: zorros, venados, ardillas, mapaches, marsupiales, estos animales por lo general manifiestan

poco o ningún signo clínico. La leptospirosis se transmite por contacto directo con fluidos contaminados como sangre, orina, descargas post parto, abortos entre otros. La forma más frecuente de transmisión de leptospirosis es por contacto directo por vía conjuntival, respiratoria y por heridas en la piel, esta bacteria es capaz de vivir por periodos largos en aguas que se encuentran estancadas a temperaturas de 25 a 30 °C, lo que provoca que sean fuentes de infección constantes (Andicoberry *et al.*, 2001).

2.5 Patogenia

El papel más importante en el progreso de la infección es la movilidad bacteriana, la facilidad de estas espiroquetas para moverse de manera muy rápida en ambientes que no son favorables, ayuda a su entrada a través de las células epiteliales (Cullen *et al.*, 2004) .

Uno de los mecanismos potenciales de patogenicidad es la respuesta del sistema inmune, así como la producción de toxinas, adhesinas, lipoproteínas y algunas otras proteínas de la membrana externa. El LPS leptospiral es muy semejante tanto química como inmunológicamente al LPS de las bacterias Gram negativas, no obstante, en exámenes de actividad de endotoxina ha demostrado ser menos activo y/o toxico. (Pacheco, 2015).

Las proteínas integrales de membrana externa (OMPs), tienen un rol clave en la patogénesis de leptospirosis, fungiendo como blancos antigénicos y blancos de adhesión para los anticuerpos bactericidas, así como receptores celulares y/o porina. La lipoproteína de superficie OmpA-like, Loa22, fue el primer grupo definido genéticamente en *Leptospira* spp., esta proteína es bastante conservada en la infección aguda por leptospirosis (Ristow *et al.*, 2007).

Las leptospiras entran en el huésped a través de piel o mucosa a través de la ingestión de alimentos y aguas contaminadas, posterior a la entrada del agente, el periodo de incubación es de 4 a 10 días, multiplicándose rápidamente y desarrollando una leptospiemia, que se extiende al hígado, pulmones, riñones, tracto reproductor y líquido cefalorraquídeo (Rodríguez, 2000).

Picardeau (2013) plantea que la infección por leptospiras patógenas se encuentra dividida en dos etapas: La septicemia o fase aguda es la primera etapa y tiene una duración de 3 a 10 días, en esta etapa las bacterias se pueden encontrar en sangre; la segunda etapa, también llamada etapa inmune, sucede en la segunda semana posteriores a los inicios de los primeros síntomas y tiene una duración de 4 a 30 días, y aumenta el título de anticuerpos que probablemente se deba a la eliminación de leptospiras en sangre.

Estas bacterias afectan el endotelio de los vasos capilares, normalmente en el transcurso de la infección lo que se conoce como vasculitis infecciosa, la cual es responsable en las manifestaciones de leptospirosis provocando extravasación de la sangre, anoxia e isquemia, al mismo tiempo que se generan radicales libres de oxígeno lo que provoca daños graves que son las manifestaciones clínicas de los animales como: daño tubular en riñones, daño hepatocelular, conjuntivitis, meningitis, hemorragia pulmonar, entre otras, esto dependerá del lugar donde la bacteria este alojada. Cuando los anticuerpos se forman, hay una disminución de la leptospiremia y las bacterias se eliminan a través de fagocitosis en los órganos internos, sin embargo, en el riñón no ocurre lo mismo, puesto que parte de las bacterias sobreviven en este órgano, siendo así eliminadas al medio ambiente mediante la orina, si bien la respuesta del sistema inmune es útil en la eliminación de leptospiras del organismo, se puede provocar reacciones inflamatorias sistémicas (Evangelista y Coburn, 2010).

2.6 Signos clínicos

Los cuadros clínicos que se manifiestan con mayor frecuencia son los agudos e hiperagudos, causando fiebre, hemoglobinuria que es producto de la extensa hemolisis vascular lo cual se presenta más frecuentemente en terneros, se presenta meningitis, manifestándose incoordinación en el animal, sialorrea así como conjuntivitis y músculos rígidos, estos signos clínicos pueden pasar desapercibidos, lo cual dificulta su diagnóstico, debido a que la sintomatología es parecida a otras enfermedades reproductivas. Cuando el animal logra sobrevivir, puede iniciarse una infección renal, lo que provoca lesiones en este órgano, se puede observar daño capilar, por lo que en las mucosas se encuentran hemorragias petequiales, así mismo el animal presenta anemia, nefrosis y hemoglobinuria. En esta fase el animal puede morir de septicemia, anemia hemolítica o bien por una combinación de ambas (Zarate *et al.*, 2015).

El cuadro crónico de leptospirosis es producto de las secuelas que se generan posterior a la entrada de la bacteria al organismo, en donde se presenta aborto por consecuencia de la degeneración placentaria y por la penetración de la bacteria en el tracto reproductivo, las hembras que se encuentran preñadas comúnmente sufren abortos por la constante fiebre que presentan, el cual suele ocurrir de 3 a 10 semanas después del inicio de la infección, se puede observar poco desarrollo en el feto abortado, ictericia en los tejidos que se encuentran formados, hepatomegalia, ascitis, así como un aumento de fibrina en el hígado y pulmones. (González y Rivera, 2015).

En el cuadro crónico también se puede presentar la mastitis, en donde se observa la leche espesa, amarillenta y con trazas de sangre, con un aumento en el recuento de células blancas, disminuyendo considerablemente la producción láctea e incluso se puede presentar agalactia (Ariza y Berdugo, 2017).

La serovariedad *hardjo-bovis* es excretada por el aparato genital a través del aborto hasta ocho días posteriores al inicio de la infección, los bovinos infectados con esta serovariedad presentan infecciones en el tracto genital, lo que es la principal causa de infertilidad, la cual se manifiesta en el aumento por servicios por concepción e intervalos inter partos, aunque la patogénesis no es clara se considera que la presencia de esta bacteria en el útero y oviductos de la hembra infectada no permite la implantación del embrión así como otros problemas en preñeces tempranas, entre otras manifestaciones reproductivas que se pueden observar se encuentran los mortinatos, los nacimientos de crías débiles y la retención placentaria. Existen reportes que la bacteria se encuentra en las vesículas seminales de los toros infectados al igual que en los riñones, la bacteria persiste en los túbulos renales proximales de los animales infectados, lo que se asocia con la eliminación por la orina (Romero y Veloza, 2014; Rojas *et al.*, 2021).

2.7 Factores de riesgo

El ciclo de la infección por leptospiras, está influenciado por diversos factores medioambientales como la temperatura, precipitación pluvial y humedad, así como también influye la población de reservorios y hospederos circulantes, los serovares presentes juegan un papel muy importante, la interacción de todos estos factores facilitan brotes y epidemias (Torres *et al.*, 2016).

La humedad es uno de los factores más importantes, responsable de la supervivencia de las leptospiras en camas o suelos, los cuerpos de agua para beber como los lagos en donde tienen acceso los animales ya sean salvajes o domésticos son un importante foco de infección esta bacteria resiste en agua superficial y en agua estancada hasta tres semanas, y hasta un año en soluciones viscosas por ejemplo el lodo con contenido bajo de materia orgánica, sin embargo en agua salada no logran sobrevivir (García *et al.*, 2013).

El número de animales de los que se conforma el hato es un factor que también favorece a la presencia de esta bacteria, existen estudios que señalan que más de 35 animales en un solo corral cuatricula el riesgo de infección por *Leptospira* spp., Diversos autores señalan como factores de riesgo la edad de los animales, su estado inmunológico, y la gestación. La edad se relaciona con el estado de portador renal, esto debido a que la mayor incidencia de animales infectados que excretan las leptospiras por medio de la orina son los becerros, por el contrario de la mayoría de los animales adultos (Ellis, 1983; Campos *et al.*, 2017).

Con relación al estado inmunitario, generalmente los animales que estuvieron expuestos a la infección son resistentes a la reinfección por algunos años, aun cuando los anticuerpos circulantes alcanzan niveles bajos. En el aborto probablemente la infección se origina varias semanas antes y el aborto sobreviene de una a seis

semanas después del cuadro agudo en el caso de las serovariedades accidentales y de 4 a 12 semanas por infecciones provocadas por *hardjo*, en infecciones por esta serovariedad también se han observado abortos en otros estadios de la gestación, en la cual también se observa mortalidad embrionaria (Chávez, 2019).

En las explotaciones lecheras parece ser más frecuente las infecciones por leptospirosis y con pronósticos no muy alentadores con respecto a las explotaciones de carne. Esto quizá se deba a que las explotaciones lecheras son sistemas intensivos o semi extensivos que provocan a un hacinamiento mayor lo que estaría favoreciendo la transmisión de la enfermedad, aunado a que las crías son separadas de la madre tras ocurrir el parto, lo cual hace que se mantengan alejadas del hato y no se incorporan a este hasta su primera gestación, lo que conlleva a la introducción de una manera constante de animales que no están expuestos y que se encuentran receptivos a la infección lo que provoca que puedan infectarse en momentos de mayor riesgo, lo que provoca que las seroprevalencias más altas se encuentren entre los dos y tres años de edad (Ellis, 1983).

Otros factores de riesgo son los lugares con precario manejo sanitario, los tamaños grandes de los hatos, el pastoreo conjunto con ganado infectado, las prácticas de manejo inadecuadas, los vientres de reemplazo, las zonas infestadas de roedores los cuales son la principal fuente de contaminación de los alimentos, así como de los suplementos y las fuentes de agua, la introducción a los predios de animales sin control serológico, que probablemente podrían ser portadores asintomáticos, así como la adquisición de sementales sin pruebas serológicas y andrológicas que puedan certificar su componente reproductivo entre otras cosas (Andicoberry *et al.*, 2001).

2.8 Diagnóstico

Es importante realizar una historia clínica que pueda dirigir a un mejor uso de las herramientas y protocolos de laboratorio usados para el diagnóstico. Las técnicas más utilizadas para el diagnóstico de leptospirosis se dividen en dos grupos: Las técnicas indirectas, que se basan en la detección de anticuerpos frente a la bacteria y las técnicas directas que se basan en detectar a las leptospiras o sus antígenos y/o ácidos nucleicos en los fluidos o tejidos corporales. Cuando las muestras provienen de fetos, las técnicas directas son las indicadas, debido que es de mayor importancia el diagnóstico individual, al contrario de las muestras de animales adultos donde se utilizan las técnicas indirectas ya que es el costo es menor y son más fáciles de realizar. Las técnicas serológicas son las más utilizadas tanto para realizar el diagnóstico como para los estudios epidemiológicos, sin embargo, tienen una gran desventaja y esto se debe a que los niveles de anticuerpos alcanzan niveles indetectables, aun en el momento del aborto, debido que este ocurre tiempo después de iniciada la infección. En el caso de la infección con la serovariedad *Hardjo* es

posible que no presente respuesta de anticuerpos que sean detectables debido a que es una serovariedad adaptada al bovino (Ellis,1996; Briehuega, 2008).

Las pruebas serológicas forman el procedimiento de laboratorio más usado para comprobar el diagnóstico clínico, para determinar la prevalencia de la enfermedad en el hato, así como para la realización de los estudios epidemiológicos. Actualmente existen un gran número de técnicas de laboratorio para el diagnóstico de la leptospirosis (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Métodos analíticos disponibles para el diagnóstico de leptospirosis y su propósito (tomado de OMSA, 2021).

| METODO | PROPOSITO | | | | | |
|--|--|---|--|--------------------------|--|---|
| | Demostrar la ausencia de infección en la población | Demostrar ausencia de infección en animales individuales antes de los desplazamientos | Contribuir a las políticas de erradicación | Confirmar casos clínicos | Determinar la prevalencia de la infección-vigilancia | Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación |
| IDENTIFICACION DEL AGENTE | | | | | | |
| Aislamiento e identificación | - | +++ | - | +++ | - | - |
| PCR | - | ++ | - | ++ | - | - |
| DETECCION DE LA RESPUESTA INMUNITARIA | | | | | | |
| MAT | - | +++ | - | ++ | +++ | - |
| ELISA | +++ | - | +++ | +++ | ++ | +++ |

Clave: +++= método recomendado; ++= método idóneo; += puede utilizarse en algunas situaciones, pero el coste la fiabilidad y otros factores limitan mucho su aplicación; -= no adecuado para este propósito.

Aunque no todas las pruebas clasificadas como +++ o ++ han sido validadas formalmente, su uso sistemático y echo de que se hayan utilizado ampliamente sin resultados dudosos las hace aceptables. PCR= reacción en cadena de la polimerasa; MAT= prueba de aglutinación microscópica; ELISA= enzimoimmunoanálisis

La prueba de aglutinación microscópica (MAT) y del ensayo por inmunoa

bsorción ligado a enzimas (ELISA por su acrónimo en inglés) ayudan para diagnóstico veterinario. La MAT es la prueba estándar, para la realización de esta técnica los antígenos utilizados deben incluir las cepas representativas de los grupos que se han encontrado en la región al igual de los que se sepa que persisten en otra región (OMSA, 2021), es decir, esta prueba permite reconocer a las serovariedades mediante antígenos específicos desarrollados por el animal infectado.

2.9 Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT)

Esta técnica detecta anticuerpos IgM e IgG, se usa para el diagnóstico de la enfermedad, aunque se tiene la posibilidad de realizar los estudios individualmente, esta técnica se considera una prueba de rebaño, debido a que la obtención de títulos frente a las leptospirosis de manera individual es poco significativa y su interpretación

se puede tornar difícil. Tiene una sensibilidad del 98.2% y la especificidad del 95.8%. En el diagnóstico de infección aguda es muy útil, para que se obtenga una buena información se tiene que muestrear al menos diez animales o el 10% del hato, el que sea mayor, así como realizar una historia clínica para determinar previas vacunaciones (Bajani *et al.*, 2003; OMSA 2021).

Algunas de las desventajas de esta técnica, son que no hay posibilidad de diferenciar los anticuerpos vacunales de los anticuerpos provocados por una infección, así como, se necesitan leptospiras vivas como antígeno, lo que hace tedioso mantener las cepas, al igual que pone en riesgo al personal del laboratorio. También se necesita utilizar como antígeno las cepas de los serogrupos que se encuentran en la región para una adecuada sensibilidad, por lo que se requieren cepas de las serovariedades presentes en una zona determinada, y de los serovares adaptados en este caso a bovinos. En la interpretación de resultados de la MAT una de las dificultades recae en establecer el punto de corte, el más usado por diferentes autores es el título 1:100 recomendado en bovinos, aunque no siempre es el adecuado sobre todo cuando se trata de serovariedades adaptadas como *Hardjo*, lo que podría hacer que la respuesta inmune del animal no se detecte. Una muestra es considerada positiva cuando se observa 50% de aglutinación y 50% de células libres, comparada con el suero control sin aglutinaciones que es el que contiene el antígeno (Ellis, 1983; Andicoberry *et al.*, 2001).

2.10 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de leptospirosis debe realizarse con toda aquella enfermedad que afecta a bovinos y que curse con problemas reproductivos, así como caída de la producción láctea, hemolisis, hemoglobinuria, hematuria y daño en hígado y riñones entre otros. Algunas de estas enfermedades son: Brucelosis, Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, babesiosis, anaplasmosis, , listeriosis, nefritis y hepatitis (Rodríguez, 2000).

2.11 Tratamiento

Las leptospiras tienen sensibilidad básicamente a todos los antimicrobianos, excepto al cloranfenicol y las sulfonamidas. Se pueden usar varios de ellos para su tratamiento, no obstante, la limitante de los antimicrobianos se debe a que no eliminan el estado de portador renal (García *et al.*, 2002).

González y Rivera (2015), mencionan que el tratamiento dependerá de la forma clínica que se presente en el hato.

a) Forma aguda: Sulfato de dihidroestreptomicina, 25 mg/kg de peso corporal cada 24 horas por 3 a 4 días. Se recomienda terapia de líquidos, vitaminas del complejo B, así como protectores hepáticos, para combatir alteraciones causadas por la enfermedad,

también podría recurrirse a la transfusión sanguínea si se encuentra en riesgo la vida del animal.

b) Forma subaguda: 25 mg/kg de peso corporal de sulfato de dihidroestreptomina una sola aplicación por vía intramuscular (IM).

c) Forma Crónica: Las infecciones causadas por *Hardjo* pueden presentar resistencia a las dosis de sulfato de dihidroestreptomina, por lo que se puede sustituir con una o dos aplicaciones de oxitetraciclina de larga acción de 20 mg/kg con intervalo de 10 días. Otro tratamiento podría ser con amoxicilina de larga acción a razón de 15 mg/kg vía intramuscular cada dos días. También la clortetraciclina funciona en estos casos administrándose por vía parenteral en dosis de 2 mg/kg una sola aplicación.

d) En toros infectados, en vacas que han abortado y crías débiles, se sugiere aplicar sulfato de dihidroestreptomina en dosis de 25 a 30 mg/kg de peso corporal cada 24 o 12 horas durante 3 días, así como se recomienda la vacunación del hato, este mismo tratamiento se recomienda en neonatos débiles, prematuros o con peso bajo agregando terapia de líquidos, aplicación de vitaminas B y una adecuada alimentación.

2.12 Control

El control de *Leptospira* spp., es de suma importancia para la prevención de la infección y poder reducir las pérdidas económicas que ocasiona esta enfermedad, así como para disminuir el riesgo de infección al humano por contacto con animales infectados. En general, el control se basa en medidas de higiene y el uso de vacunas. Con las medidas de higiene se busca disminuir las principales fuentes de infección y con esto, las posibilidades de transmisión (Carmona *et al.*, 2011; González y Rivera, 2015).

Realizar un control de roedores en las bodegas de alimentos y de otros vectores como perros y animales portadores es muy importante, evitar en lo posible zonas de inundación dentro de las unidades de producción, también es recomendable la desinfección periódica de las instalaciones, con la finalidad de disminuir el riesgo que la enfermedad se presente (Ariza y Berdugo, 2017).

Uno de los métodos de control más eficaces para infecciones por *Leptospira* spp., es la vacunación, por lo que se recomienda vacunar a todos los animales que se integran al hato. Cada programa de vacunación debe ser adaptado a la población afectada y a la eficacia del producto a utilizar, lo recomendable es realizar la vacunación al hato antes de la probable exposición es decir creando calendarios de vacunación para posteriormente realizarse por lo menos cada año, de tal manera que esta se lleve a cabo antes de los periodos de mayor riesgo. Para iniciar estos programas es indispensable realizar estudios epidemiológicos para evaluar la repercusión de las

diferentes serovariedades de *Leptospira* spp., en determinada población (Adler y de la Peña, 2010).

La respuesta inmune es de manera particular para cada serovariedad, es por ello que la protección va a depender que se apliquen las vacunas que abarquen las serovariedades que predominen en la región. Con respecto a la vacunación para la serovariedad *Hardjo* el control debe ser más complejo, ya que las vacunas monovalentes o polivalentes no evitaran la infección, tampoco la migración de la bacteria al útero ni al oviducto, la infección renal persistirá y por ende tampoco evitará que se liberen leptospiras mediante la orina, ni los mortinatos y nacimiento de crías débiles, es por ello que las vacunas que previenen infecciones por *Hardjo* se consideran poco efectivas, la inmunidad que ofrecen es por periodos aproximados de dos meses, por lo que se recomienda en regiones de incidencias altas con esta serovariedad, realizar la vacunación tres a cuatro veces al año y en áreas con poca incidencia, una o dos veces al año se considera suficiente. La vacunación debe aplicarse primordialmente a hembras en edad reproductiva y a los sementales (Masmela y Gutiérrez, 2022).

2.13 Distribución espacial de la leptospirosis en México

Existen diferencias geográficas en la distribución de los diversos serovares, la prevalencia de la enfermedad varia notoriamente entre los distintos países, inclusive entre las diferentes regiones de un mismo país. Sin embargo, se ve afectada por hábitos y costumbres de las poblaciones, de la misma manera existen eventos climatológicos que favorecen el contacto del agente etiológico con la población, como lluvias intensas y huracanes causantes de inundaciones (Andicoberry *et al.*, 2001).

En México algunas publicaciones seroepidemiológicas acerca de la leptospirosis bovina, reportan que 17 estados en la república Mexicana en algún momento han estado expuestos a *Leptospira* spp., en las regiones áridas y semiáridas: Sonora y Nuevo León (*Hardjoprajitno, Hardjo, Wolffi y Tarassovi*), en el trópico seco: Tamaulipas, Sinaloa y Oaxaca (*Wolffi, Hardjo y Tarassovi*), en el trópico húmedo: Veracruz, Tabasco, Chiapas, Campeche y Yucatán (*Hardjoprajitno, Hardjo, Wolffi y Tarassovi*) y en el clima templado: Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Ciudad de México, Estado de México, Morelos y Puebla (*Hardjoprajitno, Hardjo, Wolffi y Tarassovi*) (Luna *et al.*, 2005).

2.14 Salud pública

La leptospirosis es catalogada como una enfermedad emergente, se presenta en humanos, en más de 500 mil casos al año con el 10% de mortalidad. Surge ocasionalmente o bien en los brotes epidémicos; manifestándose con un cuadro febril agudo, con sintomatología diversa, es por ello que, para realizar el diagnóstico se

necesita saber el historial epidemiológico, así como determinar la presencia de anticuerpos, y en casos graves se puede requerir del aislamiento del agente (Burgos *et al.*, 2019).

Louis Landouzy en 1883 registro por primera vez la leptospirosis humana como una entidad clínica diferente a las que se conocían en la época, y en el año de 1836 Adolf Weil observo signos clínicos de la enfermedad. El 15% al 40% de las personas infectadas con esta bacteria, no presentan signos compatibles con la enfermedad y en los casos sintomáticos los signos clínicos se presentan de forma leve en el 90 a 95% y en un 5 a 10% de forma grave, lo que se le conoce como síndrome de Weil (Bautista *et al.*, 2019).

Los primeros estudios realizados en México sobre leptospirosis humana, fueron en 1919 en Yucatán por Noguchi y Klieger, por otra parte, Pérez Grovas en 1921 aisló *Leptospira* spp. en lo que se creía un brote de fiebre amarilla en Veracruz. En estudios realizados en humanos en el periodo de 1930 hasta 1969 en diferentes partes de la República mexicana, se observó que la seroprevalencia general en humanos estuvo en un rango de 14% a 16.9% y las serovariedades que se presentaron con mayor frecuencia fueron: *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona* y *Canicola*. En 1975 el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste reportó una seroprevalencia en humanos de 14.5% en el estado de Chiapas (Torres *et al.*, 2016).

Durante el 2003 al 2008 la tasa de infección en México fue de 0.6-2.1 casos/10 000 habitantes, en el 2010 se observó una incidencia de 0.05-10 casos/10 000, donde aparecieron 483 nuevos casos en diferentes estados de la república mexicana, en los estados de Campeche, Tabasco, Colima y Baja California Sur. La secretaria de salud a través de la Dirección General de Epidemiología (DGE) confirmó 481 casos positivos de leptospirosis en humanos en el 2012, donde el estado más afectado fue Tabasco reportándose 255 pacientes positivos a *Leptospira* spp.(CONAPO, 2008).

Evangelista y Coburn (2010), mencionan que la leptospirosis en humanos tiene tres presentaciones clínicas que son:

- a) La forma monofásica en la que se presenta un cuadro febril agudo durante la primera semana.
- b) Forma Febril bifásica que comprende las manifestaciones clínicas propias del periodo septicémico, a lo que le sigue un periodo asintomático de 24 a 72 h, posterior a esto sobreviene una fase conocida como inmune que se caracteriza por uveítis, mialgias, meningitis aséptica y fiebre, esta fase puede durar de 4 a 30 días.
- c) La forma grave, donde se presentan los síntomas de la enfermedad como: cefalea, fiebre, escalofríos, mialgias, trastornos digestivos, astenia, coluria, disuria, sufusión conjuntival, ictericia, compromiso pulmonar, daño renal agudo y falla hepática, lo que

conlleva a la insuficiencia hepatorenal que puede estar o no asociada a la insuficiencia respiratoria, pudiendo presentarse hemorragia pulmonar o coagulación intravascular diseminada.

El diagnóstico diferencial de leptospirosis se realiza con enfermedades febriles, que cursen con mialgias y cefalea como son, la hepatitis vírica, el paludismo, el dengue, la hantavirus y rickettsiosis. Se debe diferenciar también con otras enfermedades que cursan sintomatología similar como: fiebre amarilla, pielonefritis aguda, ictero obstructivo y hemolítico, glomerulonefritis aguda, meningoencefalitis, influenza, fiebre reumática, fiebre tifoidea, fiebre chikungunya, toxoplasmosis, tuberculosis, brucelosis, sarampión y mononucleosis infecciosa (Pérez *et al.*, 2015)

El tratamiento para leptospirosis humana es a base de antibióticos como la doxiciclina, ampicilina o amoxicilina por vía oral en la forma leve de la enfermedad, sin embargo, en la forma grave se deben administrar por vía intravenosa antibióticos como, ceftriaxona, ampicilina o eritromicina. Se recomienda como forma de prevención el control de roedores y que los trabajadores expuestos tomen medidas de protección usando guantes y botas. En zonas expuestas o endémicas es recomendable administrar doxiciclina por 4 semanas (López y Álvarez, 2015).

III. MATERIAL Y METODOS

3.1 Localización del área de estudio

El presente estudio se realizó en municipios de la zona centro del estado de Chiapas, la cual se ubica geográficamente a 16° 06' y 17° 18" latitud norte y 92° 21' y 94° 07' longitud oeste, a una altitud que va de 300 a 1,600 msnm. Cuenta con un clima cálido subhúmedo (Aw1) con lluvias en verano y una temperatura promedio al año de 30°C, la precipitación pluvial oscila de 787 a 1,703 mm, el tipo de vegetación es tipo selva baja caducifolia. Su extensión territorial es de 12,629 km², que representa el 16.7% del total de la entidad, ocupa el tercer lugar en cuanto a superficie territorial con respecto a las demás regiones. 319,819 ha son aptas para la agricultura, que representa un 25.3 % de la superficie total de la región; 438,000 ha ideales para la ganadería (34.7%) y 505,091 ha adecuadas para la explotación forestal, lo que equivale al 40% de la región. Limita al norte con el Distrito de Desarrollo Rural 05 de Pichucalco y el Distrito 02 de San Cristóbal de las Casas; los límites al Sur son con los Distritos 04 de Villaflores y 09 de Tonalá; del lado oriente con el Distrito de Desarrollo Rural 03 de Comitán y al Poniente su límite con los estados de Oaxaca y Veracruz. (SECAM, 2008). (Figura 1).

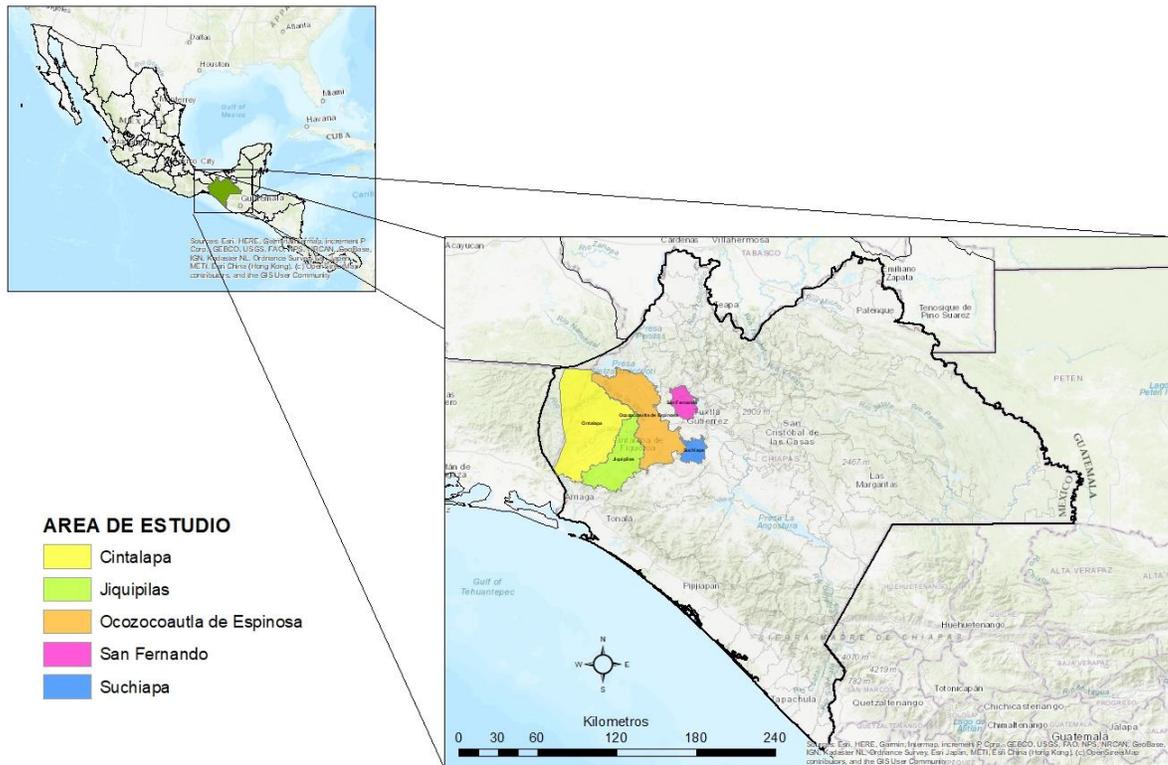


Figura 1. Municipios donde se realizó el muestreo.

3.2 Población objetivo

Para el presente estudio se realizó un muestreo de bovinos de traspatio, el número de muestra se calculó con base en los registros del inventario ganadero del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) del año 2020. Una vez determinado el número de muestra se tomó en cuenta la disposición de los productores para participar en el muestreo, los municipios fueron: Cintalapa, Jiquipilas, Ocozocoautla, San Fernando y Suchiapa, abarcando un total de 38 Unidades de Producción (UP). (SIAP, 2020).

3.2.1 Criterios de selección

Se establecieron criterios para seleccionar las unidades de producción, así como para determinar el número de animales a muestrear.

a) Criterios de Inclusión

Se tomaron en cuenta las UP donde había presencia de vectores como perros, gatos, ratas o ratones; a las hembras bovinas en edad reproductiva a partir de tres años aproximadamente, dándole prioridad a aquellas que presentaron al menos un signo clínico de leptospirosis (abortos, retención placentaria, momificación fetal, mortinatos, repetición de celo, infertilidad y anestro), también se incluyó el semental de cada hatos.

b) Criterios de exclusión

Se excluyeron en el muestreo a todos aquellos hatos que tenían registro de vacunación contra *Leptospira* spp., y a los animales jóvenes que aún no iniciaban su etapa reproductiva.

3.3 Diseño de estudio

Se realizó un estudio transversal descriptivo, mediante muestreo no aleatorio intencionado, en hatos bovinos de productores cooperantes, donde se consultó el inventario ganadero de la región centro de la página del SIAP del año 2020, para determinar el tamaño de la muestra, en donde se tomó en cuenta el inventario de los cinco municipios que se muestrearon.

3.4 Calculo del tamaño de muestra

Debido a que se conocía el número de animales en la región estudiada, para determinar el tamaño de la muestra se utilizó la fórmula para poblaciones finitas propuesta por Aguilar-Barojas (2005).

$$n = \frac{Z^2 p q N}{NE^2 + Z^2 p q}$$

Donde:

n= es el tamaño de la muestra: 470 bovinos

Z= es el nivel de confianza: 95%

P= es la probabilidad de éxito: 0.5

Q= Es la probabilidad de fracaso: 0.5

N= es el tamaño de la población: 37,900

E= es el error de estimación máximo aceptado: 10%

3.5 Etapa I. Fase de campo

Se realizaron visitas a los municipios teniendo el primer acercamiento con los productores, previa invitación a la reunión informativa a través del comisariado ejidal de cada localidad, así también se hizo extensiva la invitación a productores organizados en grupos de trabajo, con el fin de darles a conocer la importancia del muestreo con una plática técnica sobre leptospirosis, exhortándolos a participar en el proyecto (**Figura 2**).



Figura 2. Reunión con productores independientes y grupos de trabajo.

3.5.1 Recolección de la Información

Durante los meses de noviembre y diciembre de 2021, se aplicó una encuesta semiestructurada en cada unidad de producción, con preguntas cerradas en su mayoría (**Anexo 1**), con la cual se obtuvieron datos del manejo zootécnico, sanitario y reproductivo, con el fin de encontrar posibles factores de riesgo en la zona. Esta información nos dio un panorama de los probables hatos a muestrear tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión establecidos para el muestreo. La información climatológica se obtuvo a través del sistema de datos abiertos, de la página oficial de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) del gobierno de México. Se localizaron las estaciones cercanas alrededor del lugar del muestreo, con el fin de

obtener datos climatológicos más exactos de la región en estudio, adicional a la temperatura, también se registraron la precipitación anual acumulada (mm), el número de datos de lluvia, la temperatura media anual (°C) y el número de datos de temperatura.

3.5.2 Toma de muestras

El muestreo se realizó en el periodo de enero a febrero del año 2022, para lo cual se usaron tubos sellados al vacío sin anticoagulante de 6 ml, identificados previamente con el número de arete de cada animal, también se utilizaron agujas de 21G por 1 ½ pulgadas y un portatubo de plástico. La extracción de las muestras sanguíneas se realizó a través de punción de la vena coccígea, entre la segunda y séptima vertebra en la línea media ventral, se recolectaron 5 ml de sangre por cada muestra y se colocaron de manera vertical en la sombra a temperatura ambiente por 20 minutos, para facilitar la separación del suero sanguíneo. Los datos de las unidades de producción y de los animales, fueron registrados en una bitácora de campo con la finalidad de mantener trazabilidad en todos los procedimientos realizados en este estudio (**Figura 3**). Posteriormente se transportaron en una hielera con refrigerantes al laboratorio de Biología molecular, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH), ubicada en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.



Figura 3. Obtención de la muestra sanguínea mediante punción de la vena coccígea y registro de los datos en la bitácora de campo.

3.5.3 Metodología de georreferenciación.

De forma simultánea al muestreo, mediante la aplicación para Android NoteCam Lite: Cámara GPS versión 5.15 por Derekr Corp., se tomaron las coordenadas de las cabeceras municipales y de cada unidad de producción, con un margen de error de ± 5 m. Con esta información se elaboró una base de datos con el software Excel.

3.6 Etapa II: Fase de Laboratorio

3.6.1 Procesamiento de las Muestras

Las muestras sanguíneas colectadas se centrifugaron a 2, 598 RFC (Fuerza centrífuga relativa) por 10 min para obtener el suero sanguíneo, los cuales se conservaron en microtubos de poliestireno a -4° , posteriormente se transportaron bajo las mismas condiciones al laboratorio de leptospirosis en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID), en Salud Animal e Inocuidad (SAI) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en la Ciudad de México, donde se analizaron mediante la prueba de MAT. Se utilizaron seis serovares de *Leptospira* spp., más frecuentes en México, tres cepas de referencia: *Bratislava*, *Wolffi* y *Tarassovi* y tres aislamientos nacionales: *Hardjo* (H-89), *Icterohaemorrhagiae* (Palo Alto) y *Canicola* (Portland vere) (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Cepas del CENID SAI-INIFAP para el diagnóstico con MAT.

| ESPECIE | SEROGRUPO | SEROVARIEDAD | CEPAS |
|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| <i>L. interrogans</i> | <i>Australis</i> | <i>Bratislava</i> | <i>Jes-Bratislava</i> |
| <i>L. interrogans</i> | <i>Sejröe</i> | <i>Wolffi</i> | <i>3707</i> |
| <i>L. borgpeterssenii</i> | <i>Tarassovi</i> | <i>Tarassovi</i> | <i>Perepelitsin</i> |
| <i>L. interrogans</i> | <i>Sejröe</i> | <i>Hardjo</i> | <i>Hardjoprajitno H-89*</i> |
| <i>L. interrogans</i> | <i>Icterohaemorrhagiae</i> | <i>Icterohaemorrhagiae</i> | <i>Palo Alto*</i> |
| <i>L. interrogans</i> | <i>Canicola</i> | <i>Portland Vere</i> | <i>Sinaloa ACR*</i> |

*Aislamientos nacionales (INIFAP 2021).

El diagnóstico serológico de las muestras se realizó a través de MAT, llevando a cabo el procedimiento y la interpretación de los resultados como lo describe el manual del CENID microbiología animal del departamento de leptospirosis bovina del INIFAP (**Anexo 2**), realizando diluciones seriadas a partir de 1:50 hasta 1:800 para las seis serovariedades, el antígeno utilizado se tomó del cepario en turno del laboratorio, tomándose en ambiente estéril para verificar en el microscopio de campo oscuro que las leptospiras se encontraran libres de aglutinaciones, para realizar un buen diagnóstico. Los sueros con títulos de 1:50 se tomaron como negativos y el punto de corte para un suero positivo fue a partir de 1:100 (OMSA, 2021)."

3.7 Procesamiento de los datos y Análisis estadístico

Los datos obtenidos en las encuestas se digitalizaron en una base de datos electrónica en el programa Excel. Se utilizó estadística descriptiva, el análisis de prevalencia se realizó mediante el software de programación R Studio versión 4.2.2. Para la presentación geográfica de los resultados se utilizó la paquetería ArcGIS versión 10.5 y para realizar el análisis de factores de riesgo y regresión logística se utilizó el software IBM SPSS Statistics versión 25.

3.7.1 Cálculo de la prevalencia de *Leptospira* spp.

Para el cálculo de las prevalencias de las serovariedades de *Leptospira* spp., en bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas, se consideraron todas las muestras que se analizaron y resultaron positivas a al menos a una serovariedad. Se calculó la prevalencia verdadera (PRG) con base a “pruebas imperfectas”, mediante el estimador Rogan-Gladen que usa la sensibilidad (Se) y especificidad (Sp) de la prueba utilizada, en este caso MAT, y determina la proporción de muestras probadas que son verdaderamente positivas utilizando la siguiente fórmula:

$$P_{RG} = \frac{AP + Sp - 1}{Se + Sp - 1}$$

Así se determina la prevalencia verdadera (P_{RG}) a través de la frecuencia aparente (AP), (Rogan y Gladen, 1978). Se calcularon los intervalos de confianza utilizando la fórmula establecida por Reiczigel, y colaboradores (2010).

El análisis de prevalencia de las diferentes serovariedades de *Leptospira* spp., en bovinos de municipios de la zona centro de Chiapas, se realizaron con la paquetería “epiR” (Stevenson, 2022) . La información se mostró haciendo uso de “heatmaps, realizándose con ayuda de la paquetería “superheat” (Barter y Yu, 2018) activada en el software libre R (R Studio Team, 2015; Gaytán, 2018).

3.7.2 Representación de la distribución geográfica de *Leptospira* spp.

Para la visualización geográfica de la información se usó la paquetería “ArcGIS Versión 10.5”, se elaboraron mapas para representar la distribución de la seroprevalencia de *Leptospira* spp. en los cinco municipios, así como su relación con la precipitación pluvial anual y temperatura media ambiental, para lo cual se utilizaron coordenadas puntuales de cada unidad de producción y las prevalencias calculadas de las seis serovariedades de *Leptospira* spp., por localidad (Scott y Janikas, 2009).

3.7.3 Análisis de factores de riesgo y regresión logística.

Se calculó la asociación estadística entre la variable independiente que fue presencia o ausencia de *Leptospira* spp., y los serotipos medida por la técnica MAT con las variables de tipo socio demográfico ambiental (variables dependientes) (**Figura 4**), a través de una tabla de contingencia de 2x2 usando la prueba estadística de chi cuadrada ($P < 0.05$). Además, este modelo nos permitió descartar entre múltiples variables, aquellas que no eran de impacto estadístico para el trabajo. Simultáneamente se calculó la razón de momios con IC 95% para la probabilidad de que suceda el evento. Las variables analizadas por chi cuadrada fueron usadas para un análisis estadístico multivariado con la finalidad de establecer la interacción entre variables, todas aquellas variables con una asociación estadística de $P < 0.2$ fueron sometidas a un modelo de regresión logística paso a paso, se estableció un modelo adecuado con base en la prueba de Hosmer y Lemeshow ($P > 0,05$) y se determinaron las variables con significancia estadística ($P < 0.05$) (Fagerland y Hosmer, 2012). Los análisis bivariado y multivariado fueron realizados con el programa SPSS IBM Statistics versión 25 (IBM Corp. ©Copyright IBM Corporation versión 25, 2017).



Figura 4. Variables dependientes de tipo socio demográfico ambiental.

IV. RESULTADOS

4.1 Seroprevalencia global de *Leptospira* spp.

Se encuestaron a 92 productores y con la información obtenida se determinaron las unidades de producción a muestrear, el tamaño de muestra fue de 470 bovinos, sin embargo, se obtuvieron 590 sueros sanguíneos en 38 UP distribuidas en los cinco municipios. Los resultados obtenidos con la MAT demostraron la presencia de *Leptospira* spp., en el 100% de los municipios muestreados, con una seroprevalencia de 27.72% (IC= 23.97%-31.75%) (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Seroprevalencia global de *Leptospira* spp. en bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas.

| Variables | Muestras | *P | *N | Frecuencia (%) | Prevalencia (%) | Intervalos de confianza (%) | |
|---------------------|----------|-----|-----|----------------|-----------------|-----------------------------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Muestras analizadas | 590 | 176 | 414 | 29.83 | 27.72 | 23.97 | 31.75 |

*P= positivo; *N= negativo

4.2 Seroprevalencia de *Leptospira* spp., por serovariedad.

En el análisis de prevalencia de las serovariedades se observó que *Canicola* (*Portland vere*), fue la serovariedad con la prevalencia más alta igual a 22.89% (IC=19.36% - 26.75%) presente en 149 sueros, seguida de *Bratislava* con el 5.51% (IC=3.36% - 8.21%) con 52 sueros positivos (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Análisis de prevalencia de *Leptospira* spp., por serovariedad en bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas, con la sensibilidad de 98.2% y la especificidad de 96.4% de MAT.

| Serovariedades | *M | *P | *N | *Frec. (%) | *Prev. (%) | Intervalos de confianza (%) | |
|----------------------------------|-----|-----|-----|------------|------------|-----------------------------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| <i>Canicola</i> *(PV) | 590 | 149 | 441 | 25.25 | 22.89 | 19.36 | 26.75 |
| <i>Bratislava</i> | 590 | 52 | 538 | 8.81 | 5.51 | 3.36 | 8.21 |
| <i>Icterohaemorrhagiae</i> *(PA) | 590 | 11 | 579 | 1.86 | -1.83 | -2.70 | -0.30 |
| <i>Hardjo</i> (H-89) | 590 | 7 | 583 | 1.18 | -2.55 | -3.19 | -1.23 |
| <i>Tarassovi</i> | 590 | 3 | 587 | 0.50 | -3.27 | -3.62 | -2.23 |
| <i>Wolffi</i> | 590 | 1 | 589 | 0.16 | -3.63 | -3.79 | -2.79 |

*PV= *Portland vere*; *PA= *Palo alto*; *M= muestras; *P= positivo; *N= negativo; *Frec= frecuencia; *Prev= prevalencia.

4.3 Seroprevalencia de *Leptospira* spp., por municipios

En cuanto al análisis de seroprevalencia de *Leptospira* spp., por municipio se observó que Cintalapa tuvo la seroprevalencia más alta con el 61.75% (80/129) (IC= 52.65% - 70.11%), seguido de Ocozocoautla con el 30.29% (40/124) (IC= 22.27% - 39.44%), Jiquipilas con 19.97% (27/120) (IC= 13.05% - 28.70%), San Fernando con 11.44% (15/104) (IC= 5.64% - 19.91%) y por último Suchiapa, con una seroprevalencia del 9.29% (14/113) (IC= 4.14% - 17.04%) (Figura 5).

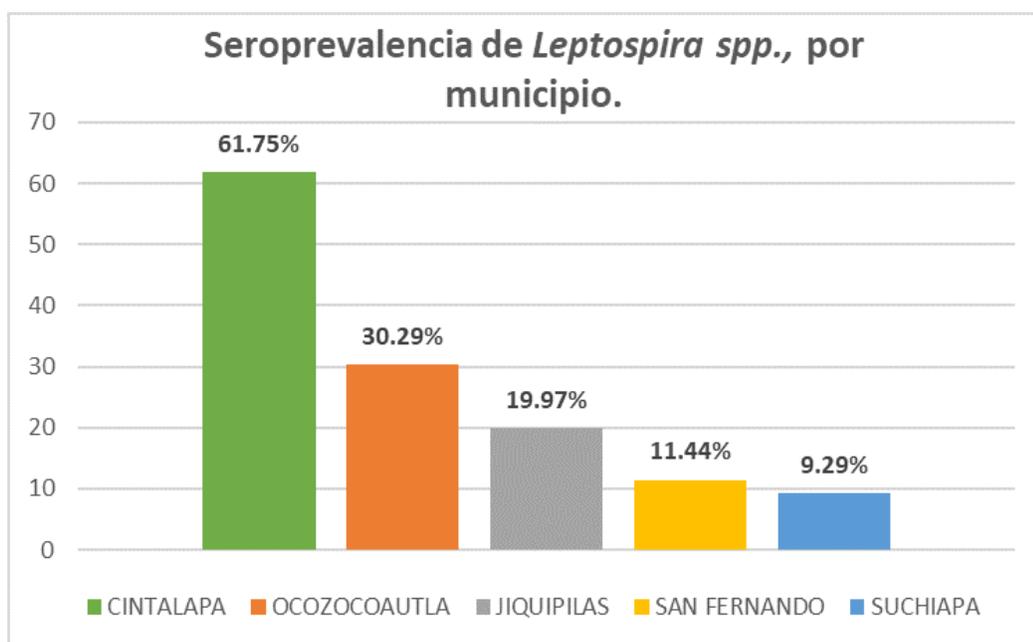


Figura 5. Seroprevalencia de *Leptospira* spp., de cinco municipios de la zona centro de Chiapas.

4.4 Seroprevalencia de *Leptospira* spp., por sexo

Del total de muestras obtenidas, 565 fueron de hembras (95.7%) y 25 fueron de machos (4.2%), la edad de los animales oscilo entre 3 y 13 años. El análisis de prevalencia por sexo determinó la presencia de *Leptospira* spp., en mayor porcentaje en hembras con un 28.18% (IC= 24.33% - 32.32%) respecto a los machos donde se obtuvo 17.33% (IC= 5.56% - 37.55%) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Seroprevalencia de *Leptospira* spp., con relación al sexo en bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas.

| Variables | Muestras | *P | *N | *Frec. (%) | *Prev. (%) | Intervalos de confianza (%) | |
|-----------|----------|-----|-----|------------|------------|-----------------------------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Hembras | 565 | 171 | 394 | 30.26 | 28.18 | 24.33 | 32.32 |
| Machos | 25 | 5 | 20 | 20 | 17.33 | 5.56 | 37.55 |

*P= positivo; *N= negativo; *Frec= frecuencia; *Prev= prevalencia

4.5 Seroprevalencia de *Leptospira* spp., en función a razas puras y cruzas.

Se analizaron 8 distintas cruzas (Cebú/Brahman, Cebú/cebú, Cebú/Charoláis, Cebú/Holstein, Cebú/Simbra, Cebú/Simental, Cebú/suizo americano y Suizo Americano/Holstein) y 8 razas puras (Brahman, Brangus, Charoláis, Gyrolando, Sardo negro, Simbra, Simental y Suizo Americano), se observó mayor prevalencia en razas puras sobre las cruzas bovinas, con un 30.05% (IC= 22.19% -39.04%) y 27.08% (IC= 22.89% - 31.63%) respectivamente. (**Cuadro 6**).

Cuadro 6. Seroprevalencia de *Leptospira* spp., en función a razas puras y cruzas de bovinos de traspasio de la zona centro de Chiapas.

| Variables | Muestras | *P | *N | Frecuencia (%) | Prevalencia (%) | Intervalos de confianza (%) | |
|-----------|----------|-----|-----|----------------|-----------------|-----------------------------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Raza pura | 128 | 41 | 87 | 32.03 | 30.05 | 22.19 | 39.04 |
| cruza | 462 | 135 | 327 | 29.22 | 27.08 | 22.89 | 31.63 |

*P= positivo; *N= negativo

4.6 Seroprevalencia de *Leptospira* spp., en hembras con problemas reproductivos y hembras sanas.

Las encuestas realizadas en cada UP nos indicaron que el 3.9% (9/22) de las hembras muestreadas con antecedentes de repetición de celo, retención placentaria, anestro, abortos, mortinatos y momificación fetal, fueron positivas a al menos a una serovariedad de *Leptospira* spp., con una prevalencia del 39.43% (IC= 20.77% - 60.95%). Por otra parte, los resultados en el grupo de las 543 hembras que se encontraban aparentemente sanas al momento del muestreo, se observó una prevalencia más baja del 27.97 % (IC= 23.97% - 31.75%), como podemos observar en el **cuadro 7**.

Cuadro 7. Seroprevalencia de *Leptospira* spp., relacionados con el estado de salud reproductivo.

| Hembras | Muestras | *P | *N | *Frec. (%) | Prevalencia (%) | Intervalos de confianza (%) | |
|-------------------------|----------|-----|-----|------------|-----------------|-----------------------------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Problemas reproductivos | 22 | 9 | 13 | 40.90 | 39.43 | 20.77 | 60.95 |
| Sanas | 543 | 162 | 381 | 29.83 | 27.97 | 23.97 | 31.75 |

*P= positivo; *N= negativo; *Frec= frecuencia

4.7 Distribución espacial de la seroprevalencia de *Leptospira* spp., en los municipios de la zona centro de Chiapas.

Los resultados de MAT arrojaron que el 89.47% (34/38) de las unidades de producción, están expuestas a *Leptospira* spp., considerándose como positivas las que tuvieron al menos un animal con presencia de anticuerpos. Las unidades de producción con mayor prevalencia de *Leptospira* spp., entre 20% a 100%, se concentró en Cintalapa, seguido de Ocozocoautla con UP con seroprevalencias de 3% a 80%, en Jiquipilas se observaron hatos desde 1% a 50% de seroprevalencia, San Fernando tuvo prevalencias por UP entre 2% a 20% y por último Suchiapa que fue el municipio con menor prevalencia de manera general, no obstante, la prevalencia por UP se encontró en un rango de 3% a 30%. Se observó que la UP con mayor seroprevalencia se localizó en Cintalapa, donde todos los animales muestreados fueron positivos (26/26) con una seroprevalencia del 100%, y en Jiquipilas la UP denominada “Los Cuatro Farrera” con una seroprevalencia de 3.44% con solo un animal positivo de 29 muestras (**Figura 6**).

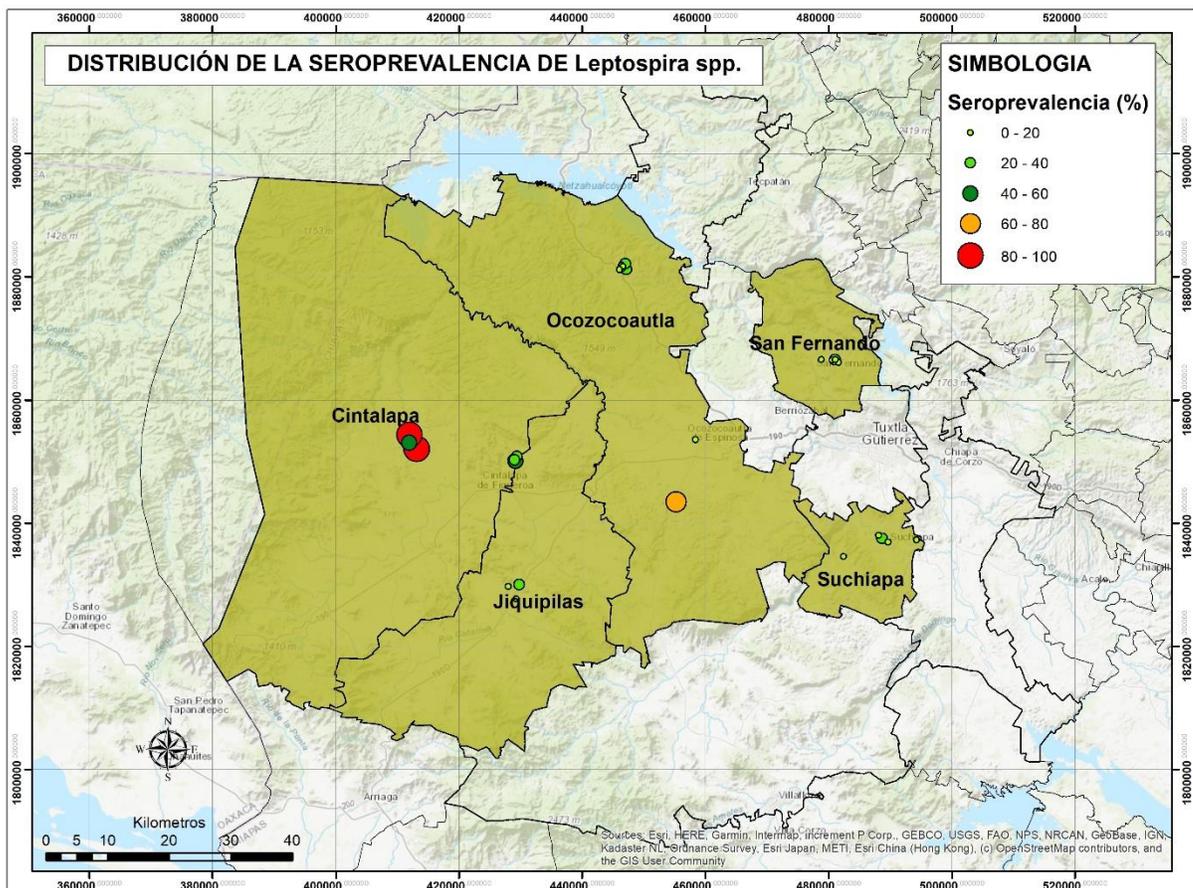


Figura 6. Mapa de Distribución espacial de *Leptospira* spp., en cinco municipios de la zona centro de Chiapas.

4.8 Distribución espacial de la seroprevalencia de *Leptospira* spp., y su relación con la Precipitación Anual Acumulada (PAA).

En el mapa observamos que los puntos de mayor seroprevalencia se concentraron en Cintalapa y Ocozocoautla, que son los municipios con las precipitaciones más altas de 1206.7 mm y 2000.3 mm respectivamente, según reportes de CONAGUA (2021) de las estaciones climatológicas de la zona de estudios y aledañas. En este sentido, Tecpatán tiene 1667.5 mm de PAA y colinda con estos dos municipios. En San Fernando se reportó una PAA de 976.5 mm seguido de Jiquipilas con 856.6 mm y finalmente Suchiapa con un reporte de PAA de 800.6 mm siendo este el municipio en el que se encontró el menor número de animales positivos (**Figura 7**).

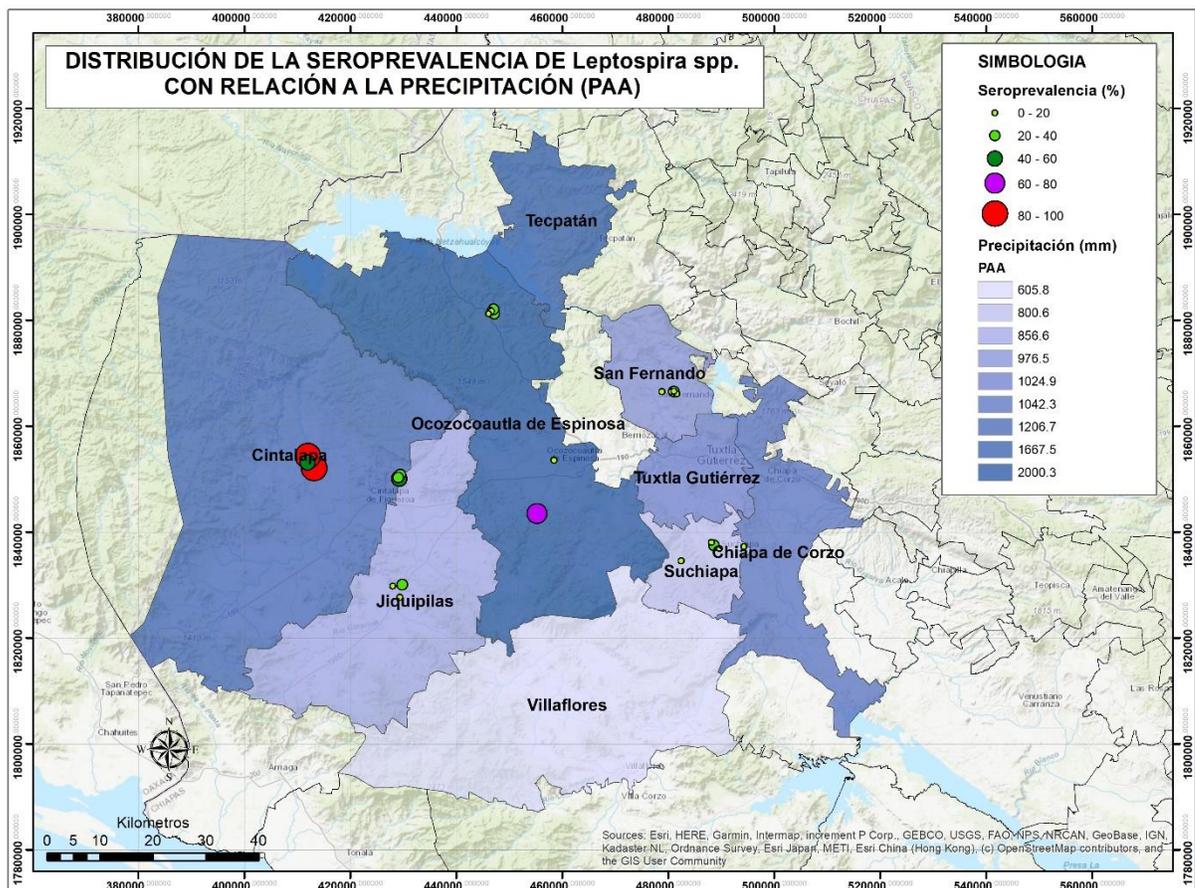


Figura 7. Mapa de la distribución espacial de la seroprevalencia de *Leptospira* spp., con relación a la precipitación acumulada anual de la zona centro de Chiapas.

4.9 Distribución espacial de la seroprevalencia de *Leptospira* spp., y su relación con la Temperatura Media Anual (TMA).

Los puntos de seroprevalencia mayor se concentraron en los municipios de Cintalapa, Ocozocoautla y Jiquipilas. En el mapa de rangos de temperatura (Figura 8), se puede observar a los municipios que reportan las temperaturas más altas que son Cintalapa y Jiquipilas con una TMA de 27.5 °C, Ocozocoautla se observa con un clima similar apenas por debajo de los municipios antes mencionados con una TMA de 27.3 °C, Suchiapa con 26.8 °C y San Fernando, donde las TMA son de 26.3 °C, lo que sugiere que a mayor temperatura mayor seroprevalencia, demostrándose en Cintalapa que es el municipio con las temperaturas más altas y donde hubo mayor prevalencia en contraste con San Fernando que es uno de los dos municipios donde las seroprevalencias fueron mínimas y el clima se reporta con dos grados centígrados menos.

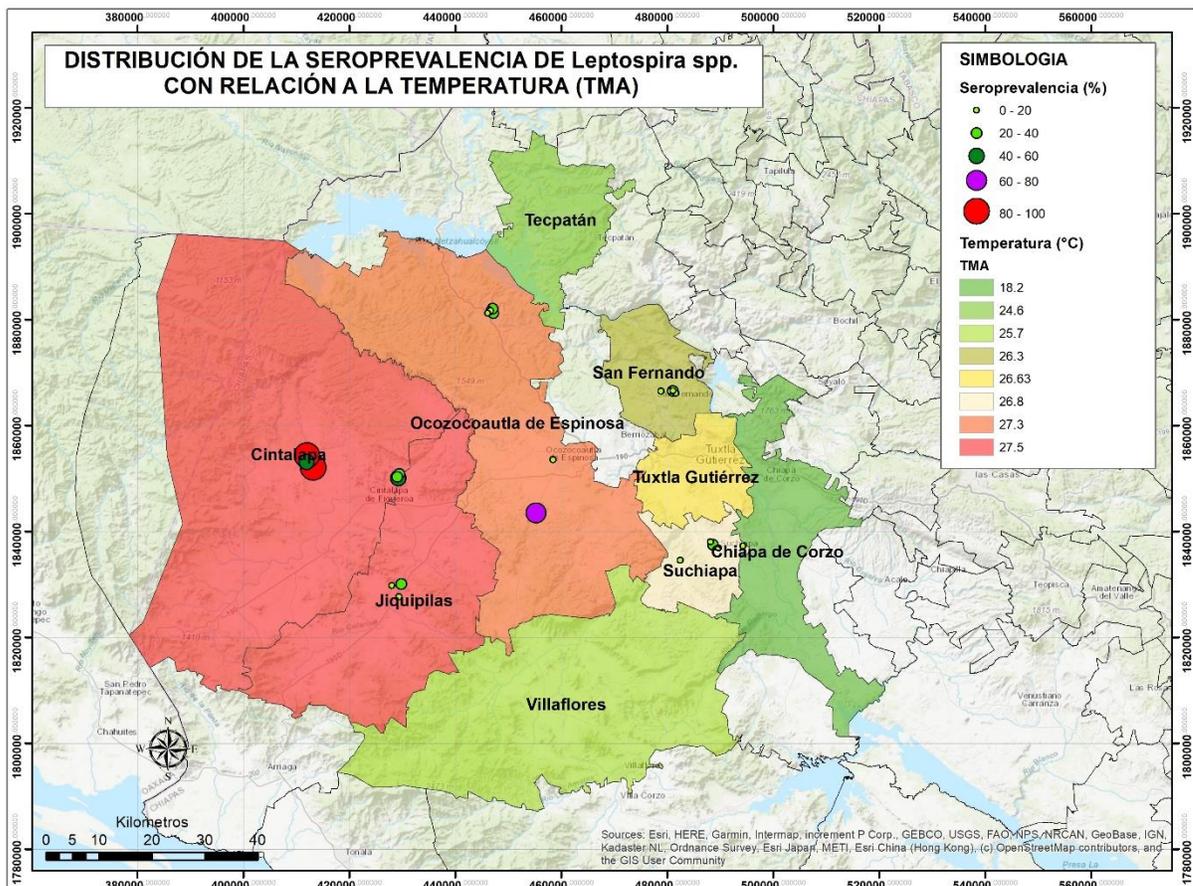


Figura 8. Mapa de la distribución espacial de la seroprevalencia de *Leptospira* spp., con relación a la temperatura media anual de la zona centro de Chiapas.

4.10 Distribución espacial de la serovariedad *Canicola* (*Portland vere*).

Como se puede observar en la **figura 9**, la serovariedad *Canicola* se encuentra distribuida en los cinco municipios en 24 puntos, y se distribuyó de la siguiente manera: en Cintalapa se presentaron las seroprevalencias más altas desde 30% hasta 100% (5/5), seguida de Ocozocoautla (6/8) con prevalencias que van de 8% hasta 80%, en el municipio de Jiquipilas (3/4) se observa la seroprevalencia más alta del municipio de 40% y la más baja de 11.76%, en Suchiapa (5/5) de 6.66% a 30.76% y San Fernando (5/5) con prevalencias de 5.5% a 22.72%. 15 UP estuvieron en los rangos de prevalencia de 5.55% a 20%, en seis UP los rangos fueron de 22.72% a 40% y cuatro UP con las prevalencias más altas desde 52.38% a 100%. Tres UP fueron negativas a esta serovariedad localizadas en Ocozocoautla y Jiquipilas.

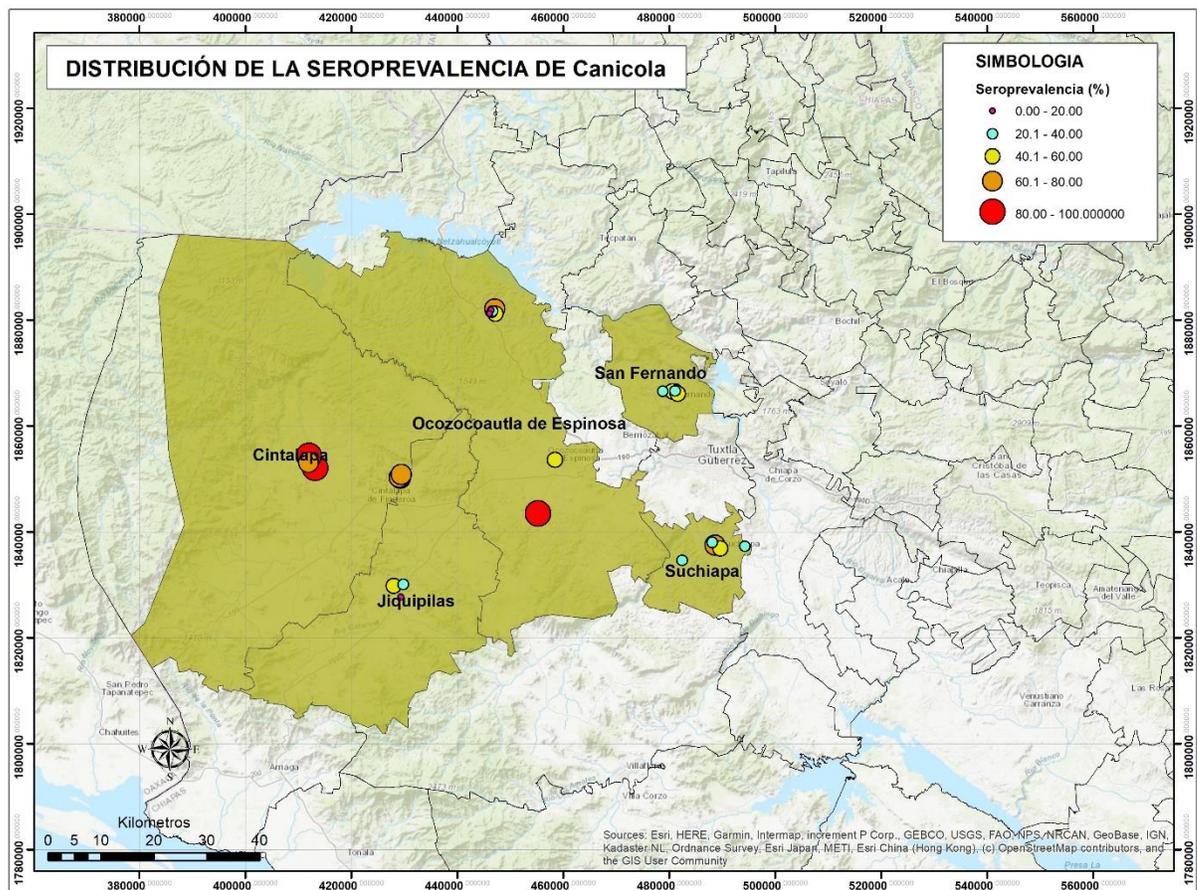


Figura 9. Mapa de distribución espacial de la serovariedad *Canicola* (*Portland vere*) en municipios de la zona centro de Chiapas.

4.11 Distribución espacial de la serovariedad *Bratislava*.

En la **figura 10** se observa la distribución espacial de la serovariedad *Bratislava*, distribuida en cuatro municipios en 15 puntos, 12 UP fueron negativas, San Fernando se encontró libre de esta serovariedad, la distribución se dio de la siguiente manera: Cintalapa fue el municipio con mayor prevalencia a esta serovariedad y se observan prevalencias desde 10% a 42.3% en (4/5) UP, en Ocozocoautla se encontraron (6/8) UP con prevalencias que van de 6.66% hasta 33.33%, Jiquipilas con (4/4) UP se observó una prevalencia de 3.44% a 20%, y Suchiapa (1/5) se observa una unidad de producción positiva con 5.26% de seroprevalencia. 12 UP tuvieron rangos de prevalencia de 2.94% a 20% y tres UP entre 3.33% a 42.3%.



Figura 10. Mapa de distribución espacial de la serovariedad *Bratislava* en municipios de la zona centro de Chiapas.

4.12 Distribución espacial de la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* (Palo alto).

La serovariedad *Icterohaemorrhagiae* se encuentra distribuida en cuatro municipios en 8 UP de la zona centro de Chiapas, principalmente se encuentra en el municipio de Ocozocoautla (3/8) con un rango de prevalencias en las UP de 5.55% a 10%, en segundo lugar, se encuentra Jiquipilas con las prevalencias de 5% a 5.88% (2/4), en Cintalapa se presentó en dos UP (2/5) con prevalencias bajas de 2.94% a 5%, en el municipio de Suchiapa solamente una UP (1/5) fue positiva con una prevalencia de 7.69% y San Fernando se encuentra libre de esta serovariedad. Por lo que se puede observar en la **figura 11**, *Icterohaemorrhagiae* si se encuentra presente en la zona de estudio, pero en pocas unidades de producción con prevalencias bajas que van de 2.94% a 10%.

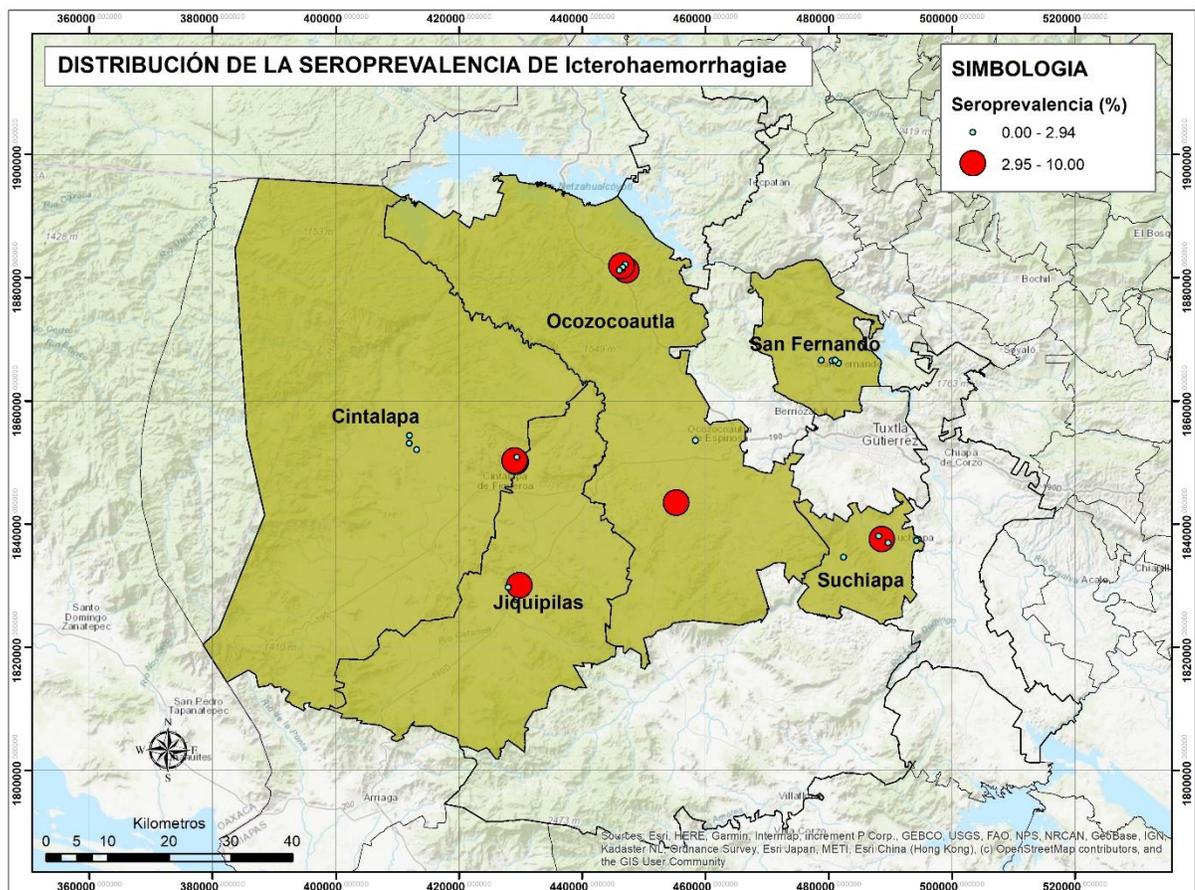


Figura 11. Mapa de distribución espacial de la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* (Palo alto) en municipios de la zona centro de Chiapas.

4.13 Distribución espacial de la serovariedad *Hardjo* (Inifap H-89).

En el estudio realizado en la zona centro de Chiapas no se obtuvo la prevalencia como se esperaba, encontrándose libres de esta serovariedad tres municipios que fueron: Cintalapa, Jiquipilas y San Fernando. El municipio de Ocozocoautla se encontró en (3/8) UP con rangos de 10% a 22.22% y Suchiapa donde se observa en la **figura 12** en un solo punto del municipio (1/5), con una prevalencia de 5.26%.

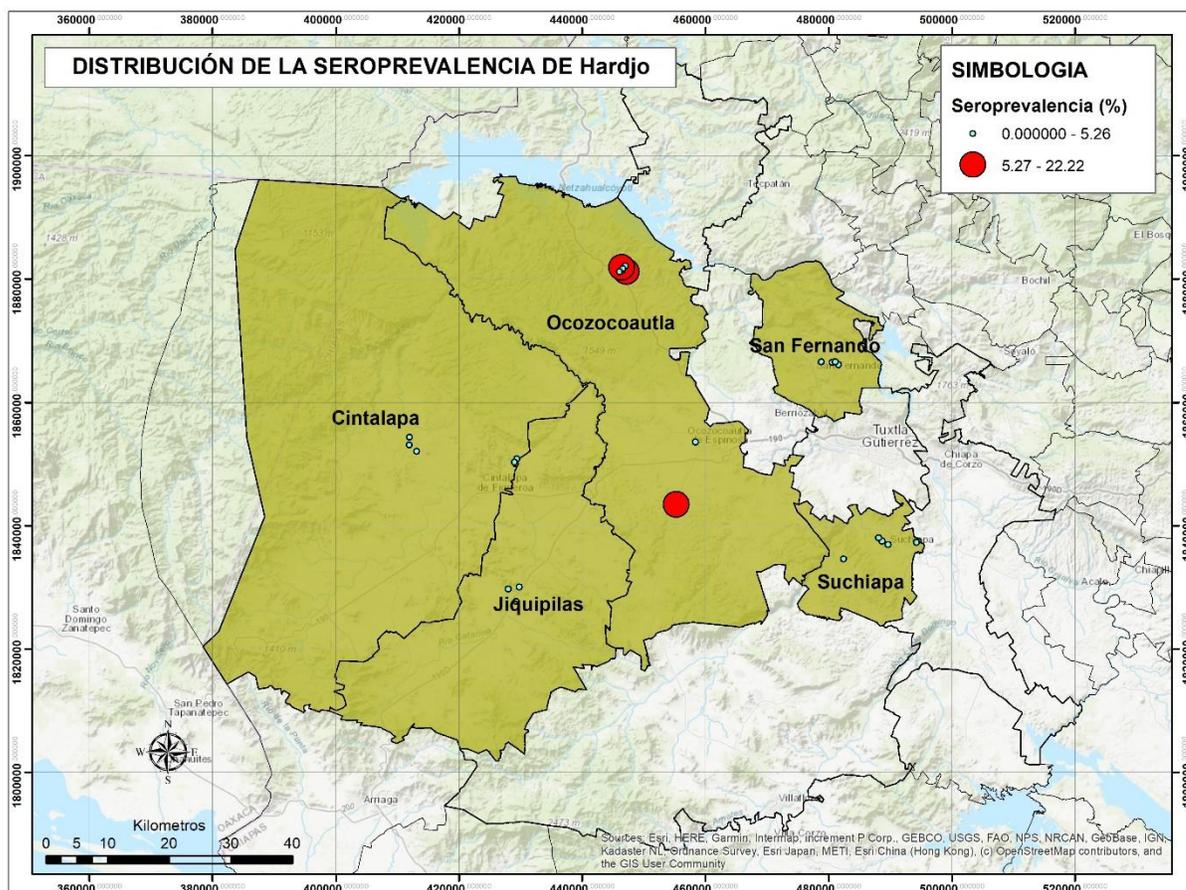


Figura 12. Mapa de distribución espacial de la serovariedad *Hardjo* (H-89) en municipios de la zona centro de Chiapas.

4.14 Distribución espacial de la serovariedad *Tarassovi*.

En la **figura 13** se observa cómo se encuentra distribuida *Tarassovi*, con pocos puntos de distribución debido a que los municipios de Cintalapa, Ocozocoautla y San Fernando resultaron negativos a esta serovariedad, se encontró presente únicamente en Suchiapa (1/5) con prevalencia de 5.26% y Jiquipilas (1/4) con 2.94% de prevalencia. *Tarassovi* se encontró presente en la zona de estudio en baja proporción ya que solo está distribuida en dos UP (2/27) de manera general, con rangos de prevalencias muy bajos.



Figura 13. Mapa de distribución espacial de la serovariedad *Tarassovi* en municipios de la zona centro de Chiapas.

4.15 Distribución espacial de la serovariedad *Wolffi*.

Como se observa en la **figura 14** la zona de estudio no se vio afectada de gran manera por esta serovariedad, los municipios de Cintalapa, Ocozocoautla, Jiquipilas y San Fernando se encontraron limpios de esta serovariedad en las UP (26/27), en Suchiapa se observó en un solo animal seropositivo en una UP, lo que equivale al 5.26% de prevalencia, las cuatro UP (4/5) restantes fueron negativas. *Wolffi* es la serovariedad con menos distribución en la zona.



Figura 14. Mapa de distribución espacial de la serovariedad *Wolffi* en municipios de la zona centro de Chiapas.

4.16 Estimación de la asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con factores demográficos, reproductivos y ambientales.

El análisis bivariado de tablas de contingencia reveló asociación estadística entre la frecuencia de *Leptospira* spp., y los municipios de Cintalapa, San Fernando, Suchiapa y Jiquipilas. La mayor Odds ratio (OR) se determinó entre *Leptospira* spp., y Cintalapa con este municipio (**Cuadro 8**). En este mismo sentido, la serovariedad *Canicola* se asoció estadísticamente con Cintalapa ($P<0.05$; OR 7.24), Jiquipilas ($P<0.05$; OR 0.492), San Fernando ($P<0.05$; OR 0.443) y Suchiapa ($P<0.05$; OR 0.326), mientras que *Bratislava* con el municipio de Cintalapa ($P<0.05$; OR 3.864), San Fernando ($P<0.05$; OR 0.807) y Suchiapa ($P<0.05$; OR 0.07).

Cuadro 8. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con el área demográfica (N=590).

| Municipio | Muestras | Positivos | *Frec (%) | P | OR | IC (95%) | |
|--------------|----------|-----------|-----------|--------------|-------|----------|------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Cintalapa | 129 | 80 | 62.01 | 0.00* | 6.207 | 4.07 | 9.45 |
| San Fernando | 104 | 15 | 14.42 | 0.00* | 0.340 | 0.19 | 0.60 |
| Suchiapa | 113 | 14 | 12.38 | 0.00* | 0.275 | 0.15 | 0.49 |
| Jiquipilas | 120 | 27 | 22.50 | 0.04* | 0.625 | 0.39 | 1.00 |
| Ocozocoautla | 124 | 40 | 32.25 | 0.50 | 1.155 | 0.75 | 1.77 |

* Estadísticamente significativo; prueba χ^2 , *Frec= frecuencia

Se observó asociación estadística entre la frecuencia de *Leptospira* spp., con las vacas de tres (IC= 0.28% - 0.90%) y ocho años (IC= 1.13% - 4.09%), se observó una mayor Odds Ratio (OR) en las vacas de 12 años (IC= 0.86% - 24.40%) como se puede observar en el **cuadro 9**. En cuanto al análisis estadístico de la edad con la serovariedad *Canicola* se relacionó estadísticamente ($P<0.05$; OR 0.498) con los bovinos de 3 años (15.11%), 8 años (46.34 %) y 12 años (66.67%). La mayor OR (6.05) se observó con los bovinos de 12 años. En el análisis de esta información por rangos, se encontró asociación estadística en los rangos de edad de 3 a 4 años y de 7 a 8 años con *Leptospira* spp., y con la serovariedad *Canicola*.

Cuadro 9. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con la edad (N=590).

| Edad (años) | Muestras | Positivos | Frecuencia (%) | P | OR | IC (95%) | |
|----------------|----------|-----------|-------------------|--------------|-------------|----------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| 3 | 86 | 16 | 18.60 | 0.01* | 0.50 | 0.28 | 0.90 |
| 4 | 145 | 35 | 24.13 | 0.08 | 0.68 | 0.44 | 1.05 |
| 5 | 128 | 43 | 33.59 | 0.23 | 1.28 | 0.84 | 1.96 |
| 6 | 97 | 29 | 29.89 | 0.95 | 0.98 | 0.61 | 1.58 |
| 7 | 49 | 20 | 40.81 | 0.06 | 1.76 | 0.96 | 3.23 |
| 8 | 41 | 19 | 46.34 | 0.01* | 2.15 | 1.13 | 4.09 |
| 9 | 13 | 5 | 38.46 | 0.49 | 1.48 | 0.47 | 4.60 |
| 10 | 21 | 5 | 23.80 | 0.53 | 0.72 | 0.26 | 2.01 |
| 11 | 3 | 0 | 0.00 | 0.28 | 0.99 | 0.98 | 1.00 |
| 12 | 6 | 4 | 66.66 | 0.06 | 4.79 | 0.86 | 24.40 |
| 13 | 1 | 0 | 0.00 | 0.51 | 0.99 | 0.99 | 1.00 |

* Estadísticamente significativo; prueba χ^2

Se observó asociación estadística entre la frecuencia de *Leptospira* spp., y las vacas de la craza Suizo Americano/Holstein (IC= 2.37% - 51.97%), además, se observó una mayor OR con esta raza (**Cuadro 10**). En el análisis de la raza con la serovariedad *Canicola* se asoció estadísticamente ($P<0.05$; OR= 5.386) con la craza Suizo Americano/Holstein (66.30%).

Cuadro 10. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con la raza (N=590).

| Raza | *M | Positivos | *Frec (%) | P | OR | IC (95%) | |
|--------------------------|-----|-----------|--------------|--------------|--------------|----------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Suizo Americano/Holstein | 11 | 9 | 81.81 | 0.00* | 11.10 | 2.37 | 51.97 |
| Suizo Americano | 38 | 15 | 39.47 | 0.06 | 1.93 | 0.96 | 3.90 |
| Brangus | 1 | 1 | 100 | 0.12 | 1.0 | 0.99 | 1.01 |
| Gyrolando | 1 | 1 | 100 | 0.12 | 1.0 | 0.99 | 1.01 |
| Charoláis | 4 | 0 | 0 | 0.19 | 0.99 | 0.98 | 1.00 |
| Cebú/Simental | 59 | 14 | 23.72 | 0.24 | 0.69 | 0.37 | 1.29 |
| Cebú/Brahman | 3 | 0 | 0 | 0.25 | 0.99 | 0.98 | 1.00 |
| Simental | 3 | 0 | 0 | 0.25 | 0.99 | 0.98 | 1.00 |
| Simbra | 4 | 2 | 50 | 0.37 | 2.36 | 0.33 | 16.94 |
| Cebú/Suizo Americano | 378 | 109 | 28.83 | 0.51 | 0.88 | 0.61 | 1.27 |
| Cebú/Simbra | 1 | 0 | 0 | 0.51 | 0.99 | 0.98 | 1.00 |
| Cebú/Charoláis | 2 | 1 | 50 | 0.53 | 2.36 | 0.14 | 37.94 |
| Brahman | 5 | 1 | 20 | 0.62 | 0.58 | 0.06 | 5.27 |
| Cebú/Holstein | 8 | 2 | 25 | 0.76 | 0.78 | 0.15 | 3.91 |
| Sardo negro | 4 | 1 | 25 | 0.83 | 0.78 | 0.08 | 7.57 |
| Cebú(cruza) | 68 | 20 | 29.41 | 0.93 | 0.97 | 0.59 | 1.70 |

* Estadísticamente significativo; prueba χ^2 ; *M= muestras; *Frec= frecuencia

No se observó asociación estadística entre la frecuencia de *Leptospira* spp., y vacas vacías y gestantes, en este sentido, se observó una mayor OR de *Leptospira* spp., con las vacas vacías (IC= 0.95% - 1.93%) estos datos los podemos observar en el **cuadro 11**. En el análisis estadístico del estado reproductivo del animal con la serovariedad *Wolffi* observamos una asociación estadística con sementales (P<0.05).

Cuadro 11. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con vacas vacías, gestantes y Sementales (N=590).

| | Muestras | Positivos | *Frec (%) | P | OR | IC (95%) | |
|------------|----------|-----------|-----------|------|-------------|----------|------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Vacía | 280 | 93 | 33.21 | 0.88 | 1.36 | 0.95 | 1.93 |
| Gestante | 285 | 78 | 27.36 | 0.26 | 0.79 | 0.55 | 1.13 |
| Sementales | 25 | 5 | 20 | 0.27 | 0.57 | 0.21 | 1.56 |

*Frec= frecuencia

Se observó asociación estadística (P<0.05) y la OR entre la frecuencia de *Leptospira* spp., con el método de reproducción por Inseminación artificial (IC= 1.19% - 3.87%) (**Cuadro 12**). Analizando el método de reproductivo con la serovariedad *Canicola* se observó que se asoció estadísticamente con el método de reproducción por inseminación artificial (P<0.05; OR 2.155), mientras que *Hardjo* estuvo asociado con el método por monta directa (P<0.05; OR 0.209).

Cuadro 12. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con el método reproductivo (N=590).

| Método reproductivo | Muestras | *Pos | *Frec (%) | P | OR | IC (95%) | |
|-------------------------|----------|------|-----------|---------------|--------------|----------|------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Inseminación artificial | 50 | 23 | 46 | 0.009* | 2.155 | 1.19 | 3.87 |
| Monta directa | 459 | 132 | 28.8 | 0.287 | 0.798 | 0.52 | 1.20 |
| Ambos métodos | 81 | 21 | 25.9 | 0.408 | 0.799 | 0.67 | 1.36 |

* Estadísticamente significativo; prueba χ^2 , *Pos= positivos, *Frec= frecuencia

No se observó asociación estadística entre la frecuencia de *Leptospira* spp., y los problemas reproductivos manifestados por los productores (P> 0.05), no obstante, se observó una mayor OR (2.39) de *Leptospira* spp., con abortos en vacas (**Cuadro 13**). Se observaron serovariedades con altos valores de OR, en el caso de aborto la serovariedad *Canicola* (P>0.05; OR 2.0), *Bratislava* (P>0.05; OR 2.6), *Hardjo* (P>0.05; OR 10.6), e *Icterohaemorrhagiae* (P>0.05; OR 6.33) y con repetición de celo *Hardjo* (P>0.05; OR 16.02), e *Icterohaemorrhagiae* (P>0.05; OR 9.55).

Cuadro 13. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con problemas reproductivos (N=590).

| Problemas reproductivos | Muestras | Positivos | *Frec (%) | P | OR | IC (95%) | |
|-------------------------|----------|-----------|-----------|------|-------------|----------|------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Aborto | 10 | 5 | 50 | 0.16 | 2.39 | 0.68 | 8.36 |
| Momificación fetal | 1 | 1 | 100 | 0.29 | 1 | 0.99 | 1.76 |
| Mortinato | 1 | 1 | 100 | 0.29 | 1 | 0.99 | 1.01 |
| Retención placentaria | 2 | 0 | 0 | 0.35 | 0.995 | 0.98 | 1.00 |
| Repetición de celo | 7 | 2 | 28.6 | 0.94 | 0.940 | 0.18 | 4.89 |

*Frec= frecuencia

Se observó asociación estadística ($P<0.05$) entre la frecuencia de *Leptospira* spp., con la fuente de agua de Jaguey y Pozo. La mayor OR se determinó entre *Leptospira* spp., y Pozo (**Cuadro 14**). En este mismo sentido, la serovariedad *Canicola* se asoció estadísticamente con jaguey ($P<0.05$; OR 0.489) y pozo ($P<0.05$; OR 1.618), mientras que *Bratislava* con jaguey ($P<0.05$; OR 0.79) y pozo ($P<0.05$; OR 1.847).

Cuadro 14. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con el tipo de abastecimiento de agua (N=590).

| Fuente de agua | Muestras | Positivos | *Frec (%) | P | OR | IC (95%) | |
|----------------|----------|-----------|-----------|--------------|--------------|----------|------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Jaguey | 109 | 18 | 16.51 | 0.00* | 0.404 | 0.23 | 2.47 |
| Pozo | 215 | 80 | 37.20 | 0.03* | 1.722 | 1.20 | 2.47 |
| Arroyo | 266 | 78 | 29.32 | 0.80 | 0.957 | 0.67 | 1.36 |

* Estadísticamente significativo; prueba χ^2 , *Frec= frecuencia

Se observó asociación estadística entre la frecuencia de *Leptospira* spp., con la presencia de roedores y perros en los ranchos, además, se observó una mayor OR entre la frecuencia de *Leptospira* spp., y la presencia de perros en las UP (**Cuadro 15**). En este mismo sentido, la serovariedad *Canicola* se asoció estadísticamente con la presencia de roedores en la granja ($P<0.05$; OR 0.576) y con la presencia de perros ($P<0.05$; OR 3.820), mientras que *Bratislava* se asoció con la presencia de roedores ($P<0.05$; OR 0.410), por último, la serovariedad *Hardjo* con la presencia de roedores en la granja ($P<0.05$; OR 0.162).

Cuadro 15. Asociación de seropositividad de *Leptospira* spp., con vectores y sistemas de alimentación por unidad de producción (N=38).

| Variables | *M | Positivos | *Frec (%) | P | OR | IC (95%) | |
|-----------------------|----|-----------|-----------|--------------|-------|----------|-------|
| | | | | | | Bajo | Alto |
| Presencia de perros | 38 | 30 | 78.94 | 0.04* | 7.50 | 0.81 | 69.07 |
| Pastoreo | 38 | 30 | 78.94 | 0.04* | 8.50 | 3.38 | 21.34 |
| Presencia de roedores | 38 | 26 | 68.42 | 0.25 | 3.250 | 0.39 | 26.91 |
| Comparte semental | 38 | 4 | 10.52 | 0.46 | 1.13 | 1.00 | 1.28 |
| Semiestabulado | 38 | 4 | 10.52 | 0.45 | 0.40 | 0.03 | 4.83 |

* Estadísticamente significativo; prueba χ^2 ; *M= muestras; *Frec= frecuencia

4.17 Factores de riesgo asociados con la seropositividad de *Leptospira* spp., mediante regresión logística.

Se realizó una regresión logística para evaluar la asociación estadística de lo observado en el análisis bivariado. Se estableció un modelo adecuado con base en la prueba de Hosmer y Lemeshow ($P > 0.05$). En el **cuadro 16** se muestran los factores de riesgo asociados con la seropositividad de *Leptospira* spp., se enmarcan las condiciones climatológicas como las temperaturas de 26.3 °C, 26.8 °C y 27.5 °C , así como la precipitación pluvial de 976.5 mm, 800.6 mm, y 1206.7 mm, presentes en algunos municipios como San Fernando, Suchiapa y Cintalapa, respectivamente. Así como la craza Suizo Americano - Holstein, las fuentes de agua por jaguey, el método de reproducción por inseminación artificial y los bovinos de 3 y 8 años.

Cuadro 16. Factores de riesgo asociados a la seropositividad de *Leptospira* spp. en bovinos de la zona centro de Chiapas.

| Factores de riesgo | B | P | OR | IC (95%) | |
|--------------------------|--------|--------------|-------|----------|-------|
| | | | | Bajo | Alto |
| 26.3°C | -1.039 | 0.00* | 0.354 | 0.18 | 0.68 |
| 26.8°C | -1.214 | 0.00* | 0.297 | 0.15 | 0.58 |
| 800.6 mm | -1.214 | 0.00* | 0.297 | 0.15 | 0.58 |
| 976.5 mm | -1.039 | 0.00* | 0.354 | 0.18 | 0.68 |
| 1206.7 mm | 1.232 | 0.00* | 3.429 | 2.04 | 5.75 |
| Suizo americano/Holstein | 1.322 | 0.01* | 3.150 | 1.30 | 10.76 |
| Jaguey | -0.741 | 0.01* | 0.477 | 0.27 | 0.84 |
| Inseminación artificial | 0.889 | 0.01* | 2.434 | 1.15 | 5.13 |
| 3 años | -0.615 | 0.03* | 0.541 | 0.30 | 0.96 |
| 8 años | 0.685 | 0.03* | 1.985 | 1.04 | 3.78 |
| 27.5°C | 0.459 | 0.04* | 1.582 | 1.00 | 2.48 |
| Suizo americano | 0.680 | 0.06 | 1.974 | 0.97 | 4.01 |
| Pozo | 0.356 | 0.06 | 1.428 | 0.97 | 2.09 |
| 856.6 mm | -0.495 | 0.08 | 0.610 | 0.34 | 1.07 |

* Estadísticamente significativo; prueba de regresión logística.

En este mismo sentido, en el **cuadro 17** se muestran los factores de riesgo asociados con la seropositividad de *Leptospira* spp., serovariedad *Canicola*, destacan los animales de 8 años, las temperaturas de 26.8°C y 27.5°C, así como la precipitación pluvial de 800.6 mm y 1206.7 mm presentes en los municipios de Suchiapa y Cintalapa respectivamente.

Cuadro 17. Factores asociados con la serovariedad *Canicola* (*Portland vere*).

| Factores | B | P | OR | IC (95%) | |
|-----------|--------|--------------|-------|----------|------|
| | | | | Bajo | Alto |
| 8 años | 0.943 | 0.00* | 2.569 | 1.34 | 4.91 |
| 27.5°C | 0.779 | 0.00* | 2.179 | 1.32 | 3.58 |
| 1206.7 mm | 1.607 | 0.00* | 4.990 | 2.87 | 8.66 |
| 26.8°C | -0.761 | 0.03* | 0.467 | 0.22 | 0.95 |
| 800.6 mm | -0.761 | 0.03* | 0.467 | 0.22 | 0.95 |

* Estadísticamente significativo; prueba de regresión logística.

En el **cuadro 18** se muestran los factores de riesgo asociados con la seropositividad de *Leptospira* spp., serovariedad *Bratislava*, destacan la temperatura de 27.5 °C, la precipitación pluvial de 800.6 mm y 1206.7 mm, presentes en los municipios de Suchiapa y Cintalapa.

Cuadro 18. Factores asociados con la serovariedad *Bratislava*.

| Factores | B | P | OR | IC (95%) | |
|-----------|--------|--------------|-------|----------|------|
| | | | | Bajo | Alto |
| 27.5°C | 0.981 | 0.00* | 2.668 | 1.40 | 5.07 |
| 800.6 mm | -2.592 | 0.01* | 0.075 | 0.01 | 0.55 |
| 1206.7 mm | 0.701 | 0.02* | 2.016 | 1.11 | 3.66 |

*Variables significativas (P<0.05), * Estadísticamente significativo; prueba de regresión logística.

V. DISCUSIÓN

En un estudio realizado por Burgos y colaboradores (2019) en Manabí, Ecuador, para determinar las serovariedades de *Leptospira* spp., se analizaron 854 sueros de bovinos provenientes de 67 hatos, obteniendo una prevalencia general del 57.38% y encontrando seropositividad a las ocho serovariedades analizadas, siendo *Pomona* la más frecuente con el 27.99% e *Icterohaemorrhagiae* con prevalencia de 21.55%. Así mismo Gutiérrez *et al.*, (2020) analizaron diferentes enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de doble propósito en Oaxaca, México, entre ellas leptospirosis, bajo un esquema diagnóstico de seis serovariedades a 2691 animales, procedentes de 127 unidades de producción, reportaron una prevalencia general del 64.3%, la serovariedad más prevalente fue *Hardjo* (Inifap H-89) con 49.09% seguido de *Icterohaemorrhagiae* con 34.89%. Los resultados de estos autores difieren con el presente estudio, en donde se analizaron 590 sueros sanguíneos provenientes de bovinos de traspatio de cinco municipios de la zona Centro de Chiapas, repartidos en 38 unidades de producción, utilizando las seis serovariedades más comunes de *Leptospira* spp., en México y en donde se obtuvo una prevalencia de 27.72% la cual es menor a lo mencionado en las investigaciones anteriores, no obstante, podemos observar que hay un marcado margen de diferencia en el número de unidades de producción y de animales muestreados. Se encontraron anticuerpos a las seis serovariedades analizadas, si bien se esperaba encontrar mayor seropositividad a *Hardjo* debido a que los bovinos se comportan como hospedadores de mantenimiento de esta serovariedad (Ellis, 2015), *Canicola* (*Portland vere*) fue la que se presentó en la mayoría de los animales muestreados con un 22.89%, seguida de *Bratislava* con el 5.51%. Por otra parte, en un estudio realizado por Sánchez *et al.*, (2021) en Tecpatán, Chiapas, determinaron la seroprevalencia de anticuerpos de tres enfermedades reproductivas entre ellas leptospirosis, reportando una prevalencia general de 29% de 76 sueros bovinos analizados, estos datos concuerdan con los encontrados en la presente investigación.

La serovariedad con mayor prevalencia encontrada en la presente investigación fue *Canicola*, estos resultados concuerdan con lo reportado por Luna *et al.*, (2019), a través de un estudio realizado en 81 hatos del sur de Ecuador, con el fin de conocer los factores de riesgo y signos clínicos de *Leptospira* spp., usando 18 serovariedades para su diagnóstico con la MAT y encontrando esta misma serovariedad como la más prevalente en esa región con el 15.17% de 389 muestras analizadas. Por otra parte, es importante mencionar que el porcentaje de seroprevalencia de *Canicola* encontrado es relevante dado a que el 79% de las unidades de producción de la zona de estudio, se caracterizó por la presencia de perros.

Los perros son los huéspedes de mantenimiento de este serovar, sobre todo en áreas de pastoreo, el contacto de animales sanos con la orina de los perros portadores, son

una importante vía de diseminación de la enfermedad, debido al típico comportamiento de olfateo facilita la transmisión entre perros y otras especies de manera importante. En estudios realizados en Latinoamérica se ha reportado hasta el 90% de seroprevalencia en caninos en los cuales prevalecen mayormente las serovariedades *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae* (Ellis, 2015 ; Gualtieri *et al.*, 2012).

Respecto a los resultados de la seroprevalencia de *Leptospira* spp., por municipio, los valores más altos se presentaron en Cintalapa y Ocozocoautla, aunque no existen reportes previos en la zona centro de Chiapas, estos dos municipios concentran el mayor flujo de bovinos que oscila entre 67,641 a 153,934 cabezas, así como la mayor producción de leche, entre 5,486.3 a 20,155.85 litros (SIAP, 2020) comparado con los otros municipios de la región centro, como consecuencia existe una mayor frecuencia de importación de ganado y programas de mejoramiento genético, lo que sugiere una mayor presencia de patógenos en esta zona como *Leptospira* spp.

Los resultados obtenidos a la seroprevalencia por sexo, encontramos mayor número de hembras positivas con el 28.18% sobre los machos, donde la prevalencia fue de 17.33%. La baja prevalencia en machos se atribuye a que el número muestreado de estos animales fue menor (25/590) que el de las hembras (565/590) debido a los criterios de inclusión que se establecieron en la investigación, en donde se tomaron en cuenta únicamente a los sementales de cada hato. A pesar de que en los hatos muestreados se maneja una monta continua, el número de machos muestreados no permite un análisis estadístico correcto, sin embargo, estos datos coinciden con Montero (2021) en un estudio realizado en Tantoyuca, Veracruz, el cual reporta que la seroprevalencia en hembras fue mayor con respecto a los machos (42.4% y 17.1%, respectivamente), de igual manera, menciona que los resultados estuvieron influenciados por el número de machos muestreados por debajo del número de hembras.

Otro análisis que se realizó fue el de prevalencia de cruzas y razas puras, generalmente en los hatos del trópico húmedo dependen principalmente del semental que comúnmente es de raza pura, debido a los programas de mejoramiento genético a los que tienen acceso los productores, los resultados de este estudio indicaron mayor prevalencia en razas puras sobre las cruzas bovinas, con un 30.05% y 27.08% respectivamente. Estos datos coinciden con Cruz (2013), que, en un estudio realizado en el Estado de Veracruz, reportó una prevalencia mayor en razas puras de 5.7% comparado con cruzas de 4.4%, se puede observar que las cruzas tuvieron una prevalencia ligeramente más baja que las razas puras, esto podría atribuirse a la rusticidad que adquiere el ganado al realizar cruzas con las razas cebuinas. La modificación genética para el mejoramiento de la producción ha tenido como base la craza de razas *Bos Taurus* que son animales de alta producción provenientes de climas templados, con razas *Bos indicus* que tienen mayor resistencia a las

condiciones de clima tropical, generando animales con mayor potencial productivo, reproductivo, resistentes al estrés calórico en el trópico, a la humedad, con mayor resistencia a ciertas enfermedades, rusticidad y longevidad, incrementando así su valor como recurso genético (Córdova *et al.*, 2005; Anzola, 2005).

Michna (1970), menciona que debe sospecharse de una infección crónica por leptospiras en los casos clínicos que cursen con problemas reproductivos. En todo el mundo se han realizado diferentes estudios para determinar la seroprevalencia de *Leptospira* spp., en animales con problemas reproductivos, como el realizado por Betancur *et al.*, (2013) en Montería, Colombia, usando hembras con problemas reproductivos y aparentemente sanas, el autor observó una prevalencia ligeramente más elevada en el primer grupo de animales con el 35% y el 34% en el segundo grupo, lo que concuerda con los resultados obtenidos en la presente investigación, observándose una mayor prevalencia en las hembras que presentaron al menos un problema reproductivo en el último año de 39.43% y 27.97% en hembras aparentemente sanas. No obstante, Gädicke *et al.*, (2016) menciona que los problemas reproductivos pueden estar asociados a otros agentes patógenos que provocan enfermedades reproductivas como brucelosis, diarrea viral bovina, rinotraqueitis infecciosa bovina, babesiosis, neosporosis, anaplasmosis y listeriosis. Es importante mencionar que en las UP analizadas en el presente estudio, no se encontraron antecedentes de vacunación contra ninguna de estas enfermedades, los productores manifestaron que tampoco se ha realizado ningún tipo de diagnóstico serológico que confirme la presencia de alguna de ellas en sus hatos, a excepción de brucelosis, para la cual se cuenta con la campaña nacional contra la brucelosis en los animales publicada en el Diario Oficial de la Federación en 1995, que tiene como objetivo su control y erradicación en México, realizándose diversas acciones estratégicas entre ellas, constatar que los hatos se encuentren libres de esta enfermedad (SENASICA, 2021), y hasta el momento de la recolección de información en las UP se encontraban todos los hatos sin la presencia de brucelosis.

Para fines de investigación, los análisis espaciales son de mucha utilidad, para darnos un panorama de cómo se encuentran distribuidas y agrupadas las infecciones, a través de delimitar los factores de riesgos propios de la zona a estudiar y de las áreas que se consideran de alto riesgo, dichos análisis ayudan a generar hipótesis de cómo se comporta la transmisión de enfermedades y así poder llevar a cabo programas de prevención y control (Loobuyck *et al.*, 2009).

En la presentación geográfica de los resultados observamos que *Leptospira* spp., se encuentra distribuida en los municipios con mayor precipitación anual acumulada que fueron Cintalapa (1206.7 mm) y Ocozocoautla (2000.3 mm), también observamos que todos los municipios aledaños tienen precipitaciones similares debido a que pertenecen a la misma zona, si bien es cierto, que no hay estudios anteriores de

distribución espacial en esta región que puedan servir de referencia para comparar los resultados de este estudio, García *et al.* (2013) menciona que uno de los factores más importantes que conduce a la permanencia del agente etiológico en el suelo es la humedad, y que *Leptospira* spp., puede sobrevivir en agua durante mucho tiempo, y más aún si el agua está estancada en la cual permanecen durante aproximadamente tres semanas, esta bacteria es muy sensible a la desecación, es por eso que en los meses lluviosos hay más posibilidades de contagio. Los resultados de las prevalencias relacionadas con la temperatura estuvieron más altos en las unidades de producción de los municipios con mayor temperatura, siendo Cintalapa, Ocozocoautla y Jiquipilas, que se encuentran en los rangos de 27.3 °C a 27.5 °C, pudimos observar que toda la zona tiene un clima óptimo para la supervivencia de la bacteria, Monroy *et al.* (2020) menciona que el microorganismo crece en una temperatura óptima de 25 a 30 °C.

Estos resultados concuerdan con un estudio realizado en China por Zhao y colaboradores (2016), en un estudio de mapeo de riesgo de leptospirosis en humanos con datos ambientales y datos socioeconómicos, en el cual se informó una correlación alta entre la seroprevalencia de leptospirosis y las constantes lluvias e inundaciones en ese país. Las variables con mayor importancia que definieron su distribución geográfica fueron la precipitación anual y la temperatura media anual, estos resultados acentuaron la importancia de los patrones predictivos para la identificación de áreas de riesgo en China y de las variables ambientales y socioeconómicas que incluyen desde grandes zonas urbanas hasta las áreas rurales con un limitado acceso al agua potable, la densidad de población y países con nivel de ingresos bajo y medio, afectando así a las poblaciones más vulnerables. Los resultados del mapeo de distribución espacial de leptospirosis en las seis serovariedades estudiadas, nos permitió observar que la prevalencia de la serovariedad *Canicola* se encuentra relacionada con la temperatura y precipitación pluvial, dado que en los municipios con las condiciones medio ambientales óptimas y que se consideraban factores de riesgo importantes, fue en donde se encontró mayor prevalencia.

Mediante el análisis bivariado, se encontró asociación estadística de *Leptospira* spp. con la edad de los animales, con la raza, con el método de reproducción, con la fuente de abastecimiento de agua y con vectores principalmente los perros, es por ello, que las variables asociadas estadísticamente por una tabla de contingencia 2x2 en esta tesis fueron sometidas a un análisis multivariado de regresión logística paso a paso con la finalidad de evitar variables de confusión. En esta investigación se evidenció que las condiciones climatológicas como las temperaturas de 26.3 °C, 26.8 °C y 27.5 °C, así como la precipitación pluvial de 976.5 mm, 800.6 mm, y 1206.7 mm, presentes en algunos municipios como San Fernando, Suchiapa y Cintalapa, son factores de riesgo para la seropositividad de *Leptospira* spp., estos municipios tienen características muy similares tanto geográficas como climatológicas las cuales son favorables para la reproducción de este agente etiológico. Además, se asocian a la

serovariedad *Canicola* y *Bratislava*. Rodríguez (2000) refiere que el microorganismo sobrevive por meses en lugares húmedos y cálidos en temperaturas aproximadas de 20 a 37 °C. Existen pocos reportes en Chiapas sobre la seroprevalencia de leptospirosis bovina, Sánchez *et al.*, (2021) demostraron mayor frecuencia de *Leptospira* spp., en bovinos de doble propósito en el municipio de Juárez (63.1%) comparado con Tecpatán (21.4%), no obstante, la serovariedad *Bratislava* fue común en ambos municipios. A pesar de que esos resultados fueron de tipo descriptivo y en otros municipios del centro de Chiapas, concuerdan con los de la presente investigación, evidenciando que existen condiciones climatológicas de algunas regiones con características que favorecen a una mayor diseminación del agente etiológico y de ciertas serovariedades en los bovinos. Entre las características que influyen en la prevalencia de la región se puede mencionar a las socio-ambientales, se ha señalado que las regiones tropicales con alta precipitación (Toemjai, 2023) y malas prácticas higiénicas (Taddei *et al.*, 2021), favorecen una mayor prevalencia de *Leptospira* spp. Se ha reportado que la seroprevalencia en zonas rurales se ve favorecida por climas húmedos y el mal manejo de procesos de desinfección en el predio (Zuluaga 2009; Montes *et al.*, 2021).

En el presente trabajo se evidencio como factores de riesgo para *Leptospira* spp., la edad de los bovinos, específicamente 3 y 8 años de manera individual y en el análisis por rangos, se encontró asociación con las mismas edades dentro de los rangos 3 a 4 y de 7 a 8 años. Estos resultados concuerdan con los de Carvajal y sus colaboradores en el 2012, ellos reportaron la mayor prevalencia principalmente en bovinos del noreste Mexicano entre los 80 y 100 meses de edad. En este mismo sentido, se reportó una mayor prevalencia en el grupo de bovinos de 2 y 6 años (Yupiana *et al.*, 2020). Dado a los diversos reportes con distintos rangos de edad asociados a la prevalencia de *Leptospira* spp. (Benseghir *et al.*, 2020; Kiyabo *et al.*, 2023), los autores mencionan que la relación entre *Leptospira* spp., según la edad es compleja y no está bien documentada, sin embargo, se sabe que algunas vaquillas se infectan a temprana edad al ingresar al rebaño de ordeño o por el contacto con otros animales en la granja (Fraga *et al.*, 2011), así mismo, la movilidad de los animales, la adaptación al estrés por la manipulación (Yupiana *et al.*, 2020) e incluso la falta de vacunación (Wilson *et al.*, 2021) incrementa la probabilidad de adquirir la leptospirosis.

Con relación a la raza, en este proyecto se evidenció que la craza suizo americano-Holstein es un factor de riesgo para la presencia de leptospirosis y este hallazgo concuerda con otros reportes. Carvajal y sus colaboradores en el 2012, reportaron una asociación con ganado de la raza suizo americano (95%), seguido de Simbra (75.8%), craza (74.7%), Brangus (71.9%) y Holstein (70.0%), en el noreste de México. Mientras que Baena y Kallmann en el 2016, demostró una relación estadística de *Leptospira* spp., principalmente con las razas Holstein (83.9%) y Normando (17%). Aunque en el trópico existen casos de éxito para conservar la rusticidad del suizo americano y

mantener los picos de producción de leche de Holstein, la evidencia científica apunta a la predisposición de estos fenotipos hacia la leptospirosis, de estas razas o cruza que son usadas con frecuencia en los hatos ganaderos de zonas tropicales, sin embargo, se debe señalar a los posibles ambientes desfavorables para el mantenimiento de este tipo de ejemplares y los distintos factores de riesgo reportados para *Leptospira* spp., en bovinos (Yupiana *et al.*, 2020; Lasim *et al.*, 2021).

En la actualidad, los avances biotecnológicos ofrecen aumentar los niveles de producción de los ganaderos, con el mejoramiento genético a través de la inseminación artificial (IA), aumentando tanto el valor productivo como reproductivo de los bovinos, lo que favorece la rentabilidad de la unidad de producción. El uso de esta tecnología influye directamente en la sanidad animal en el aspecto reproductivo aminorando o suprimiendo de manera definitiva algunas enfermedades de este tipo, a diferencia del uso de la monta natural donde es más común la transmisión de enfermedades reproductivas y en la cual los animales juegan un papel importante como potenciales transmisores, especialmente el toro (Motta *et al.*, 2012). No obstante Lancheros *et al.*, (2022), realizaron un estudio de factores de riesgo y seroprevalencia de agentes infecciosos de interés reproductivo entre ellas *Leptospira* spp., en bovinos en Colombia, donde reportaron como factor de riesgo a la inseminación artificial, lo cual concuerda con los resultados encontrados en la presente investigación, sin embargo, también menciona que la transmisión de agentes patógenos se dan al no haber medidas preventivas de manera preliminar a la IA, por lo cual se debe tener en cuenta disminuir este riesgo durante su proceso, además de desarrollar protocolos para la bioseguridad y un estricto control de calidad es indispensable evitar la contaminación en el transcurso del desarrollo de la técnica para evitar la transmisión de enfermedades. Marizancén y Artunduaga (2017), mencionan que además de lo antes descrito, las prácticas de mejoramiento genético como la IA también están relacionadas directamente con el estado de sanitario de la hembra, hecho que, puede significar el éxito o fracaso a la hora de la concepción posterior a la IA.

Un jaguey es una zanja o pozo que retiene el agua de lluvia o de manantiales que sirve para el riego y para que el ganado se hidrate, son útiles y comunes en predios ganaderos del trópico húmedo en el que las lluvias son comunes en verano. No obstante, en la presente tesis se evidenció su papel como factor de riesgo para *Leptospira* spp., esta evidencia es consistente con otros reportes que asocian al agua superficial como fuente de agua potable como factor de riesgo (Ismail *et al.*, 2019; Zamir *et al.*, 2022; Mazzanti *et al.*, 2023). La influencia de los depósitos de agua natural o jaguey, así como los pozos, como posible fuente de contagio puede explicarse basado en que *Leptospira* spp., se ve favorecida metabólicamente en ambientes con alta humedad, el jaguey representa una fuente de agua colectiva en el que animales domésticos y silvestres comparten abrevadero, pero pueden contaminarse fácilmente con el microorganismo, por la orina de animales infectados (Cilia *et al.*, 2020; Azócar,

2023), se ha reportado que esta bacteria puede sobrevivir hasta por 3 semanas en suelos inundados por agua de lluvia (Lasim *et al.*, 2021) y aumentar la probabilidad de diseminación del agente etiológico mediante pequeñas heridas en la piel o de las membranas mucosas de los ojos, la nariz y la boca de nuevos huéspedes (Yupiana *et al.*, 2020). Sin embargo, no se debe descartar la contaminación del agua de los mantos freáticos por el manejo del agua en los corrales, por lo que sería interesante realizar estudios posteriores tomando en cuenta el tipo de bebedero, así como la higiene de estos.

Cabe destacar que aunque los resultados del análisis de regresión logística no considera un factor de riesgo la presencia de perros en las unidades de producción, sí estuvo asociada estadísticamente con los casos positivos de *Leptospira* spp., en los bovinos, este hallazgo concuerda con diversos estudios publicados (Cilia *et al.*, 2020; Sohm *et al.*, 2023), sin embargo, no está claro si los caninos son los responsables de la diseminación de *Leptospira* spp., a los bovinos, por lo que se requieren más estudios sobre este tema a futuro.

VI. CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos se concluye que la leptospirosis está presente en los sistemas bovinos de traspatio de la zona centro de Chiapas, donde se demostró que en ellas, circulan seis serovariedades de *Leptospira* spp., siendo la más frecuente la serovariedad *Canicola* (*Portland vere*), que se presentó con mayor frecuencia en los municipios estudiados, distribuidos principalmente en Cintalapa y Ocozocoautla con temperatura ambiental que van desde 26.3 y 27.5°C y precipitación pluvial en el rango de 800.6 y 1206.7 mm, y que de acuerdo a los análisis estadísticos son los principales factores de riesgo, sin embargo, las condiciones climatológicas son muy similares en los cinco municipios muestreados, lo que nos indica que las características medioambientales de la zona centro de Chiapas, son idóneas para la supervivencia de la bacteria influyendo a favor de la diseminación de la enfermedad, generando pérdidas económicas a los productores de la región.

Se demostró la asociación estadística de *Leptospira* spp., en los bovinos con la presencia de perros en las unidades de producción, por lo que se hace evidente la importancia de la presencia de otras especies en la epidemiología de leptospirosis. Independientemente que no se demostró como un factor de riesgo, es importante monitorear el comportamiento esta especie con *Leptospira* spp., en estudios posteriores.

En el presente estudio se evidencio a la inseminación artificial como un factor de riesgo, sin embargo, estos resultados sugieren una deficiencia en las buenas prácticas de manejo en las unidades de producción, tanto del material genético, así como del instrumental en el momento de la práctica, también es importante realizar una preparación tanto sanitaria como reproductiva de las hembras previo al programa de IA, para garantizar una buena tasa de preñez y de nacimientos.

Otro factor de riesgo importante, fueron los rangos de edades entre tres y cuatro años, así como los de siete y ocho años, los cuales están asociados con *Leptospira* spp., y con la serovariedad *Canicola*.

La aportación principal de esta investigación fue reportar las serovariedades de *Leptospira* spp., presentes en la zona centro de Chiapas, así como brindar información actualizada sobre algunos de los factores considerados de riesgo y que contribuyen a la diseminación de la enfermedad en la región, lo que permitirá fortalecer la vigilancia epidemiológica, a través de estrategias de control y prevención de leptospirosis más específicas y adaptadas a las condiciones de cría y producción del ganado bovino en Chiapas.

Recomendaciones:

Realizar estudios en la región para elucidar el rol de los animales de compañía, particularmente de los perros en la transmisión de *Leptospira* spp., a los bovinos.

Establecer un programa de control de roedores.

Evitar el préstamo o intercambio de sementales.

Exhortar a los productores a realizar registros reproductivos, para identificar a los animales con cualquier signo característico de leptospirosis y que pudieran ser portadores de la enfermedad.

Ampliar el panel de serovariedades en el análisis de seroprevalencia con la MAT en posteriores investigaciones, así como,

Diseñar y establecer un calendario de vacunación contra *Leptospira* spp., que contengan las serovariedades encontradas en la zona, para aplicarlas antes de las épocas de mayor riesgo.

VII. LITERATURA CITADA

- Adler, B. y A. de la Peña Moctezuma. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), 287-296.
- Aguilar Barojas, S. 2005. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en tabasco*, 11(1-2):333-338.
- Andicoberry, C.A., F.J. García Peña Y L.M. Ortega Mora. 2001. Epidemiología, Diagnóstico y Control de la Leptospirosis bovina. *Prod. sanidad animal* 16(2):206-222.
- Anzola Vásquez, H.J. 2005. Conservación y utilización de las razas bovinas criollas y colombianas para el desarrollo rural sostenible. *Archivos de Zootecnia. Bioseguridad y Recursos Genéticos Pecuarios. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, Colombia.* 54(206):141-144.
- Ariza Suarez, A.C. y C.A. Berdugo Parra. 2017. Actualización de la leptospirosis bovina en Colombia. *Conexión Agropecuaria JDC.* 7(1):57-77.
- Azócar Aedo, L. 2023. Basic Aspects and Epidemiological Studies on Leptospirosis Carried Out in Animals in Chile: A Bibliographic Review. *Tropical Medicine Infectious Disease.* 8(2):97. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8020097>
- Baena Pacheco, A. y M. Kallmann Santacruz. 2016. Factores asociados con seropositividad de leptospirosis en sistemas de producción bovina. Antioquia, Boyacá y Nariño. Tesis doctoral. Universidad del Rosario, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud. Pp. 45-65
- Bajani, M. D., D.A Ashford, S.L. Bragg, C.W. Woods, T. Aye, R.A. Spiegel and R.S. Weyant. 2003. Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *Journal of clinical microbiology*, 41(2):803-809.
- Barter, R.L. and B. Yu. 2018. Superheat: An R package for creating beautiful and extendable heatmaps for visualizing complex data. *Journal of Computational and Graphical Statistics.* 27(4):1-30.
- Bautista T., B.R., D.M. Bulla C., H.A. López B., A.M. Díaz A. y M.O. Pulido M. 2019. Leptospirosis: enfermedad de importancia en salud pública. *Revista colombiana de ciencia animal.* recia, 11(2), 108-118.
- Benseghir, H., A. Amara Korba, N. Azzag, D. Hezil y F. Ghalmi. 2020. Seroprevalence of and associated risk factors for *Leptospira interrogans* serovar *Hardjo* infection of cattle in Setif, Algeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 21(3):185-191.
- Betancur Hurtado, C., A. Orrego Uribe y M. González Tous. 2013. Seroepidemiología de la leptospirosis en bovinos con trastornos reproductivos en el municipio de Montería, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria.* (26): 47-55. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542013000200005&lng=en&tlng=es.

- Briehuega, B. F. 2008. Leptospirosis: Diagnostico y Tipificación. Temas de zoonosis IV. Asociación argentina de Zoonosis, Buenos Aires Argentina. Pp. 221-227.
- Burgos Macias, D. I., M. Pérez Ruano, C.A. Bulnes Goicochea, M.D. Zambrano Aguayo, H.P. Sandoval Valencia, M.A. Falconi Flores, L. Vera Loo, A.P. Revelo Ruales and O. Fonseca Rodríguez. 2019. Determination of the seroprevalence of *Leptospira* spp. and the main serovars circulating in cattle in the province of Manabí, Ecuador. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*. 38(3):1-17.
- Campos, Â.P., D.F. Higino Miranda, Rodrigues, H.W. Soares Rodrigues, M. da Silva Carneiro Lustosa, G.H. Chaves Martins, A.L. Bezerra Barradas Mineiro, V. Castro, S. Santos Azevedo and S.M. Medeiros de Sousa Silva. 2017. Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in cattle, sheep, and goats at consorted rearing from the State of Piauí, northeastern Brazil. *Tropical animal health and production*. 49: 899-907.
- Carmona Gasca, C.A., L. León Lara, L.O. Castillo Sánchez, J.M. Ramírez Ortega, A. Ko , C. Luna y A. de la Peña Moctezuma. 2011. Detección de *Leptospira santarosai* y *L. kirschneri* en bovinos: nuevos aislados con potencial impacto en producción bovina y salud pública. *Vet Mex*. 42(4):277-288.
- Carvajal de la Fuente V., C. Zapata Campos, J. Loredó Osti, R. López Zavala, J.O. Jasso-Obregón and E. Martínez Bautista. 2012. Seroprevalence and Risk Factors associated with Leptospirosis (*L. interrogans*) in Bovine Cattle in Northeastern México. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 42(1):7-12.
- CENID-SAI-INIFAP. 2021. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
- Chavarría, J.L., G.D. Lara, H.W. Méndez y J. Moscoso Gama. 2015. *Leptospira*: Revisión del agente causal de una enfermedad zoonótica. *Biociencias*. 10(2):65-80.
- Chávez Sánchez, J.F. 2019. Seroepidemiología y factores de riesgo de *Leptospira* spp., *Lentivirus* en hatos ovinos y caprinos del Noreste de México. Tesis de maestría. Universidad autónoma de Nuevo León. Pp.5-10.
- Cilia G., F. Bertelloni y F. Fratini. 2020. *Leptospira* Infections in Domestic and Wild Animals. *Edit. Pathogens*. 9(7):573. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32679834/>
- CONAGUA. 2021. Comisión Nacional del Agua. <https://smn.conagua.gob.mx>.
- CONAPO. Consejo nacional de población. 2000-2008. Anuarios de morbilidad. Proyecciones población CONAPO, México. <http://www.dgepi.salud.gob.mx>.
- Córdova Izquierdo, A., J. Saltijeral Oaxaca, G. Rodríguez Ariza, M.S. Córdova Jiménez, C.A. Córdova Jiménez, J.F. Pérez Gutiérrez y J.E. Guerra Liera. 2005. Comportamiento reproductivo de razas bovinas de carne europeas en condiciones de trópico húmedo mexicano. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*. 6(11):1-5.

- Cruz Romero, A. 2013. Distribución espacial y factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en Veracruz, México. Tesis de Doctorado en Ciencias, especialista en Agroecosistemas Tropicales. Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz. Pp. 50-55.
- Cullen, P.A., D.A. Haake y B. Adler. 2004. Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes. *FEMS microbiology reviews*, 28(3), 291-318.
- Ellis, W.A. 1983. Recent developments in bovine leptospirosis. *Vet. Annu.* 23:91-95
- Ellis, W.A. 1996. Leptospirosis. O.I.E. Manual: Amedment. Pp.1-8.
- Ellis, W.A. 2015. Animal Leptospirosis. In: Adler, B. *Leptospira* and Leptospirosis. Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer, Berlin, Heidelberg. 387:99-137.
- Evangelista, K. V. and J. Coburn. 2010. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future microbiology*. 5(9):1413-1425
- Fagerland, M. W. and D.W. Hosmer. 2012. A generalized Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test for multinomial logistic regression models. *The Stata Journal*. 12(3):447-453.
- Fraga T.R., A.S. Barbosa and L. Isaac. 2011. Leptospirosis: Aspects of innate immunity, immunopathogenesis and immune evasion from the complement system. *Scandinavian journal of immunology*. Brasil. 73(5):408-419.
- Gädicke, P., T. Junod, J. López-Martin, R. Ortega y G. Monti. 2016. Enfermedades abortigénicas en lecherías de la Provincia de Nuble: prevalencia y análisis espacial. *Archivos de medicina veterinaria*. Chile. 48(1):18-26.
- García González, R., A. Reyes Torres, D. Basilio Hernández, M. Ramírez Pérez y B. Rivas Sánchez. 2013. Leptospirosis; un problema de salud pública. *Revista Latinoamericana Patología Clínica y Medicina de laboratorio*. 60(1): 57-70.
- García Peña, F.J. 2002. Tratamiento y control de la leptospirosis bovina. *España*. (106):77-95.
- Gaytán Camarillo F. 2018. Seroprevalencia, distribución geográfica y co-exposición de serovariedades de *Leptospira* spp. en rebaños caprinos pertenecientes a grupos ganaderos de validación y transferencia de tecnología del Estado de Guanajuato. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. Cdmx. Pp.19-42.
- González Gontafalla, F. y S. Rivera Pirela. 2015. Caracterización de la Leptospirosis Bovina en Venezuela. *Revisión Breve sobre la enfermedad*, *Redvet*. España. 16(2):1-17.
- Gualtieri, C. A. S., C. Carlín, C. Peirone, V. Gattarello, L. Marc, H. Molteni y S. François. 2012. Evaluación clínica, bioquímica y hematológica de caninos seropositivos a distintos serovares de *Leptospira interrogans*. *InVet*. 14(2):131-139.

- Gutiérrez Hernández, J.L., G. Palomares Reséndiz, E. Hernández Badillo, J. Leyva Corona y E. Herrera López. 2020. Frecuencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de doble propósito ubicados en Oaxaca, México. *Abanico Vet.* 10(1):1-11
- INIFAP. 2021. Manual de laboratorio de leptospirosis. CENID microbiología animal. Departamento de leptospirosis bovina. P. 22.
- Ismail, Z.B., S.M. Abutarbush, , A. Al-Majalil, M.H. Gharaibeh and B. Alkhateeb. 2019. Seroprevalence and risk factors of *Leptospira* serovar Pomona and *Leptospira* serovar *Hardjo* infection in dairy cows in Jordan. *The Journal of infection in developing countries.* 13(6):473-479.
- Kiyabo Motto S., L.E. Hernández Castro, G. Mkilema Shirima, I.J. Mengele, S. Festo Bwatota, B.M.C. Bronsvort, E. Titus Lyatuu, D. Mushumbusi Komwihangilo and E. A. J. Cook. 2023. Seroepidemiology of *Leptospira* serovar *Hardjo* and associated risk factors in smallholder dairy cattle in Tanzania. *Plos Neglected Tropical Diseases.* 17(4):1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011199>
- Lancheros Buitrago, D.J., D.M. Bulla Castañeda, M.O. Pulido Medellín, H. A. López Buitrago, A.M. Díaz-Anaya and D.J. García-Corredor. 2022. Serodiagnosis and Risk Factors Associated with Infectious Agents of Reproductive Diseases in Bovines of Chiquinquirá, District of Boyacá (Colombia). *Veterinary Medicine International.* Pp. 1-7. <https://doi.org/10.1155/2022/7436651>
- Lasim, M.D.A., F.S. Mohd Taib, M. Abdul Halim, A.M. MohdNgesom, S. Nathan y S. Md Nor. 2021. Leptospirosis and coinfection: ¿should we Be concerned? *International journal of environmental research and public health.* 18(17):1-16.
- Loobuyck, M., J. Frössling, A. Lindberg and C. Björkman. 2009. Seroprevalence and spatial distribution of *Neospora caninum* in a population of beef cattle. *Preventive veterinary medicine.* 92(1-2):116–122. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.07.006>
- López Cuenca, S. y J.A. Álvarez Fernández. 2015. Leptospirosis: diagnóstico diferencial de fiebre en urgencias. *SEMERGEN, Soc. Esp. Med. Rural Gen.(Ed. impr.).* 41(5):34-35.
- Luna Álvarez, M.A., L.P. Moles y Cervantes, D. Gavaldón Rosas, C. Nava Vásquez y F. Salazar García. 2005. Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México considerando las regiones ecológicas. *Revista Cubana de Medicina Tropical.* 57(1):28-31.
- Luna Herrera J., R. Chávez Valdivieso y F. Román. 2019. Factores de riesgo asociados a la leptospirosis bovina en el sur del Ecuador. *CEDAMAZ.* 9(2):100-105.
- Marizancen Silva, M.A. y L.A. Pimentel. 2017. Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo. *RIAA.* 8(2): 247-259.
- Masmela Castillo, R.A y A.C. Gutiérrez Nieto. 2022. . Leptospirosis bovina enfocado en el potencial zoonótico, alternativas de control y tratamiento. Seminario de

- profundización sobre enfermedades infecciosas en Medicina veterinaria y zootecnia Ibagué. Universidad cooperativa de Colombia sede Ibagué-espinal. Pp 1-18
- Mazzanti, M., E. Scialfa, M. Rivero and J. Passucci. 2023. Epidemiology of *Leptospira* spp. infection in a beef cattle área of Argentina. *Frontiers in Veterinary Science*. 10: 1-11.
- Michna, S. W. y R.S.F. Campbell. 1970. Leptospirosis in wild animals. *Journal of Comparative Pathology*. 80(1):101-106.
- Monroy Diaz, A. L., A. Vargas Arias, G.D. Filippo Iriarte y J.J. Quimbaya Ramírez. 2020. Leptospirosis en reservorios animales: Una Revisión de Tema. *Revista Lasallista de Investigación*. 17(2): 266-279.
- Montero Gómez, F. 2021. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a bovinos con anticuerpos anti-*leptospira* spp .en Tantoyuca, Veracruz. Tesis de maestría en producción pecuaria tropical. Instituto Tecnológico superior de Tantoyuca. Pp. 22-32.
- Montes, V. and G. Monti. 2021. Pathogenic *Leptospira* spp. Seroprevalence and Herd-Level Risk Factors Associated with Chilean Dairy Cattle. *Animals*. (11):1-14.
- Motta, J. L., I. Waltero, M.A. Abeledo y O. Fernández. 2012. Estudio retrospectivo de agentes infecciosos que afectan la reproducción bovina en el departamento del Caquetá, Colombia. *Revista Salud Animal*. 34 (3): 159-164.
- OMSA. 2021. Códigos y Manuales. Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/>. Consultado el 1 de agosto de 2021.
- Orantes Zebadúa, M.A., M.C. De los Santos Lara y L. López Sandoval. 2023. Los comercializadores de ganado bovino en Copainalá y Tecpatán, Chiapas, México. *In Memoria Científica del XXXV Congreso Internacional en Administración de Empresas Agropecuarias: La Producción agropecuaria en el desarrollo económico y social*. Primera edición.
- Pacheco Sánchez, G. 2015. Una visión general de la leptospirosis. *Journal of agriculture and animal sciences*. Brasil. 4(1):46-63.
- Pérez Elias, Y., A.M. Obregón Fuentes, I.C. Rodríguez Reyes y M.J. Alfonso González. 2015. Actualización en el diagnóstico de la leptospirosis humana. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 44(4):416-427.
- Picardeau, M. 2013. Diagnosis and epidemiology of leptospirose. *Med Mal Infect*. 43(1):1-9
- R studio Team. 2015. RStudio: integrated development for R. RStudio, Inc., Boston, MA <http://www.rstudio.com>.
- Reiczigel, J., J. Foldi and L. Ozsvari. 2010. Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test. *Epidemiol Infect*. 138(11):1674-1678.

- Ristow, P., P. Bourhy, F.W. da Cruz McBride, C. Pereira Figueira, M. Huerre, P. Ave, I. Saint Giron, A.I. Ko y M. Picardeau. 2007. The OmpA-like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence. *PLoS pathogens*. 3(7):894-903.
- Rodríguez Martínez, G. 2000. Estado actual de la Leptospirosis. *Revista MVZ-CORDOBA* 5(1):61-63.
- Rogan, W. J. and B. Gladen. 1978. Estimating prevalence from the results of a screening test. *American Journal of Epidemiology*. 107(1):71-76.
- Rojas Martínez, C., E. Loza Rubio, S.D. Rodríguez Camarillo, J.V. Figueroa Millán, F. Aguilar Romero, R.E. Lagunes Quintanilla y J.A. Álvarez Martínez. 2021. Antecedentes y perspectivas de algunas enfermedades prioritarias que afectan a la ganadería bovina en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 12(3):111-148.
- Romero Becerra, L. R y L.C. Veloza. 2014. Leptospirosis bovina como causa de enfermedad reproductiva. *Revista Sistemas de Producción Agroecológicos*. 5 (2):97-125.
- Rosete Fernández, J. V., A. Ríos Utrera, J.P. Zárate Martínez, G.A. Socci Escatell, A. Fragoso Islas , F.T. Barradas Piña y L. Granados Zurita. 2021. Prevalencia de diversos serovares de *Leptospira interrogans* en vacas no vacunadas en los estados de Puebla, Tabasco y Veracruz, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 12(4):1305-1316.
- Saldaña Campos, J., D.F. Escobar García, O.M. Pinillos y L. Hernández Montealegre. 2018. Una Revisión de la Literatura Leptospirosis. *Revista Navarra Medica*. 4(2):22-34.
- Sánchez Muñoz, J. B., M. L. Jiménez Jiménez, J.L. Gutiérrez Hernández, J.L. Cruz López y J. Nahet Toral. 2021. Seroprevalencia de enfermedades abortivas que comprometen la eficiencia reproductiva de los bovinos en dos zonas lecheras de Chiapas. *Espacio I+D, Innovación más Desarrollo*. 10(27):75-80. <https://doi.org/10.31644/IMASD.27.2021.a04>
- Scott, L. M., and M.V. Janikas. 2009. Spatial statistics in ArcGIS. In *Handbook of applied spatial analysis: Software tools, methods and applications*. pp. 27-41.
- SECAM. 2008. Secretaría del Campo. Gobierno de Chiapas. <http://www.secretariadelcampo.gob.mx/>.
- SENASICA. 2021. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. [Brucelosis en animales | Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](https://www.gob.mx/brucelosis)
- SIAP. 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Sistema de datos abiertos. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>.

- Sohm, C., J. Steiner, J. Jöbstl, T. Wittek, C. Firth, R. Steinparzer, y A. Desvars Larrive. 2023. A systematic review on leptospirosis in cattle: a European perspective. Unit of Veterinary Public Health. University of Veterinary Medicine Vienna. Austria. Pp. 1-54.
- Stevenson, M. 2022. Epir: An R Package for the Analysis of Epidemiological Data. <https://cran.r-project.org/web/packages/epiR/epiR.pdf>.
- Taddei, S., G. Moreno, C.S. Cabassi, E. Schiano, C. Spadini y S. Cavirani. 2021. *Leptospira* Seroprevalence in Colombian Dairy Herds. *Animals*. 11(3):785. <https://doi.org/10.3390/ani11030785>
- Toemjai, T. 2023. Risk Factors Associated with Leptospirosis in Si Sa Ket Province, Thailand. *International Journal of Tropical Disease and Health*. 44(4):13-23. <https://doi.org/10.9734/ijtdh/2023/v44i41401>
- Torres Castro, M., S. Hernández Betancourt, P. Agudelo Florez, E. Arroyave Sierra, J. Zavala Castro y F.I. Puerto. 2016. Revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 54(5):620-625.
- Wilson Welder J.H., D.P. Alt, J.E. Nally y S.C. Olsen. 2021. Bovine immune response to vaccination and infection with *Leptospira borgpetersenii* serovar *Hardjo*. *mSphere*. Agriculture Research Service, USDA, Ames, Iowa, USA. 6(2):1-14. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mSphere.00988-20>
- Yupiana, Y., E. Vallée, P. Wilson, J.F. Weston, J. Benschop, E.J. Collins and C. Heuer. 2020. On-farm risk factors associated with *Leptospira Shedding* in New Zealand dairy cattle. *Epidemiology and infection*. 148:1-7.
- Zamir, L., M. Baum, S. Bardenstein, S. E. Blum, J. Moran Gilad, M. P. Markovich and E. Elnekave. 2022. The association between natural drinking water sources and the emergence of zoonotic leptospirosis among grazing beef cattle herds during a human outbreak. *One Health*. The Hebrew University of Jerusalem, Israel. 14: 1-6.
- Zarate Martínez, J.P., J.V. Rosete Fernández, A. Ríos Utrera, B. Piña, F. Tobías y S. Olazarán Jenkins. 2015. Prevalencia de Leptospirosis y su relación con la tasa de gestación en bovinos de la zona centro del Veracruz. *Revista Nova Scientia*. 7(14): 202-2017.
- Zhao, J., J. Liao, X. Huang, W. Yeping, R. Jinghuan, W. Xiaoye y D. Fan. 2016. Mapping risk of leptospirosis in China using environmental and socioeconomic data. *BMC Infectious Diseases*. 343(16):1-10. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1653-5>
- Zuluaga León, A. G. 2009. Factores de riesgo asociados a leptospirosis en hatos bovinos de Pereira 2002-2005. *Investigaciones Andina*. Colombia. 11(19):108-116.

VII. ANEXOS

Anexo 1. ENCUESTA (Productor individual).

MVZ. LILIANA DEL ROSARIO VELAZQUEZ NORIEGA

| | | |
|----------------------|--|--------------|
| NOMBRE DEL PRODUCTOR | | FECHA: |
| EDAD | | SEXO: |
| NOMBRE DE LA UP | | |
| MUNICIPIO | | COORDENADAS: |

Inventario ganadero

| Beceros | Vaquillas | V. adultas | Toretos | Sementales | Total |
|---------|-----------|------------|---------|------------|-------|
| | | | | | |

1. ¿Cuántos potreros tiene la UP? _____
2. ¿Cuál es su sistema de producción bovina? a) Leche b) Carne c) Doble propósito
3. ¿Cuál es la fuente de abastecimiento de agua? A)pozo b)arroyo c)jaguey d)otros
4. ¿Cuenta con corral de manejo? a) SI b) NO
5. ¿De qué razas bovinas se compone su hato? A) Cruza b) Razas puras
6. ¿Lleva registro reproductivo por animal? a)Si b) No
7. ¿Método de reproducción del hato? A)Monta directa b) I.A c)Ambas
8. ¿Realiza diagnóstico de gestación por palpación rectal? a)Si b)No
9. ¿Cuántas vacas se preñan al año? _____ ¿Cuántos becerros nacen al año? _____
10. ¿Acostumbra a prestar o compartir su semental? A) SI b) NO
11. ¿Tiene perros en la UP? a) SI b) NO
12. ¿Tienen acceso a los comederos? a) SI b) NO
13. ¿Es común ver ratones o ratas en los comederos o donde se guarda el alimento? a) SI b) NO
14. ¿Aplica vacuna contra Leptospirosis? a) SI b) NO ¿De qué laboratorio? _____
15. ¿Aplica vitaminas y minerales? A)SI b) NO
16. ¿A que animales aplica? a) Todos b) becerros c) vacas d) sementales
17. Sus animales son de: a) Pastoreo b) estabulado c) semiestabulado
18. ¿Su ganado tiene acceso a potreros comunales donde se mezcle con otro ganado? A) SI b) NO
19. ¿Ofrece sal mineral a sus animales? a) SI b) NO
20. ¿ Cuenta con asesoría técnica? A) SI b) NO
21. ¿Cuál de los siguientes problemas reproductivos se han presentado en su UP?
a) Abortos b) Retención placentaria c) Repetición de celos d) Crías débiles e) Mortinatos
f) Hemoglobinuria g) Infertilidad (Sementales) h) Otros

Observaciones _____

Anexo 2. Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT)

Objetivo: Evaluar la presencia de anticuerpos para leptospirosis.

Material:

- Tubos de ensayo
- Gradillas
- canaletas
- Microplacas serológicas
- Solución de alcohol al 70%
- Cepario de diagnóstico
- Pipetas serológicas de una punta
- Mecheros
- Puntas serológicas
- Pipetas multicanal
- Microscopio de Campo oscuro
- Campana de flujo laminar

Ver **figura A1**

Diluciones:

En animales de producción se requiere una dilución de 1:50

1. Se tomo una pipeta con 1200 microlitros (μl) de PBS (Solución Amortiguadora de Fosfatos) y se depositó en un tubo de ensayo previamente identificado con el número de muestra.

2. Del suero a analizar se tomó 50 μl y se agregó al tubo de ensayo que se preparó con PBS.

Obteniendo así una dilución inicial de 1:25, que se transformó posteriormente en la microplaca serológica en 1:50. La placa serológica se identifica con el número de cada muestra, las 6 serovariedades y los títulos a partir del 1:50 hasta 1:800.

3. Una vez que se obtuvo la solución inicial, se procedió a colocar en la microplaca serológica 50 μl de PBS a partir del segundo pocillo dejando el primer pozo vacío con la pipeta multicanal. También se colocó PBS en los pozos de control.

4. Cuando la microplaca estuvo con los pozos llenos de PBS se colocó 50 μl de la dilución en el tubo de ensayo en el primer y segundo pozo donde se realizó una homogenización y se llevó 50 μl de esa dilución al siguiente pozo donde se repitió el mismo paso y así sucesivamente hasta llegar al último pozo, donde los últimos 50 μl se desecharon quedando así 50 μl de la dilución de suero problema con PBS en cada pocillo.

5. Posterior a esto se encendieron dos mecheros con un radio de cobertura de 15 a 20 cm entre ellos y se limpió el área con alcohol al 70%.

6. Ya con el área preparada se llevó la microplaca y el cepario diagnóstico.

7. Se colocó la cantidad necesaria de la cepa a evaluar en una canaleta.
8. Con una pipeta multicanal se colocaron 50 μ l de la cepa a cada una de las líneas de las diferentes diluciones de una sola serovariedad incluyendo el pozo control, este paso se repitió con las demás cepas restantes, cuidando que se cambiaran de puntas cada vez que se tomaba una cepa diferente.
9. una vez lista la placa serológica se tapó y se metió a incubación durante una hora a cámara húmeda.
10. Posterior a la incubación se procedió a hacer lectura en el microscopio de campo oscuro. (INIFAP, 2021)

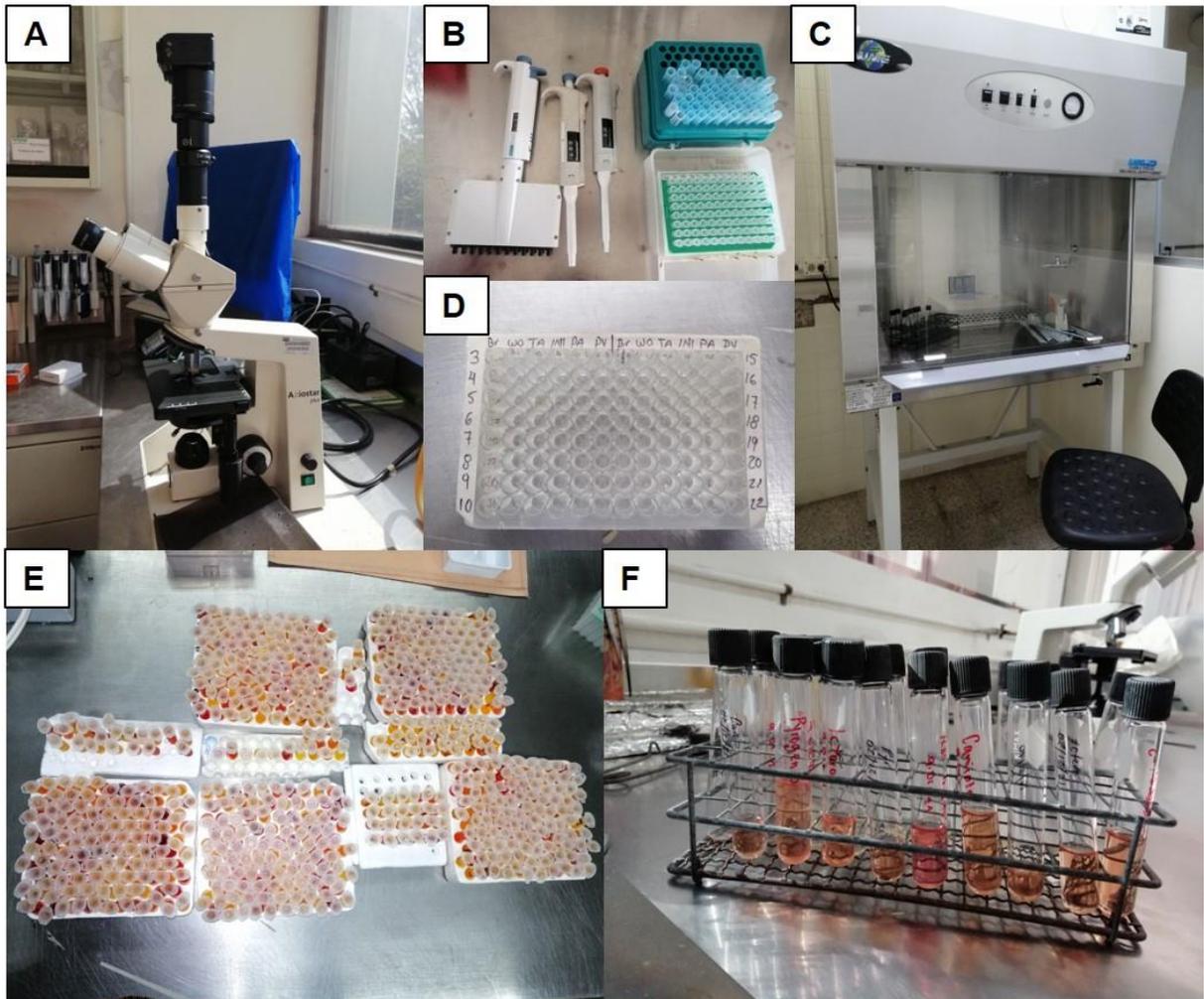


Figura A1. Material para el diagnóstico con la Técnica de aglutinación microscópica: A) Microscopio de campo oscuro, B) Micropipetas y puntas serológicas, C) Campana de flujo laminar con luz UV, D) Microplaca serológica, E) Sueros sanguíneos, F) Cepario de diagnóstico.

Lectura de la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT)

Objetivo: Registrar el grado de aglutinación de cada antígeno en relación con el antígeno control según la escala.

Procedimiento:

Para la interpretación de MAT, se observaron las aglutinaciones en el microscopio de campo oscuro (10X) (**Figura A2**), empleando una escala arbitraria en la que se le asigno un puntaje dependiendo del grado de aglutinación o desaparición de células, así como se valoró el porcentaje de leptospiras libres (**Cuadro A1**).

Cuadro A1. Escala para la lectura de la Técnica MAT

| | | |
|---|-------------------------------------|----------------------------|
| 0 | Negativo o control sin aglutinación | 100% de Leptospiras libres |
| 1 | 25% de aglutinación | 75% de Leptospiras libres |
| 2 | 50% de aglutinación | 50% de Leptospiras libres |
| 3 | 75% de aglutinación | 25% de Leptospiras libres |
| 4 | 100% de aglutinación | 0% de Leptospiras libres |

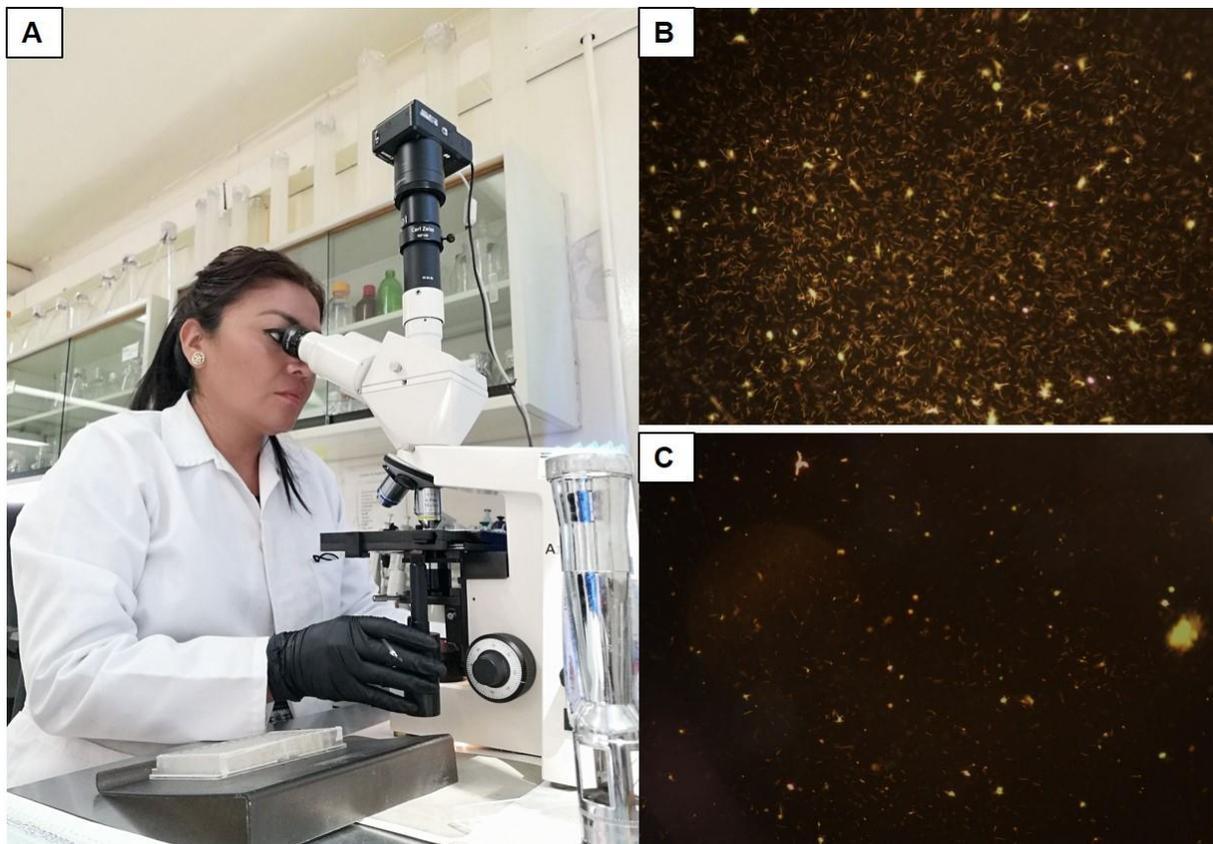


Figura A2. A) Lectura de las placas serológicas mediante el microscopio de campo oscuro (10X), B) Aglutinación escala 3, C) Suero positivo con desaparición de células.

Anexo 3. Mantenimiento del Cepario

Se realizó la conservación de las cepas en medio estéril, se verificó el cepario para determinar que las cepas fueran viables para su resiembra mediante un microscopio de campo oscuro, se utilizó una campana de flujo laminar donde se mantuvo el material requerido durante media hora con luz ultravioleta, se identificaron tubos serológicos donde se colocaron 10 ml de medio Cox, con el nombre de la serovariedad y la fecha de la resiembra, a estos tubos se les agregó 1 ml de suero de conejo esterilizado y 1 ml del cultivo anterior. Una vez realizado esto se metió a la estufa bacteriológica a una temperatura de 28 a 30°C durante 7 días, al finalizar este tiempo se revisó que las leptospiras tuvieran un buen crecimiento mediante su observación en el microscopio de campo oscuro. Finalmente, el nuevo cepario se almacena en un lugar oscuro y fresco, realizándose este procedimiento al menos cada 21 días (**Figura A3**).

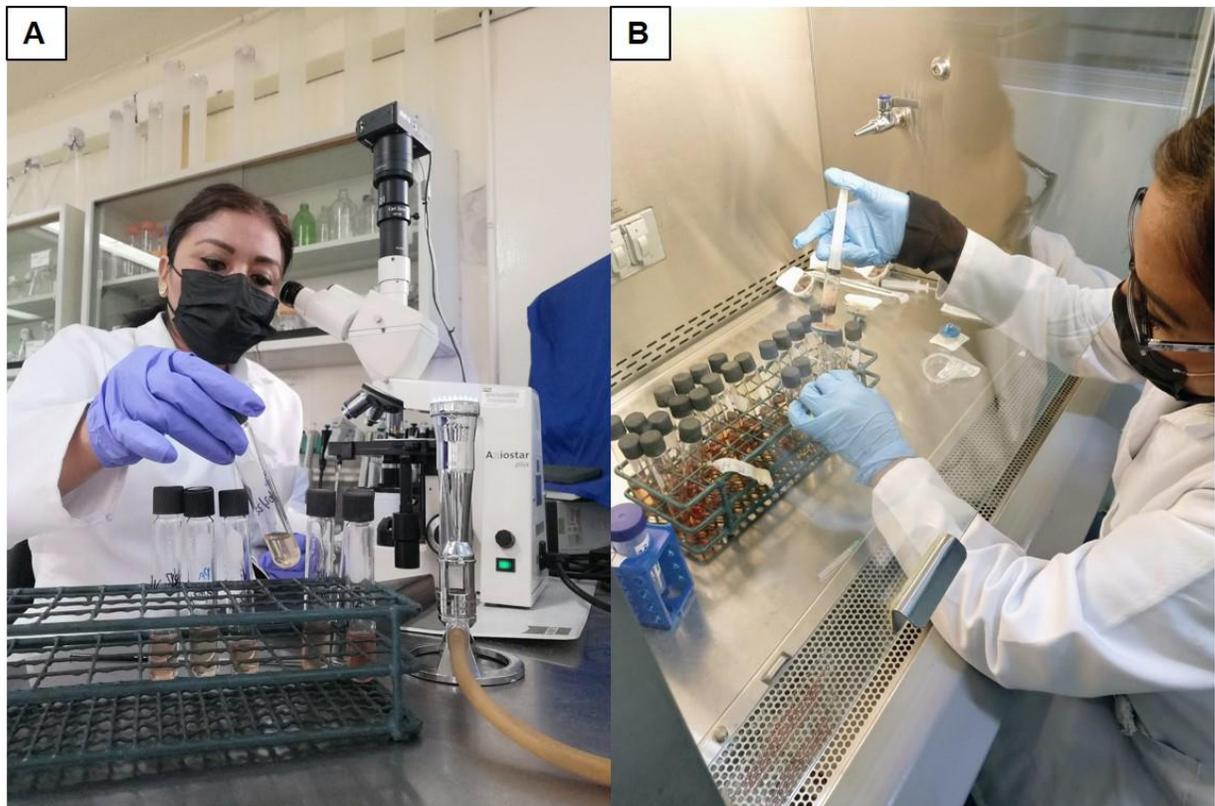


Figura A3. Mantenimiento del cepario: A) Verificación de la viabilidad de las cepas para realizar la resiembra, B) Suplementación del medio Cox con 1 ml de suero de conejo para el crecimiento de las leptospiras en el nuevo cepario.