



Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Producción Agrícola y Animal

LICENCIATURA EN MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL LEGAL

RESPUESTA INMUNE HUMORAL A LA VACUNACIÓN CONTRA
LEPTOSPIROSIS EN CONEJOS AL COMPARAR DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE HIDRÓXIDO DE ALUMINIO EN GEL.

FUENTEVILLA SÁNCHEZ DULCE OLIVIA.

97346111

Proyecto Genérico: Tecnología de la Producción Agropecuaria
(Aprobado por Consejo Divisional, sesión 5/91)

México D.F.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL LEGAL

**RESPUESTA INMUNE HUMORAL A LA VACUNACIÓN CONTRA
LEPTOSPIROSIS EN CONEJOS AL COMPARAR DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE HIDRÓXIDO DE ALUMINIO EN GEL.**

Proyecto Genérico: Tecnología de la Producción Agropecuaria.
(Aprobado por Consejo Divisional, sesión 5/91)

Prestador del servicio social:

Fuentevilla Sánchez Dulce Olivia.
Matrícula 97346111

Asesores:

Internos: Dr. Luis Pedro Moles y Cervantes.
Dr. Jorge Isaac Torres Barranca.

Externo: Dra. Dolores Guadalupe Gavaldón Rosas.
Cédula Profesional 534332

M.V.Z. Miguel Angel Cisneros Puebla.
‡ IN MEMORIAM

Lugar de realización:

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (Laboratorio de
Leptospira y bioterio)

Fecha de inicio y terminación: Del 03 de Febrero al 03 de Agosto del 2004.

Fecha de entrega: El 12 de Noviembre del 2004.

INDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCION	4
3. OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES	5
4. MARCO TEORICO	6
◆ Generalidades de la Leptospirosis	6
◆ Epidemiología	8
↳ Modos de transmisión	8
↳ Factores asociados a la enfermedad	9
◆ Patogenia	10
↳ Vías de entrada	10
◆ Manifestaciones clínicas	11
◆ Cuadro clínico por especie	11
↳ Leptospirosis canina	11
↳ Leptospirosis bovina	12
↳ Leptospirosis porcina	13
↳ Leptospirosis humana	14
◆ Diagnostico	15
◆ Prevención y control	16
◆ Inmunología	19
◆ Modelo de animal	20
5. METODOLOGIA UTILIZADA	21
◆ Elaboración de las bacterinas	21
◆ Animales	21
◆ Esquema de vacunación	21
◆ Obtención del suero y determinación de anticuerpos	22
6. ACTIVIDADES REALIZADAS	23
7. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS	24
8. RESULTADOS	25
9. DISCUSION Y CONCLUSION	33
10. RECOMENDACIONES	34
11. LITERATURA CITADA	35
12. ANEXOS	39

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores:

Cuantos adjetivos, palabras habrá que emplear para describir el amor y la alegría que existe atrás de un trabajo, es una huella muy profunda que he de llevar en mí hasta donde vaya. Por ello al término de ésta etapa de mi vida quiero expresar un profundo agradecimiento por el apoyo, dedicación, paciencia y comprensión que me brindaron para lograr ésta hermosa realidad.

GRACIAS.

Dr. Luis Pedro Moles y Cervantes. Dra. Dolores Guadalupe Gavaldón Rosas.
† MVZ. Miguel A. Cisneros Puebla. Dr. Jorge Isaac Torres Barranca.

A mis padres, hermanos y

† abuelos:

Sabiendo que no existirá alguna forma de agradecer una vida de sacrificio y esfuerzo, quiero que sientan que el objetivo logrado también es de ustedes y que la fuerza que me ayudo a conseguirlo fue su apoyo.

CON CARIÑO Y ADMIRACIÓN.

María Laura Sánchez Sánchez. Miguel Angel Fuentevilla Gunther.
Martha L. Fuentevilla Sánchez. Miguel Angel Fuentevilla Sánchez.
Martha Gunther Monier. Luis Villar Reyes.
María de la Luz Mercadillo E. Miguel Angel Fuentevilla Zepeda.
Ausencia Sánchez Méndez. José Sánchez Jacome.

A mi compañero:

Por haber vertido en mí tu cariño, por apoyarme e impulsarme en mi camino, ese incipiente y difícil destino, que hoy empiezo llena de alegría, en el que saldré triunfante. Por ese inmenso amor y cariño.

GRACIAS ¡TE QUIERO!

Octavio Ortiz Calderón.

A mis amigos:

Sin ustedes muchas cosas no serían posibles. Ésta es una mínima forma de agradecimiento. Pues toda una vida no es suficiente para compensarles lo que me han dado sin ningún interés. Sin pedir nada a cambio me ayudaron a darme cuenta que amor y amistad no sólo son conceptos sino entrega noble y desinteresada.

GRACIAS Y MÍ CARIÑO POR SIEMPRE.

Iram A. Estrada Cardona. Nora Rojas Serranía.
Eliseo Melgarejo Guzmán. Patricia Meléndez Valadéz.
J. Dario Estrada Castillo. Joel Hernández de la Vega.
Martha A. González Dayderol. J. Gabriel Cadena López.

A ese alguien muy especial:

Como un testimonio de mi infinito aprecio y agradecimiento, por toda una vida de esfuerzos y sacrificios, brindándome siempre cariño y apoyo cuando más lo necesité. Deseo de todo corazón que mi triunfo como mujer y profesionista lo sientas como el tuyo propio.

CON AMOR, ADMIRACIÓN Y TODO MI CARIÑO.

† EN MEMORIA A . . .

*Mil gracias por haber confiado en mí y sobre todo por la
Infinita paciencia y apoyo que me brindaste en todo momento ;
Gracias por guiar mi vida con energía , esto es lo que en verdad
Un gran hombre maravilloso y admirado hizo en mí , y
En los momentos más difíciles de mi vida siempre estuviste ahí dando
Lo mejor de ti mismo porque supiste escuchar y ayudar cuando más lo necesitaba .*

*Amor, justicia y valor siempre los encontré en tu ejemplo y a Dios
No tengo con que pagarle por prestarme a su ángel , porque sin él no hubiera salido adelante.
Gracias por el apoyo moral , tu cariño y comprensión que siempre me brindaste sin
Escatimar esfuerzo alguno , sacrificaste gran parte de tu vida para formarme y educarme y
La ilusión de mi vida ha sido convertirme en una persona de provecho .*

*Conceptos , valores morales ; formación profesional y la superación de mis
Ideales , esfuerzos y logros han sido también tuyos ; porque
Sabiendo que jamas existirá una forma de agradecértelo y
Ni aún con las riquezas más grandes del mundo podré pagar tus desvelos .
En silencio me has acompañado y sin pedirme nada a cambio , hoy me
Regalas la alegría de ver realizado uno más de mis sueños y la
Oportunidad de haber contado contigo y a ti por compartirme tus
Sabios consejos que me orientaron por el camino recto de la vida .*

*Porque en donde quiera que te encuentres fuiste , eres y serás
Un maestro , el médico y ante todo un gran amigo y confidente ;
Es por ello que , al haber concluido con éxito mi carrera profesional
Bendigo el apoyo y ejemplo que en cada segundo de tu vida me brindaste ; y porque he
Llegado al final de este camino y en mí han quedado marcadas huellas de este recorrido , por eso
A ti por todo ello , mi eterno y sincero agradecimiento.*

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad causada por la bacteria *Leptospira interrogans* que provoca importantes pérdidas económicas para los productores. Entre las medidas para prevenir esta infección se encuentra la aplicación de vacunas. Para poder determinar el momento de las revacunaciones, establecer calendarios y esquemas de vacunación más adecuados, así como la concentración mínima del adyuvante recomendable, se estudió el comportamiento de la respuesta inmune humoral en conejos después de la aplicación de una bacterina.

Se elaboraron 3 tipos de bacterinas que contenían 5, 10 y 20% de hidróxido de aluminio en gel respectivamente y todas incluían 7 serovariedades de *L. interrogans*.

Los resultados mostraron que la bacterina con una concentración de 5% del adyuvante indujo un mayor título de anticuerpos en los conejos y se mantuvieron hasta el día 92 después de la aplicación de la vacuna, fecha a partir de la cual empezaron a descender.

Dado que el conejo se ha considerado un modelo biológico adecuado se concluyó que la bacterina con concentraciones bajas de adyuvante (5%) y revacunaciones a los 15 días y 3 meses después son adecuadas para obtener una buena respuesta inmune.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis provoca importantes pérdidas económicas para los productores, que son producidas por abortos, momificaciones, mortinatos y productos débiles que mueren poco tiempo después del nacimiento (Faine, 1994 y Blood et al, 2000 y Ellis et al, 1986 citado por Matos et al, 2001).

Dada la situación actual de los conocimientos es sumamente difícil estimar las pérdidas reales producidas por leptospirosis (Blood et al, 2000).

La *Leptospira* tiene una distribución a nivel universal, tanto desde el punto de vista veterinario como humano. El impacto de la leptospirosis se aprecia con mayor intensidad en áreas templadas, tropicales (Faine, 1994; Faine et al, 1999 y Levett, 2001 citados por Nally et al, 2001) y zonas frías (Merck, 1993 y Blood et al, 2000).

En Europa Hardjo se ha asociado a 348 casos de abortos en bovinos; en el Continente Americano registraron pérdidas económicas generalizadas de infertilidad a causa de la leptospirosis (Ochoa et al, 2001) y en México existen estudios serológicos que demuestran la presencia de leptospira en toda la república mexicana (Torres et al, 2002 y Moles et al, 2002) prácticamente en unidades de producción tanto técnicas, familiares o de traspatio (Moles, et al, 1998).

Así mismo es una zoonosis que impacta también en la Salud Pública (Sonrier et al, 2001; Levett, 2001 citado por Nally et al, 2001 y Farr, 1995 citado por Scanziani et al, 2002).

En el continente Americano se registraron 2000 casos y 40 defunciones en seres humanos por presentar una enfermedad febril hemorrágica, primero se presumía que era dengue pero después del diagnóstico serológico se encontró que era leptospirosis y después en esa misma parte del continente cuando apareció el huracán Mich se registraron 523 casos sospechosos de leptospirosis (Ochoa et al, 2001).

La prevención de esta enfermedad incluye la vacunación; este estudio permitirá establecer un plan de vacunación, en el que se expresen los intervalos de tiempo que deban transcurrir entre las inoculaciones de la inmunización básica y las revacunaciones, todo ello para conseguir una sólida inmunidad (Brunner et al, 2002).

En el presente trabajo se evaluó la cinética de la respuesta inmune humoral en conejos al utilizar bacterinas de *Leptospira interrogans* que contienen diferentes concentraciones de adyuvante.

OBJETIVO GENERAL.

- Evaluar la cinética de la respuesta inmune humoral en conejos al utilizar bacterinas de *Leptospira interrogans* que contienen diferentes concentraciones de adyuvante.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Medir la respuesta inmune humoral a la aplicación de bacterinas de *Leptospira* elaboradas con 3 concentraciones diferentes de hidróxido de aluminio en gel.
- Determinar la capacidad inmunogénica de las serovariedades de *Leptospira interrogans* contenidas en las bacterinas aplicadas.
- Conocer la respuesta inmune humoral inducida en los conejos al aplicar las bacterinas contra leptospirosis.

MARCO TEÓRICO.

GENERALIDADES DE LA LEPTOSPIROSIS.

La leptospirosis es causada por una espiroqueta llamada *Leptospira*. La palabra *Leptospira* procede del griego *lepto* que significa estrecho o delgado y *spira* que es espiral (González et al, 1990). Son espiroquetas aeróbicas, helicoidales, enrolladas en hélice, Gram negativas (Matsuo, et al, 2000), delgadas, móviles, flexibles y su corte transversal indica que son cilíndricas y tienen un número variable de espirales. Los tres elementos celulares básicos son la vaina exterior, que envuelve a la célula, el filamento axial o fibrilla y el cilindro protoplásmico (Carter y Chengappa, 1994 y Faine, 1994). Tienen de 3 a 20 μm de longitud, 0.1 μm de ancho y los giros de la espiral tienen 0.2 a 0.5 μm de separación con 18 o más vueltas por célula (Scancan, 1991). Los extremos del microorganismo están doblados en forma de gancho (González et al, 1990; Scancan, 1991 y Carter y Chengappa, 1994).

Son bacterias lipolíticas y su medio de cultivo contiene por lo general albúmina sérica o suero, más diversos ácidos grasos de cadena larga que sirven como única fuente de carbono y energía y un pH entre 6.8 y 7.8 (Scancan, 1991).

Su clasificación taxonómica es la siguiente: Reino: Procaryotae, División: Bacteria, Orden: Spirochaetales, Familia: Leptospiraceae y Género: *Leptospira* (Scancan, 1991; Carter y Chengappa, 1994 y Blood et al, 2000)

Por su respuesta serológica se reconocen dos especies: *interrogans* y *biflexa*; en tanto que *interrogans* agrupa las cepas productoras de la enfermedad del hombre y los mamíferos tanto silvestres como domésticos, *biflexa* comprende aquellas de vida libre y sin aparente capacidad patógena (Scancan, 1991 y Faine, 1994).

Actualmente se tienen consideradas 10 especies 7 de ellas patógenas *noguchii*, *weilli*, *santarosai*, *borgpetersenii*, *kirschneri*, *alexanderi* (con 2 genopecies *fainei*, *meyen*) e *inadai* y 3 especies saprofitas *biflexa* sensu stricto, *parva* y *wolbachii* (Blood et al, 2000; Postic, 2000; Yasuda et al, 1987 y Bolin, 1996 citados por Scanziani et al, 2002 y LeFebvre, 1990 citado por Muñoz y Caballero, 2002).

El grupo *interrogans* está dividido en 23 serogrupos, los que a su vez se subdividen en por lo menos 250 serovariedades diferentes (González et al, 1990; Scancan, 1991; Faine, 1994; Levitan, 1998; Postic, 2000; Aarón, 1991 citado por Muñoz y Caballero, 2002; Farr, 1995 citado por Scanziani et al, 2002; Kmety y Dikken, 1993 citados por Levett, 2003).

Por otro lado siendo una zoonosis impacta también en la Salud Pública (Sonrier et al, 2001; Levett, 2001 citado por Nally et al, 2001 y Farr, 1995 citado por Scanziani et al, 2002). En México esta es de reporte obligatorio por estar clasificada en el grupo C de la Dirección General de Sanidad Animal (Gay, 1995).

La frecuencia de leptospirosis es alta en países productores de arroz. Por ello la Organización Mundial de Salud (OMS) ha cifrado su prevalencia en humanos entre 4 y 100 casos por 100 000 habitantes en esos países (Ochoa et al, 2001).

Mientras que en el continente Americano se registraron 2000 casos y 40 defunciones en seres humanos por presentar una enfermedad febril hemorrágica, primero se presumía que era dengue pero después del diagnóstico serológico se encontró que era leptospirosis y después en esa misma parte del continente cuando apareció el huracán Mich se registraron 523 casos sospechosos de leptospirosis (Ochoa et al, 2001).

La *Leptospira* tiene una distribución ha nivel universal, tanto desde el punto de vista veterinario como humano. El impacto de la leptospirosis se aprecia con mayor intensidad en áreas templadas, tropicales (Faine, 1994; Faine et al, 1999 y Levett, 2001 citados por Nally et al, 2001) y zonas frías (Merck, 1993 y Blood et al, 2000).

Se ha observado que son países con mediano o buen grado de desarrollo los que han podido rescatar a la leptospirosis del confuso grupo de las patologías y reconocerla como tal. Es el caso de Estados Unidos, Japón, Canadá, Australia, Nueva Zelanda, Francia, Islas Británicas, etc. que cuentan con una tecnología adecuada que les permite el desarrollo de las diversas áreas de la investigación, especialmente en las de diagnóstico y control (Merck, 1993 y Blood et al, 2000).

En el continente Europeo se ha encontrado presencia de leptospirosis en granjas pecuarias de animales y los serogrupos que se encuentran son en Cerdos: australis, pomona, cynopteri e icterohaemorrhagiae; Bovinos: sejroe, pomona, hebdomadis, tarassovi e icterohaemorrhagiae y en Ovinos: grippytyphosa, canicola, pomona, icterohaemorrhagiae y pyrogenes (Rocha, 1998).

En otra parte de Europa se encontró que el serotipo hardjo se le asocio por la perdida de 348 abortos en bovino (Ochoa et al, 2001).

En años pasados se registraron perdidas económicas generalizadas de infertilidad a causa de la leptospirosis en animales 1526 abortos de bovinos (Ochoa et al, 2001).

Existe una amplia prevalencia de anticuerpos en los animales de mayor importancia económica y social, el principal serogrupo que afecta a los cerdos y el más extendido en el mundo es pomona, se ha encontrado en el 70% de investigaciones y en todas las especies estudiadas (Salado et al, 1997).

En nuestro país existen estudios serológicos que demuestran la presencia de leptospira en muchas regiones (Torres et al, 2002 y Moles et al, 2002) y se han encontrado leptospirosis en unidades de producción tanto técnicas como familiares o de traspatio encontrándose en cerdos las serovariedades bratislava con un 28% y pomona con un 24.5% (Moles, et al, 1998).

La leptospirosis provoca importantes pérdidas económicas para los productores, producidas por abortos, momificaciones, mortinatos y productos débiles que mueren poco tiempo después del nacimiento (Faine, 1994; Blood et al, 2000 y Ellis et al, 1986 citado por Matos et al, 2001).

El cálculo de las pérdidas económicas provocadas por esta enfermedad exige el reconocimiento previo de ésta. Dada la situación actual de los conocimientos es sumamente difícil estimar las pérdidas reales producidas por leptospirosis (Blood et al, 2000).

EPIDEMIOLOGIA.

Modo de transmisión.

1. DIRECTA: Sucede cuando el agente infeccioso pasa de un huésped infectado a uno susceptible siendo ésta:

Intraespecie.

a) Trasplacentaria: Cuando la leptospira atraviesa la barrera placentaria infecta al producto, el cual puede morir, dependiendo del momento de adquirir la infección, la virulencia de la cepa y su susceptibilidad (Rojas, 1997 y Blood et al, 2000).

b) Contacto sexual: Aunque mucho se ha descrito que el riñón es el órgano de predilección para que la *Leptospira* se implante, esta puede llegar a hacerlo en tracto genital tanto de hembras como de machos ya sea por monta directa o inseminación artificial con semen fresco y por lo tanto puede existir una transmisión venérea (Rojas, 1997; Salado et al, 1997 y Blood et al, 2000).

c) Lactancia: Es de las formas de eliminación de las leptospirosis, existiendo así un contagio de las madres infectadas a sus crías (Faine, 1994 y Rojas, 1997).

Interespecie.

Sucede cuando las especies susceptibles que son distintas a la que se encuentra infectada, entran en contacto con la orina, fluidos corporales de animales y cadáveres infectados (Rojas, 1997 y Blood et al, 2000).

2. INDIRECTA: Se produce cuando los animales infectados eliminan la bacteria por la orina y así pasa al medio ambiente contaminándolo, generalmente son adecuadas las zonas con grandes áreas de aguas superficiales (lagos, ríos o corrientes), aguas residuales, encharcamientos y lodo con un pH ligeramente alcalino, y contribuyen a la supervivencia del agente (Faine, 1994; Rojas, 1997; Blood et al, 2000; Postic, 2000 y Nally et al, 2001).

Factores asociados a la enfermedad.

1. Factor dependiente etiológico: es el relativo a la resistencia de las leptospiras fuera del hospedador. Las leptospiras son microorganismos bastante sensibles a las condiciones ambientales (Van der Hoeden, 1958 y Michna, 1970 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001) y los factores que determinan su supervivencia en el medio ambiente son: temperatura templada (25°C), ambiente húmedo, pH neutro o ligeramente alcalino y presencia de materia orgánica (Torres, 1999; Van der Hoeden, 1958, Michna, 1970, Thiermann, 1984, Timoney et al, 1988 y Prescott, 1993 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001) por tanto, las áreas con lagunas, riachuelos y bebederos en general, que congregan a un gran número de animales, son las que más frecuentemente están implicadas en los brotes de leptospirosis (Thiermann, 1984 y Ellis, 1994 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001). Estos factores van a propiciar la existencia de una cierta estacionalidad en la presentación de la enfermedad en relación principalmente con la época de lluvias (Sullivan, 1974, Thiermann, 1984, Carrol y Campbell, 1987, Millar et al, 1991 y Prescott, 1993 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001).

2. Factor dependiente del hospedador; los diferentes autores destacan como factores más importantes la edad, el estado inmunitario y la gestación, por ejemplo, en el caso de bovinos:

- a) La edad de los animales parece estar en relación con el estado del portador renal. Algunos autores sugieren que la mayor incidencia de animales que excretan leptospiras en la orina aparece en las crías y que la mayoría de las hembras mayores de tres años no son leptospirúricas (Hellestrom y Blackmore, 1980 citados por Ellis 1983 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001).
- b) En cuanto al estado inmunitario, se puede decir que, en general, al ganado expuesto previamente a la infección es renuente a la reinfección durante años incluso cuando los niveles de anticuerpos circulantes apenas alcanzan un título de 1:10 (Van der Hoeden, 1958 y Ellis 1983 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001).
- c) Con relación a la gestación los datos disponibles nos muestra que el aborto por leptospiras se produce principalmente en los últimos estadios de la gestación, entre los 6 y los 9 meses. Probablemente, la infección se produce varias semanas antes y el aborto tiene lugar de una a seis semanas después de la fase aguda en caso de serovares accidentales y de cuatro a doce semanas en el caso de hardjo, aunque los animales no suelen mostrar síntomas de infección aguda, e incluso se han observado también abortos en otros estadios de la gestación y presencia de mortalidad embrionaria (Ellis y Michna, 1977 y Ellis 1983 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001).

3. Factor dependiente del medio: Los casos de leptospirosis parecen ser más frecuentes y de peor pronóstico en las explotaciones de leche que en las de carne. Esto es debido a que el ganado bovino lechero se explota generalmente en sistemas intensivos o semiintensivos que llevan a un mayor hacinamiento, lo cual favorece la transmisión (Ellis y Michna, 1976, Ellis 1983 y Leonard et al, 1993 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001). La alimentación parece ser, también, un factor importante en relación con la eliminación de leptospiras en la orina. (Leonard et al, 1992 y 1993 citado por Alonso-Andicoberry et al, 2001) demostraron que en los animales alimentados con suplementos como ensilado de grano, se producía una baja del pH de la orina, cuyo efecto inmediato parecía ser la disminución del número de leptospiras viables eliminadas en este fluido.

PATOGENIA.

Vías de entrada.

Los vasos sanguíneos son la puerta de entrada para la transmisión directa de las infecciones por *Leptospira* en la piel lesionada con escoriaciones, piel reblandecida, mucosas conjuntivales, genitales, orales y nasales (Blood et al, 2000; Postic, 2000 y Nally et al, 2001).

Una vez que entra a torrente sanguíneo se disemina por todo el cuerpo hasta llegar al hígado donde se empieza a multiplicar el agente y luego sobreviene una etapa de leptospiremia en la cual puede suceder:

a) Implantación en riñón, donde los anticuerpos son incapaces de reaccionar con la bacteria, quedando el huésped como portador asintomático en la etapa de leptospiruria (Blood et al, 2000).

b) Infección transplacentaria tiene como consecuencia una leptospirosis fetal aguda en donde el producto puede morir y ser expulsado o bien, sobrevivir y llegar a término naciendo así los animales débiles que mueren más tarde (Faine, 1994).

c) Después de 7 días post-infección, sobreviene una fase de inmunidad en la cual se comienzan a detectar anticuerpos aglutinantes antileptospira de la clase IgM. Es importante mencionar que en muchas ocasiones una serovariedad de leptospira no proporciona inmunidad contra otras serovariedades (Faine, 1994; Rojas, 1997 y Bodewes, 2000)

Diferentes autores han evaluado la hipótesis de que los artrópodos podrían jugar un papel relevante en la transmisión de la leptospirosis. Así se cree que las moscas, garrapatas, pulgas, ácaros y piojos pueden ser transmisores mecánicos de la infección (Michna, 1970, Amatredjo y Campbell, 1975 citados por Alonso-Andicoberry et al, 2001)

MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Los signos clínicos de la enfermedad pueden ser variables, dependiendo si es una infección aguda ó crónica.

En forma aguda se puede encontrar septicemia, anemia, pirexia, anorexia, vómito, agalactia, ictericia y abortos, especialmente en el último tercio de la gestación. En la forma crónica los signos clínicos son pocos y los riñones son los órganos principalmente afectados. Pueden encontrarse productos débiles con fiebre, decaimiento, anorexia, diarrea y en casos esporádicos pueden aparecer con síntomas nerviosos (Pérez, 1990; Merck, 1993; Faine, 1994; Blood et al, 2000; Ellis et al, 1986 citado por Matos et al, 2001; Rentko et al, 1992 y Birnbaum et al, 1988 citados por Scanziani et al, 2002).

En los casos de aborto los fetos afectados están momificados o presentan órganos uniformemente pálidos con o sin ictericia, con frecuencia los fetos recién abortados tienen petequias en la piel y hemorragias en los riñones, pulmones e hígado (Pérez, 1990 y Faine, 1994).

CUADRO CLÍNICO POR ESPECIE.

A) Leptospirosis canina.

Esta enfermedad es causada en gran parte por la serovariedad canicola y con menos frecuencia por la serovariedad icterohaemorrhagiae (Merck, 1993; Watson, 1996 y Brown et al, 1996 citados por Sonrier et al, 2001; Hanson y Tripathy, 1986, Bolin, 1996 y Wohl, 1996 citados por Scanziani et al, 2002). Aunque se desconoce la prevalencia, varios estudios han demostrado que hasta 38% de los perros muestran resultados serológicos de exposición o enfermedad (Carter y Chengappa, 1997)

Los perros infectados excretan de manera esporádica leptospira en orina y sirve como fuentes de infecciones de canicola e icterohaemorrhagiae. Los caninos pueden excretar leptospiras por lo menos de 2 a 6 meses en general (Carter y Chengappa, 1997).

Las infecciones pueden ir de latentes a graves. En ocasiones una infección aguda por canicola, puede dejar como secuela una nefritis crónica progresiva que conduce a la muerte tiempo después de la infección inicial (Merck, 1993 y Carter y Chengappa, 1997).

Con relación al aspecto clínico el curso de la enfermedad variará dependiendo de la edad, de la respuesta inmune del individuo, la serovariedad involucrada y de la virulencia de la cepa entre otros factores (González, 1990 citado por Luna et al, 2004).

Leptospira canicola o enfermedad de "Stuttgart"

La enfermedad de Stuttgart en el perro, se relaciona principalmente con un proceso urémico por falla renal. Se presenta principalmente en perros adultos de 3 a 8 años (se han realizado aislamientos en animales hasta de 14 años), pero la incidencia es mucho mayor en los machos, donde hay un periodo de incubación de 7 a 15 días aproximadamente. La signología se inicia con anorexia, polidipsia, emesis frecuente de consistencia mucoide y blanquecina, que en su última fase es de color café oscuro en forma de "taza de café" (sangre digerida), deshidratación marcada, miositis, dolor sublumbar, paresia del tren posterior, renuencia a moverse causada probablemente por inflamación muscular, meníngea o renal, se observa postración, estupor profundo, somnolencia, adelgazamiento rápido y progresivo (40%), fiebre o hipotermia progresiva, congestión vascular episcleral y conjuntival, úlceras a lo largo de encías y halitosis urémica (raramente). La mortalidad puede llegar hacer de un 50% aproximadamente (Barlough, 1988, Chandler, 1994 y Birnbaum, 1998 citados por Luna et al, 2004)

Leptospira icterohaemorrhagiae o síndrome de "Weil"

Esta serovariedad es causante de un cuadro icterico grave en el perro, muy semejante a la afección en el hombre. La frecuencia de presentación en el perro es baja (25%) en comparación con la frecuencia de presentación de *L. canicola* (75%). Suele presentarse con mayor frecuencia en animales menores de 2 años. La ruta seguida por la infección y el período de incubación son similares a la infección por *L. canicola*. Hay un aumento transitorio de la temperatura corporal (febrícula) que generalmente pasa inadvertido, presentación súbita y progresiva de ictericia en 3-4 días que va de un color amarillo tenue a un color amarillo naranja manifestado en piel y mucosas, la orina es amarilla parduzca, se observa debilidad general y en miembros anteriores dando apariencia en cachorros de pata de "liebre", escalofríos, depresión, anorexia, emesis (4-5 veces al día) con sangre fresca, polidipsia, emaciación (40%), deshidratación, hemorragias petequiales y/o equimosis en conjuntiva y cavidad oral, congestión conjuntival, úlceras y halitosis en cavidad oral. La mortalidad puede ser de un 100% (Barlough, 1988, Chandler, 1994 y Birnbaum, 1998 citados por Luna et al, 2004).

B) Leptospirosis bovina.

Esta enfermedad es causada por la serovariedad Hardjo que causa menos abortos, pero conduce a esterilidad, en diversas acciones intervienen las serovariedades grippotyphosa, canicola o icterohaemorrhagiae; un 3 al 11% de los bovinos muestra datos serológicos de infección (Merck, 1993 y Carter y Chengappa, 1997).

La tasa de mortalidad es baja (5%), la morbilidad suele ser elevada según datos clínicos y serológicos, pudiendo alcanzar hasta el 100% de los animales expuestos. En terneros la mortalidad es mucho más alta que en los adultos. Las cifras elevadas de abortos hasta un 30% y el descenso de la producción láctea son las causas principalmente de pérdidas económicas (Blood, et al, 2000).

La infección puede ser latente en un hato y precipitarse por situaciones adversas de estrés. Cuando la enfermedad se presenta se caracteriza por diferentes signos clínicos; en becerros se manifiesta por fiebre, diarrea, anemia, ictericia y hemoglobinuria y en hembras gestantes llega a ocasionar abortos entre la cuarta y doceava semana después de iniciada la infección y también puede producirse mortinatos, nacimiento de terneros débiles (Merck, 1993; Carter y Chengappa, 1997; Blood et al, 2000 y Ellis, 2004). Durante la fase septicémica hay fiebre alta de 40.5 a 41.5°C, anorexia, depresión, petequias y palidez de mucosas (Blood, et al, 2000).

La infección puede ocurrir a través de la membrana mucosa de la conjuntiva, vagina o prepucio y es seguido por un periodo (3-4 días) de bacteremia en el cual el microorganismo puede encontrarse en grandes cantidades en la glándula mamaria durante la lactancia. Esta fase bacterémica es normalmente subclínica, pero bajo ciertas circunstancias la enfermedad clínica (forma aguda) puede ocurrir. La fase bacterémica acaba con la aparición de los anticuerpos circulantes. Esta respuesta inmune parece ser completamente humoral y es principalmente dirigido hacia el exterior (Ellis, 2004).

C) Leptospirosis porcina.

El primer aislamiento de origen porcino data de 1939 y en 1946 se logra detectar este microorganismo a partir de material obtenido de un bovino (Saravi et al, 1984). La serovariedad pomona es la causa principal de leptospirosis en cerdos, otras serovariedades que se incluyen son tarassovi, canicola, grippytyphosa, icterohaemorrhagiae y recientemente bratislava, que también intervienen en la leptospirosis porcina (Merck, 1993; Carter y Chengappa, 1997 y Alves et al, 2000).

Las manifestaciones clínicas que causan inquietud, abortos, fiebre, ictericia y anemia; en muy raras ocasiones presentan metritis y meningoencefalitis (Merck, 1993; Carter y Chengappa, 1997 y Ellis et al, 1986 citado por Blood et al, 2000). Aparentemente los cerdos pueden excretar un gran número de microorganismos en la orina hasta 1 año después de recobrase de una infección aguda. Los cerdos frecuentemente transmiten la enfermedad al hombre y en Europa la afección se conoce como "enfermedad del porquero" (Blood et al, 2000).

En grandes unidades de producción porcina la posibilidad de infección cruzada es muy grande, debido a la densidad de población. El movimiento de porcinos de un lugar a otro, y el contacto con desechos de otros corrales son los medios más importantes de diseminación en estas circunstancias (Blood et al, 2000).

Los datos clínicos más relevantes son la infertilidad, muerte embrionaria, abortos, mortinatos y nacimiento de lechones débiles que únicamente sobreviven algunas horas; pudiendo en ocasiones involucrar a toda la camada. El aborto es el signo más representativo de la enfermedad y ocurre con mayor frecuencia en la segunda mitad de la gestación (Moles, 2004).

En una granja porcina del estado de Sinaloa en México, se aisló una cepa de *Leptospira interrogans* que fue tipificada por la Dra. Carol Bolin del Centro de Referencia de Leptospirosis en Ames, Iowa, EE.UU y correspondió al serogrupo Canicola, serovariedad portland-vere y se denominó cepa Sinaloa ACR; este aislamiento lo realizó el M.V.Z. Miguel Angel Cisneros Puebla (Moles, 2004).

D) Leptospirosis humana.

La presentación clínica de esta enfermedad fue reconocida por primera vez en el hombre a fines del siglo pasado en Alemania, por el Dr. Adolfo Weil (Faine, 1994). Posteriormente varios investigadores japoneses lograron el aislamiento de su agente etiológico, al cual denominaron *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, y que se conoce hoy en día con el nombre de *Leptospira interrogans* (Saravi et al, 1984).

A partir de su presentación en el hombre y hasta que comenzaron los primeros estudios en Medicina Veterinaria, la leptospirosis ha tenido gran difusión, básicamente por su importancia como enfermedad ocupacional (Saravi et al, 1984).

El hombre adquiere la infección de animales domésticos (bovinos, porcinos, perros, gatos, etc.) o silvestres (marsupiales, zorros, mapaches, etc.). La infección puede ser adquirida en forma directa o indirecta. La enfermedad adquirida en forma directa ocurre cuando las personas entran en contacto con orina fresca contaminada o con los órganos de animales infectados. Mientras que la infección en forma indirecta ocurre cuando el microorganismo es excretado por medio de la orina en el agua o en el suelo húmedo y las personas quedan expuestas al microorganismo durante sus actividades (Faine, 1994; Carter y Chengappa, 1997; Zavala et al, 1998 y Blood et al, 2000).

Existen dos formas clínicas: leve o moderada también denominada anictérica y severa o fatal que corresponde a la ictérica. El periodo de incubación va de 2 a 20 días, teniendo un promedio de 10 días. La sintomatología de inicio es bastante inespecífica, mientras que las manifestaciones que se presentan a partir del quinto día ya involucran alteraciones específicas de algunos sistemas (Gavaldón, 2004).

El cuadro moderado se inicia con la aparición brusca de fiebre de 38-39°C que desaparece entre el tercer y cuarto día, cefalea, escalofríos, mialgias sobre todo en pantorrillas y nuca, artralgias, hemoptisis, debilidad, cansancio, insomnio, conjuntivitis (ojo rosado); toda esta sintomatología empieza a ceder a la semana sólo el dolor muscular persiste por más tiempo. Puede existir una recaída y presentarse un cuadro de meningitis, dolor abdominal y alteraciones respiratorias.

Las alteraciones oculares pueden persistir y presentarse uveítis, iritis e iridociclitis. La duración es de aproximadamente 6 semanas y se recomienda el reposo para evitar las recaídas. Algunas manifestaciones como la uveítis, insomnio y la depresión pueden persistir por más tiempo, incluso meses (Gavaldón, 2004).

En los casos de leptospirosis severa, el cuadro se caracteriza porque la fiebre empieza a ceder al tercer día pero reaparece entre el quinto y séptimo día (silla de montar) y alcanza 40°C. A partir del séptimo día aparece la ictericia, hepatomegalia, la sintomatología respiratoria puede aparecer con disnea, estertores, evolucionando a un cuadro de hemorragia pulmonar, disfunción renal que puede llegar a la oliguria y a datos de insuficiencia renal, las alteraciones neurológicas se hacen más acentuadas, puede haber pérdida de la memoria, alucinaciones y delirio (Gavaldón, 2004).

DIAGNOSTICO.

Existen diversas técnicas para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis.

Observaciones directas: Se hacen a partir de tejidos de animales enfermos, convalecientes o portadores asintomáticos.

- * Campo Oscuro (CO).
- * Inmunofluorescencia (IMF).
- * Inmunoperoxidasa (IMP).

Observaciones indirectas:

- * Aglutinación microscópica (AM).
- * ELISA.
- * Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) in situ.
- * Detección de material genético.

El examen serológico de AM es el de mayor uso, ya que por sus características sigue siendo la prueba de referencia internacional. Actualmente esta prueba se realiza en varios laboratorios de salud animal ubicados en diferentes estados de la república (Torres, 2000). Como antígeno para esta prueba se utilizan cultivos puros y vivos tratando de seleccionar el mayor número de serovariedades posibles y tiene la característica de ser muy sensible a las diferentes serovariedades (Faine, 1994; Stites, 1996; Faine, 1987 citado por Postic, 2000 y Turner, 1968 citado por Levett, 2003).

El diagnóstico de laboratorio es laborioso y tardado, se utiliza la prueba serológica descrita por la OPS (Organización Panamericana de Salud) y la OIE (Organización Internacional de Epizootias) que indican que mediante esta prueba se han podido detectar los anticuerpos circulantes después de la primera semana de sufrir la enfermedad; cada suero problema se debe probar contra una batería de 10 o más serovariedades de *L. interrogans*.

La prueba es de serovariedad específica, lo que permite identificar que tipo de leptospira es la que ha estimulado al sistema inmune del animal infectado. El resultado de la prueba se obtiene cuando se ha identificado el título más elevado de cada suero para cada una de las serovariedades que se presenta entre la tercera o cuarta semana. Estas organizaciones indican también que los anticuerpos pueden persistir durante varios meses e inclusive años (OIE, 1992 y Faine, 1994).

PREVENCIÓN Y CONTROL.

Las vacunas, sueros y productos biológicos similares son las herramientas más importantes con que cuentan los veterinarios para controlar eficazmente la lucha contra las epidemias animales (Faine, 1994; Ellis, 2001 y Brunner et al, 2002).

Los remedios se diferencian de los medicamentos en que exigen requisitos especiales en lo referente a la fabricación, comprobación, almacenamiento, venta y manejo. Debido a su importancia en la profilaxis de epidemias y, como consecuencia, de su trascendencia económica, los legisladores prohibieron inicialmente de forma general la venta y utilización de los remedios. Pero a la vez autorizaron varias excepciones, que anulan dicha prohibición. Tales excepciones a la prohibición de venta y aplicación son; el permiso, la prueba de campo y la llamada vacunación específica del establo (autovacuna), es decir, la que se limita a una población determinada (Brunner et al, 2002).

Generalmente las vacunas de uso veterinario son la suspensión de una o más serovariedades inactivadas de *Leptospira interrogans*, de forma tal que las características antigenicas se conserven (NOM, 1995 y Ellis, 2001)

En forma experimental, se han probado gran cantidad de vacunas elaboradas con extractos celulares; sin embargo, las vacunas comerciales son elaboradas con células completas (Ellis, 2001)

En los animales de granja las bacterinas necesitan tener por lo menos cinco diferentes serogrupos (Stringfellow et al, 1983 y Bolin et al, 1991 citados por Sonrier et al, 2001). Es recomendable el uso de bacterinas que incluyan las serovariedades más comunes que hay en esa región, así como el seguimiento periódico de la variación de los seroperfiles.

Para asegurar una protección vacunal duradera, es necesario realizar las revacunaciones. Cada inoculación inicial crea una inmunidad suficiente solo durante un tiempo limitado. Repitiendo las inoculaciones, se consigue una protección vacunal permanente; los plazos que deben transcurrir se expresan en las correspondientes instrucciones de empleo de la vacuna (Brunner et al, 2002).

Por ello en la mayoría de los casos, las cepas microbianas de campo aisladas de una población animal se remiten a una empresa farmacéutica para la fabricación industrial de la vacuna específica para una población.

Cuando las pruebas de campo son realizadas bajo la supervisión de las autoridades competentes se demuestra particularmente una eficaz y determinada estrategia de lucha contra las epidemias (Brunner et al, 2002).

Frente a las excepciones arriba citadas se dispone de vacunas comerciales, sueros y productos biológicos como armas autorizadas para combatir las epidemias. Todas han pasado por un protocolo nacional o europeo de aprobación, siempre que en la utilización de estos productos no se cometa ningún error y se respete la fecha de caducidad (Brunner et al, 2002).

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana la vacunación y programas de control de la leptospirosis que hasta la fecha ha iniciado la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) se orientan a la especie bovina de cualquier raza y función zootécnica. En lo correspondiente a otras especies domésticas y silvestres, la SAGARPA determinará las especies en que por razones que se consideren necesarias sea aplicada esta Norma en los lugares y tiempos que se indique (NOM, 1995).

Las bacterinas que se utilicen para la prevención de la leptospirosis bovina, son suspensiones de una o más serovariedades de *Leptospira interrogans*, cuya presencia se ha demostrado en México por métodos serológicos y/o aislamiento e identificación inactivadas de forma tal, que conserven sus características inmunogénicas (NOM, 1995).

La efectividad de muchas vacunas puede aumentarse fuertemente si se añade a ellas una variedad de sustancias no antigénicas, que son capaces de aumentar la cantidad y duración de la respuesta inmunitaria y reciben el nombre de adyuvantes (Herbert, 1972 y Faine, 1994).

Los adyuvantes son sustancias que tienen una capacidad inmunomoduladora. Amplifican la respuesta al antígeno ya sea porque estimulan células reactivas o bien porque van liberando lentamente al antígeno o sea lo hacen más insoluble (NOM, 1995 y Tizard, 1998).

Entre los adyuvantes formadores de depósito están las sales de aluminio como el hidróxido, el fosfato y sulfato de aluminio y potasio (Tizard, 1998). El efecto del adyuvante que contiene compuestos de aluminio fue el primero en ser observado en 1926. Desde entonces los adyuvantes de hidróxido y fosfato de aluminio se han utilizado extensamente en vacunas humanas y animales (Flarend et al, 1997), con el fin de inducir una respuesta inmune adaptable efectiva, ya sea celular o humoral (Thacker, 2003).

Los adyuvantes de aluminio (hidróxido y fosfato de aluminio) y el fosfato de calcio son los únicos que son aprobados y aceptados actualmente para el uso de vacunas humanas por la Food and Drug Administration (FDA) (Flarend et al, 1997 y Goto et al, 1997).

Las vacunas que contienen estos adyuvantes se administran generalmente por vía intramuscular y la Food and Drug Administration (FDA) limita la cantidad a no mayor de 0.85 mg de aluminio por dosis (Flarend et al, 1997).

Un estudio reciente ha demostrado que el hidróxido cristalino de aluminio tiene una morfología fibrosa y se disuelve muy lentamente en el líquido intersticial (Flarend et al, 1997).

Los antígenos purificados no son, por lo general, suficientemente fuertes inmunogénicamente, por lo que la mayoría de las vacunas no celulares y muertas requieren ser adicionadas con adyuvantes. Se piensa que la mayoría, sino es que todos los adyuvantes, actúan sobre las células presentadoras de antígenos, especialmente sobre las células dendríticas. Estas células están ampliamente distribuidas en el cuerpo, en donde actúan como centinelas para detectar patógenos potenciales desde su punto de entrada. Las células dendríticas tisulares engloban antígenos de su ambiente por fagocitosis y por macropinocitosis, y responden a la infección migrando al tejido linfático y presentando los antígenos englobados a las células T (Thacker, 2003).

Las células dendríticas detectan la presencia de patógenos de dos maneras:

- 1) DIRECTA: utilizando receptores específicos en sus superficies, los cuales se unen a las bacterias y otros microorganismos.
- 2) INDIRECTA: mecanismo en el que organismos invasores estimulan a las células dendríticas e involucra su activación a través de señales de las citoquinas, derivadas de una respuesta inflamatoria iniciada por la infección (Thacker, 2003).

Los adyuvantes "engañan" al sistema inmune para que este responda como si estuviera bajo una infección activa y, tal como diferentes tipos de agentes infecciosos estimulan diferentes tipos de reacciones inmunes, diferentes adyuvantes pueden promover diferentes tipos de respuesta, ya sea una respuesta inflamatoria tipo Th1, o una respuesta por anticuerpos (Thacker, 2003).

Al estimular la inflamación y a las células dendríticas, se amplía la respuesta inmune, que tiene lugar en los nódulos linfáticos. Típicamente, el antígeno está unido a pequeñas gotas, ya sean de aceite o de sal, lo que incrementa su ingestión por parte de los macrófagos y las células dendríticas. Muchos adyuvantes tienen incorporados elementos estériles constitutivos de bacterias, especialmente, paredes celulares. Tanto los macrófagos como las células dendríticas poseen receptores específicos que reconocen componentes de bacterias, lo que resulta en una respuesta inmune rápida e intensa (Thacker, 2003).

Por ello es importante establecer un plan de vacunación, en el que se expresen los intervalos de tiempo que deban transcurrir entre las inoculaciones de la inmunización básica y las revacunaciones o dosis de recuerdo, todo ello para conseguir una sólida inmunidad (Brunner et al, 2002).

INMUNOLOGIA.

La respuesta inmune es inducida por un antígeno concreto que genera una respuesta para ese antígeno. Se pone en marcha tras el termino de la respuesta natural y sus primeras acciones comienzan ha observarse entre las 96 y las 120 horas post infección. Los agentes extraños o antígenos, no eliminados durante la respuesta natural, son llevados por los macrófagos desde la puerta de entrada hasta los órganos linfoides secundarios (ganglios linfáticos) donde las células presentadoras comenzaran el procesamiento del antígeno para iniciar la presentación a los linfocitos T CD 4+ y CD 8+ (Tizard, 1998) y la estimulación de los linfocitos B y T, el linfocito B también expone en su membrana, asociados a las moléculas HLA- II, pequeños péptidos que son reconocidos por aquellos linfocitos Th que hayan aprendido a hacerlo en la membrana del macrófago, gracias a la cooperación de los linfocitos Th 2 y para la posterior producción de anticuerpos; la IgM de membrana, lo endocita y procesa de igual manera que las células presentadoras de antígeno. Este tipo de respuesta puede ser primaria o secundaria. Durante la respuesta primaria se producirán los linfocitos de memoria, que permitirán al sistema inmune reaccionar de forma más rápida y eficaz, ante otra posible infección del mismo antígeno en la respuesta secundaria. Gracias a este tipo de respuesta inmune los animales vencen las infecciones que no han podido ser cortadas por la respuesta inmune natural y gracias a la memoria que persiste les puede hacer resistentes a futuras reinfecciones (Faine, 1994; Margni, 1997; Tizard, 1998 y www.sanidadanimal.info/inmuno/septimo1.htm)

Como se ha descrito la respuesta inmune especifica se inicia cuando un antígeno se hace presente por primera vez en un vertebrado inmunológicamente maduro y es la denominada respuesta primaria. El proceso se inicia con unos pocos linfocitos que poseen receptores los cuales, gracias a su enorme diversidad, pueden reconocer cualquier material extraño.

Con un nuevo estímulo antigénico tiene lugar la denominada respuesta secundaria, por la que esas células con memoria inmunológica que por tener una especificidad definida o sea que ya reconocieron una vez al antígeno y por integrar una población más numerosa que la primera, forman anticuerpos en mayor cantidad y más rápidamente que en la respuesta primaria. Este es, en esencia, el mecanismo molecular que explica el éxito de las vacunas, el individuo recibe el patógeno muerto o atenuado y establece una respuesta primaria. Cuando sobreviene la infección, las células con memoria reaccionan rápidamente y eliminan al agente agresor (Margni, 1997 y Tizard, 1998)

El sistema inmunitario responde a la presencia del antígeno y suprime esa respuesta una vez que es eliminado. Cuando el antígeno se mezcla con un adyuvante y se inyecta al animal, se forma un granuloma rico en macrófagos en los tejidos. El antígeno dentro de este granuloma se libera lentamente, y de tal modo proporciona un estímulo antigénico prolongado (Tizard, 1998).

Al entrar en contacto el antígeno con el sistema inmune se inicia una respuesta en este caso de tipo humoral la cual se caracteriza por a) un periodo de latencia en el cual las células responsables de presentar al antígeno y activar el linfocito B para su diferenciación en células plasmáticas están reaccionando, b) periodo o fase logarítmica, los linfocitos B activados se diferencian en células plasmáticas y producen inmunoglobulinas durante el periodo que dure el estímulo, c) meseta, al desaparecer o disminuir el estímulo las inmunoglobulinas persisten lo que dura su vida media y d) empieza a decaer la curva persistiendo solo células de memoria para un segundo contacto (Tizard, 1998).

Durante el proceso de estimulación de los linfocitos para convertirse en células plasmáticas o efectoras de inmunidad celular se forman los linfocitos de memoria que poseen vida media variable que se ha determinado que dura desde los 6 meses a 5 años y en ocasiones más tiempo (OIE, 1992 y Faine, 1994).

Se llama respuesta inmune humoral porque se caracteriza por la producción de anticuerpos y el responsable de este tipo de respuesta es el linfocito B mientras que la respuesta de tipo celular como su nombre lo dice se activa con las células (linfocito T) que liberan citocinas (Faine, 1994 y www.sanidadanimal.info/inmuno/septimo1.htm)

Por lo tanto es indispensable conocer el perfil serológico de los anticuerpos de animales vacunados, enfermos y portadores sanos con problemas reproductivos y las serovariedades que están afectando, para tener mejor control de esta enfermedad y así disminuir los costos de producción por animal y el riesgo como zoonosis.

MODELO DE ANIMAL.

Como ya se ha establecido se sigue utilizando tradicionalmente como animal de modelo experimental al conejo, debido a su fácil manipulación pero sobre todo a su buena respuesta inmune humoral.

METODOLOGIA UTILIZADA.

Elaboración de las bacterinas.

En un tubo de 20 ml se agregan 18 ml del medio de cultivo de Cox, 1 ml de suero de conejo y 1 ml de la serovariedad. Las serovariedades utilizadas fueron grippotyphosa, pomona tarassovi, bratislava, portland vere cepa Sinaloa ACR*, hardjo cepa H-89* e icterohaemorrhagiae cepa Palo Alto* dejando los tubos en la estufa de 28 a 37°C durante 7 días aproximadamente (Myers, 1985; González et al, 1990 y Meléndez, 1997).

*Aislamientos mexicanos.

Se realizaron 3 bacterinas preparándolas a partir de cultivos puros, se toman 5 ml de cada una de las 7 serovariedades para un total de 35 ml; luego se inactiva las bacterias con formol al 10% y posteriormente se centrifuga a 15,000 rpm durante 20 min., realizando dos lavados mas para remover todas las proteínas extrañas o ajenas a este y remover los restos de formol del paquete celular.

Posteriormente se agregan 30 ml de Solución Buffer Fosfatada (PBS) a los 35 ml de las serovariedades para tener un total de 65 ml y agregar 20 ml en cada frasco añadiendo al final hidróxido de aluminio en gel como adyuvante en diferentes concentraciones que son 5% (1 ml), 10% (2 ml) y 20% (4 ml) quedando de la siguiente manera:

- ◆ Bacterina 1 – lote A con 5%.
- ◆ Bacterina 2 – lote B con 10%.
- ◆ Bacterina 3 – lote C con 20%.

Animales.

Se utilizaron 3 lotes de 5 animales cada uno denominados A, B y C. Cada lote esta compuesto por conejos de la raza Nueva Zelanda con un peso aproximado de 2.3 Kg.

Esquema de vacunación.

Los animales fueron sangrados por la vena marginal de la oreja cada 15 días mediante goteo, colectando 3 ml de sangre en tubos. Se obtiene el presuero y se aplica 1 ml de la bacterina experimental heptavalente por vía intramuscular procurando no tocar o lastimar el nervio ciático; en el día 1, el día 15 y 3 meses después (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Calendario de muestreo serológico e inoculaciones.

	LOTE A	LOTE B	LOTE C
PRESUERO	(1) 04 - 02 - 04 1ra. Inoculación *	(1) 04 - 02 - 04 1ra. Inoculación *	(1) 18 - 02 - 04 1ra. Inoculación *
1. SANGRADO	(14) 18 - 02 - 04 2da. Inoculación*	(14) 18 - 02 - 04 2da. Inoculación*	(14) 03 - 03 - 04 2da. Inoculación*
2. SANGRADO	(27) 03 - 03 - 04	(27) 03 - 03 - 04	(28) 18 - 03 - 04
3. SANGRADO	(50) 25 - 03 - 04	(50) 25 - 03 - 04	(45) 03 - 04 - 04
4. SANGRADO	(77) 21 - 04 - 04	(77) 21 - 04 - 04	(63) 21 - 04 - 04
5. SANGRADO	(92) 06 - 05 - 04	(92) 06 - 05 - 04	(78) 06 - 05 - 04
6. SANGRADO	(106) 20 - 05 - 04 3ra. Inoculación *	(106) 20 - 05 - 04 3ra. Inoculación *	(92) 20 - 05 - 04 3ra. Inoculación *
7. SANGRADO	(120) 03 - 06 - 04	(120) 03 - 06 - 04	(106) 03 - 06 - 04
8. SANGRADO	(134) 17 - 06 - 04	(134) 17 - 06 - 04	(120) 17 - 06 - 04
9. SANGRADO	(148) 01 - 07 - 04	(148) 01 - 07 - 04	(134) 01 - 07 - 04
10. SANGRADO	(162) 15 - 07 - 04	(162) 15 - 07 - 04	(148) 15 - 07 - 04

* inoculaciones después de cada sangrado.

Obtención del suero y determinación de anticuerpos.

Una vez recolectadas las muestras de sangre se transportaron al Laboratorio de *Leptospira* de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco; la sangre obtenida se centrifuga a 1500 rpm durante 15 min., después el suero se pasa a los viales previamente marcados y se conservan en congelación a -20°C hasta el momento de efectuar la valoración de anticuerpos (González et al, 1990 y Meléndez, 1997)

La evaluación se realizó mediante la técnica de aglutinación microscópica (AM); realizándose diluciones dobles de suero a partir de una dilución 1:10 y teniendo diluciones finales del suero de 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, etc., se incluyen los controles negativos, se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente en una cámara húmeda y posteriormente se hace la lectura por medio de la microscopía de campo oscuro (González et al, 1990 y Meléndez, 1997).

ACTIVIDADES REALIZADAS

- ❖ **Búsqueda de literatura referente a la Leptospira, vacunas, respuesta inmune humoral y adyuvantes; utilizando diferente tipo de material bibliográfico como artículos científicos, libros, seminarios, tesis, memorias, etc.**
- ❖ **La recepción de los conejos (hembras) de la raza Nueva Zelanda para aclimatarlos previamente al bioterio.**
- ❖ **Limpieza del bioterio y suministro de igual cantidad y calidad de agua y alimento a los conejos diariamente durante el periodo de trabajo.**
- ❖ **Se aplicaron a los conejos 3 inmunizaciones contra leptospirosis con diferentes concentraciones de Hidróxido de Aluminio en gel.**
- ❖ **Se hizo la obtención de muestras cada 15 días antes y después de cada inoculación.**
- ❖ **Se realizó la evaluación de la respuesta inmune humoral mediante la técnica de aglutinación microscópica que se llevo a cabo en el Laboratorio de Leptospira de la UAM-X.**
- ❖ **Una vez recabada la información se discutió y razono con los asesores, siendo analizada y comparada con los resultados obtenidos.**

OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

- ✓ Se observó que con el empleo de concentraciones bajas del hidróxido de aluminio en gel como adyuvante son adecuadas para obtener una buena respuesta inmune humoral.

- ✓ De acuerdo a la cepa H-89 se mostró como seroreactor negativo y aun después de la tercera inoculación no se detectaron anticuerpos circulantes.

- ✓ Se determinó que la capacidad de la respuesta inmunológica es individual; sin embargo, se observa un comportamiento semejante en los conejos de cada grupo ante las distintas serovariedades.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la prueba serologica de aglutinación microscópica de cada conejo se presentan por lote a continuación:

LOTE A CON 5%.

Tabla 2. Conejo 1 título de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	----	----	1:20	1:40	1:20	----	1:20	1:20	----	----
Pomona	---	1:40	1:80	1:40	1:80	1:20	----	----	1:20	1:80	----
Tarassovi	---	1:160	1:640	1:160	1:160	1:160	1:80	1:160	1:160	1:160	1:40
Bratislava	---	1:160	1:80	1:80	1:160	1:40	----	1:40	1:20	----	----
Sinaloa ACR	---	1:80	1:160	1:160	1:160	1:80	----	1:40	1:20	1:20	----
H-89	---	----	1:40	----	1:40	----	----	----	----	----	----
Palo Alto	---	1:40	1:40	1:160	1:20	----	----	----	----	----	----

Tabla 3. Conejo 2 título de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	1:20	1:20	1:80	1:80	1:20	---	1:40	1:40	1:40	1:40
Pomona	---	1:80	1:160	1:160	1:40	1:20	---	1:40	1:80	1:80	1:40
Tarassovi	---	1:160	1:1280	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160
Bratislava	---	1:80	1:160	1:160	1:80	---	---	1:80	1:80	1:40	---
Sinaloa ACR	---	1:80	1:80	1:160	1:80	1:40	---	1:40	1:20	1:20	---
H-89	---	---	1:40	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:80	1:80	1:160	---	---	---	---	---	---	---

Tabla 4. Conejo 3 título de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	----	1:40	1:160	1:160	1:20	1:20	1:80	1:40	1:40	1:40
Pomona	---	----	1:160	1:160	1:40	1:40	----	1:40	1:80	1:40	----
Tarassovi	---	1:80	1:320	1:160	1:160	1:160	1:80	1:160	1:160	1:160	1:80
Bratislava	---	1:20	1:160	1:160	1:160	1:20	1:20	1:80	1:40	1:20	----
Sinaloa ACR	---	----	1:40	1:160	1:80	1:80	1:20	1:80	1:80	1:40	1:20
H-89	---	----	1:80	1:160	1:40	----	----	----	----	----	----
Palo Alto	---	----	1:80	1:160	1:20	----	----	1:20	1:40	1:20	----

Tabla 5. Conejo 4 titulo de anticuerpos encontrados.

SANGRADOS											
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	---	1:20	1:40	1:80	1:20	---	1:40	1:20	1:20	1:20
Pomona	---	1:20	1:160	1:160	1:40	---	---	1:40	1:80	1:40	---
Tarassovi	---	1:40	1:640	1:160	1:80	1:40	1:40	1:160	1:40	1:40	1:40
Bratislava	---	1:40	1:160	1:160	1:80	---	---	1:160	1:40	---	---
Sinaloa ACR	---	1:20	1:80	1:160	1:80	1:20	---	1:160	1:40	1:20	---
H-89	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	---	1:160	1:160	---	---	---	1:40	---	---	---

Tabla 6. Conejo 5 titulo de anticuerpos encontrados.

SANGRADOS											
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	---	1:20	1:40	1:80	1:20	---	1:80	1:20	1:20	---
Pomona	---	1:80	1:320	1:160	1:160	1:80	---	1:80	1:160	1:160	1:40
Tarassovi	---	1:80	1:1280	1:160	1:160	1:160	1:80	1:160	1:160	1:160	1:160
Bratislava	---	1:160	1:320	1:160	1:160	1:80	1:20	1:160	1:160	1:40	1:40
Sinaloa ACR	---	1:80	1:160	1:160	1:160	1:160	1:80	1:160	1:160	1:80	1:40
H-89	---	---	1:80	1:40	1:40	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:80	1:160	1:160	1:160	1:40	---	1:80	1:80	1:80	1:40

LOTE B CON 10%.

Tabla 7. Conejo 1 titulo de anticuerpos encontrados.

SANGRADOS											
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	---	1:40	1:40	1:160	1:80	1:20	1:40	1:40	1:40	1:20
Pomona	---	1:80	1:80	1:80	1:20	---	---	---	---	---	---
Tarassovi	---	1:160	1:1280	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:80
Bratislava	---	1:80	1:320	1:160	1:80	1:40	1:20	1:20	1:20	---	---
Sinaloa ACR	---	1:80	1:160	1:160	1:80	1:40	1:40	1:40	---	---	---
H-89	---	---	1:80	1:20	1:40	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:80	1:80	1:160	---	---	---	---	---	---	---

Tabla 8. Conejo 2 titulo de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	—	1:20	----	1:80	1:160	1:80	1:80	1:80	1:40	1:20	1:20
Pomona	---	1:80	1:80	1:80	1:80	1:40	1:40	1:40	1:160	1:80	---
Tarassovi	—	1:80	1:640	1:160	1:160	1:160	1:80	1:80	1:160	1:40	1:40
Bratislava	---	1:80	1:320	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:80	1:40	1:20
Sinaloa ACR	—	1:80	1:80	1:160	1:160	1:80	1:80	1:80	1:160	1:40	1:40
H-89	—	---	1:40	---	1:40	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	—	1:40	1:80	1:160	1:40	1:40	---	1:20	1:80	1:80	---

Tabla 9. Conejo 3 titulo de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	—	---	---	---	---	---	---	1:20	---	---	---
Pomona	—	1:20	1:80	1:40	---	---	---	---	1:20	1:20	---
Tarassovi	—	1:160	1:320	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:80
Bratislava	—	1:40	1:40	1:160	1:20	---	---	1:20	1:20	1:20	---
Sinaloa ACR	—	1:40	1:80	1:80	1:80	---	---	1:20	1:40	---	---
H-89	—	---	---	---	1:20	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	—	1:20	1:40	1:160	---	---	---	---	1:20	1:20	---

Tabla 10. Conejo 4 titulo de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	1:20	---	---	1:40	---	---	---	---	---	---
Pomona	---	1:160	---	1:20	1:80	1:20	---	---	1:40	1:20	---
Tarassovi	---	1:160	1:320	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160
Bratislava	---	1:160	1:80	1:160	1:160	1:80	1:40	1:40	1:40	1:20	1:20
Sinaloa ACR	---	1:160	1:40	1:160	1:160	1:160	1:40	1:40	1:80	---	---
H-89	---	---	1:20	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:80	---	1:160	1:40	1:20	---	---	1:20	1:20	---

Tabla 11. Conejo 5 titulo de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	---	NT	---	---	---	---	---	---	---	---
Pomona	---	1:40	NT	1:160	1:80	---	---	---	---	---	---
Tarassovi	---	1:160	NT	1:160	1:160	1:80	1:40	1:160	1:160	1:80	1:40
Bratislava	---	1:80	NT	1:160	1:160	---	---	---	---	---	---
Sinaloa ACR	---	1:80	NT	1:160	1:20	---	---	---	---	---	---
H-89	---	---	NT	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:40	NT	1:160	---	---	---	---	---	---	---

LOTE C CON 20%

Tabla 12. Conejo 1 titulo de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	---	1:20	1:20	1:20	1:40	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20
Pomona	---	1:40	1:40	1:80	1:160	---	---	1:20	1:20	1:20	---
Tarassovi	---	1:80	1:1280	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160
Bratislava	---	1:160	1:80	1:160	1:160	1:20	1:20	1:20	1:40	1:20	---
Sinaloa ACR	---	1:80	1:160	1:160	1:80	1:40	1:20	1:40	1:20	---	---
H-89	---	---	1:160	1:80	1:20	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:20	1:160	1:160	1:40	---	---	---	---	---	---

Tabla 13. Conejo 2 titulo de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Pomona	---	---	1:80	1:160	1:80	1:20	---	---	---	---	---
Tarassovi	---	1:80	1:640	1:160	1:160	1:80	1:40	1:160	1:160	1:40	1:20
Bratislava	---	1:160	1:160	1:160	1:160	1:40	1:40	1:40	---	---	---
Sinaloa ACR	---	1:40	1:80	1:160	1:160	1:40	1:40	1:40	1:40	---	---
H-89	---	---	1:40	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:20	1:80	1:40	1:40	---	---	---	---	---	---

Tabla 14. Conejo 3 titulo de anticuerpos encontrados.

	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	---	---	1:20	---	---	---	---	1:20	1:40	---
Pomona	---	1:20	---	1:40	1:20	---	---	1:20	1:40	---	---
Tarassovi	---	---	1:40	1:160	1:80	1:80	1:20	1:160	1:160	1:80	1:40
Bratislava	---	1:40	1:40	1:40	1:20	---	---	---	---	---	---
Sinaloa ACR	---	1:20	---	1:40	1:40	---	---	1:80	1:20	---	---
H-89	---	---	1:40	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	---	---	1:40	---	---	---	---	---	---	---

Tabla 15. Conejo 4 titulo de anticuerpos encontrados.

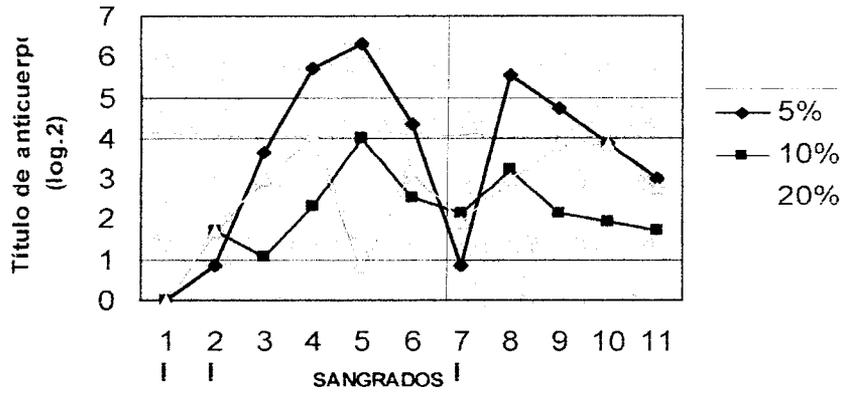
	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	1:20	1:80	1:80	---	1:40	---	1:20	1:20	1:20	1:20
Pomona	---	1:40	1:320	1:160	1:160	1:20	1:40	1:80	1:80	1:80	1:40
Tarassovi	---	1:160	1:1280	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160
Bratislava	---	1:160	1:160	1:160	1:160	1:20	1:160	1:160	1:80	1:40	---
Sinaloa ACR	---	1:80	1:320	1:160	1:160	1:160	1:40	1:80	1:160	1:40	---
H-89	---	1:80	1:40	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:40	1:160	1:160	1:80	1:40	1:20	1:40	1:80	---	---

Tabla 16. Conejo 5 titulo de anticuerpos encontrados.

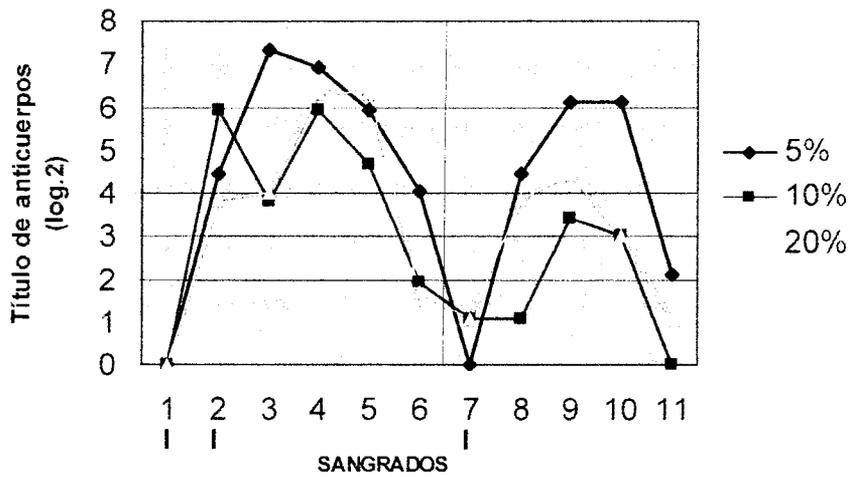
	SANGRADOS										
	P S	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Grippotyphosa	---	1:20	1:20	1:40	---	1:40	1:40	1:80	1:80	1:40	1:40
Pomona	---	1:20	---	1:40	1:80	---	---	1:20	1:80	1:20	---
Tarassovi	---	1:160	1:80	1:160	1:80	1:160	1:160	1:160	1:160	1:40	1:40
Bratislava	---	1:80	1:160	1:160	1:40	1:20	1:40	1:80	1:20	1:20	---
Sinaloa ACR	---	1:80	---	1:80	1:40	1:40	1:40	1:80	1:40	---	---
H-89	---	---	1:40	---	---	---	---	---	---	---	---
Palo Alto	---	1:20	---	1:40	---	1:20	---	---	---	---	---

Los resultados de los títulos de anticuerpos encontrados se transformaron en base logaritmo 2 para realizar las gráficas de la cinética de la respuesta inmune humoral (Ver Gráficas 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7)

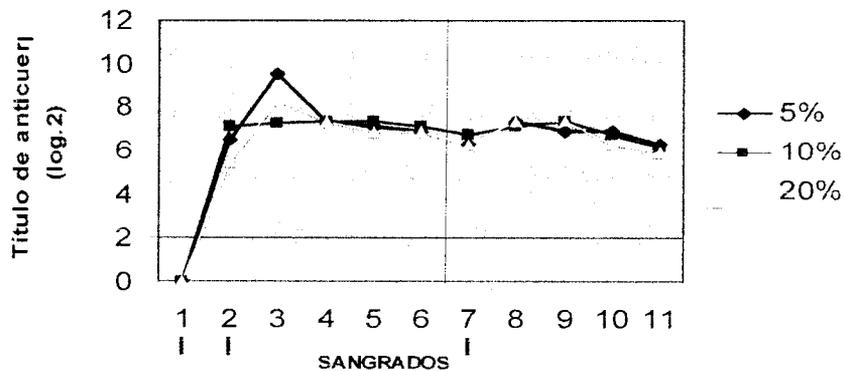
Gráfica 1. Comportamiento de los anticuerpos vacunales de la serovariedad Grippotyphosa.



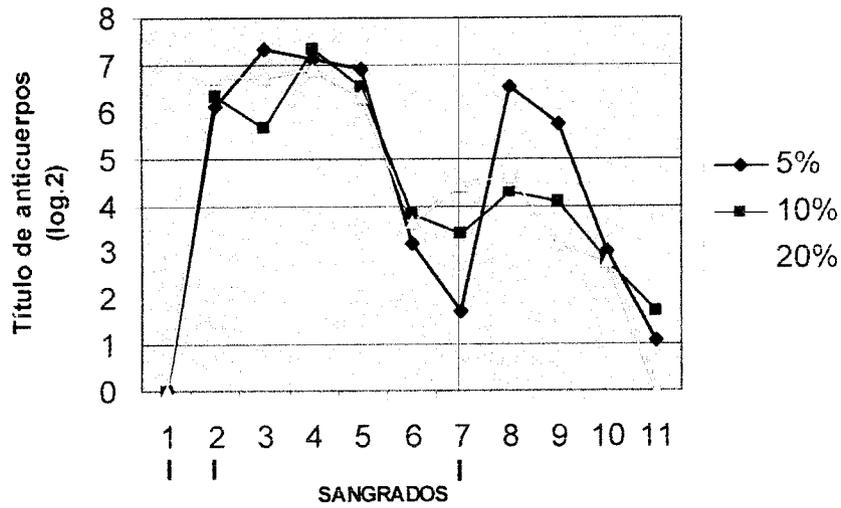
Gráfica 2. Comportamiento de los anticuerpos vacunales de la serovariedad Pomona.



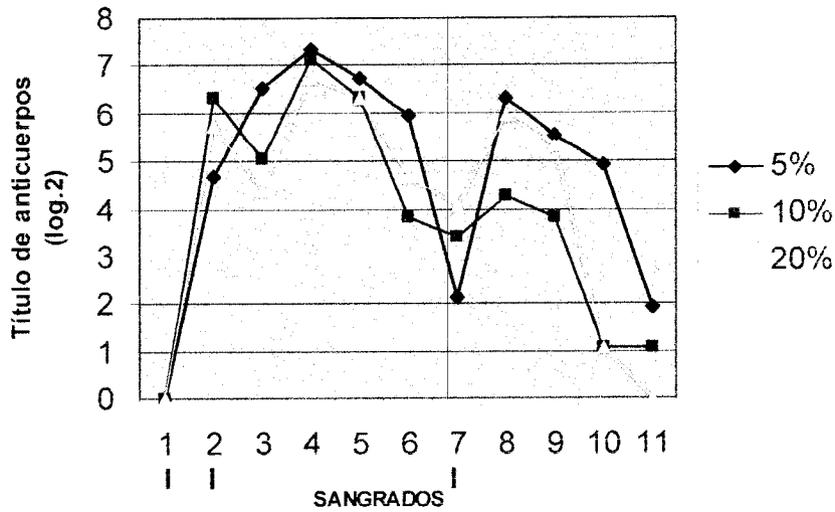
Gráfica 3. Comportamiento de los anticuerpos vacunales de la serovariedad Tarassovi.



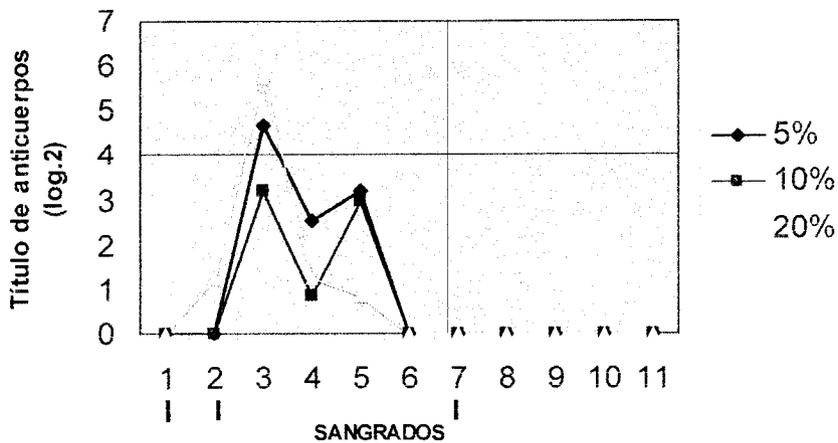
Gráfica 4. Comportamiento de los anticuerpos vacunales de la serovariedad Bratislava.



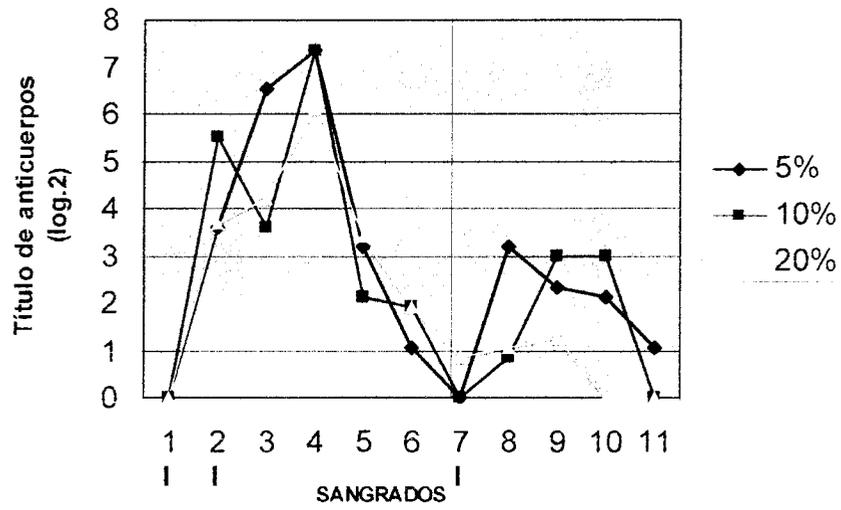
Gráfica 5. Comportamiento de los anticuerpos vacunales de la serovariedad portland-vere cepa Sinaloa ACR.



Gráfica 6. Comportamiento de los anticuerpos vacunales de la serovariedad hardjo cepa H-89.



Gráfica 7. Comportamiento de los anticuerpos vacunales de la serovariedad icterohaemorrhagiae cepa Palo Alto.



I = Inoculación.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN.

Los resultados hallados indican que, para el modelo experimental presente, se produce un incremento de la respuesta inmune humoral.

Las tres bacterinas fueron capaces de establecer una respuesta inmune. Las diferentes concentraciones de hidróxido de aluminio favorecieron dicha respuesta.

Sin embargo, puede observarse una tendencia de una respuesta mayor en grippotyphosa, en títulos de anticuerpos, cuando se utilizó el 5%.

Con relación a los títulos alcanzados estas presentan estabilidad hasta el día 92 en el cual inicia el descenso de los títulos.

La capacidad de la respuesta inmunológica es individual; sin embargo, se observa un comportamiento semejante en los conejos de cada grupo ante las distintas serovariedades.

Así se muestra que la serovariedad Tarassovi es capaz de estimular una producción de anticuerpos más elevada y por tiempo más prolongado, mientras que la cepa H-89 se muestra como seroreactor negativo y aun después de la tercera inoculación no se detectaron anticuerpos circulantes.

Algunas vacunas elaboradas en Cuba para la prevención de la Salmonelosis emplean entre 20 y 40% de hidróxido de aluminio en gel, mientras que en este estudio la adición de 5 % de este adyuvante parece ser adecuada, probablemente porque el lipopolisacárido de la leptospira es un buen inmunógeno, lo que puede explicar que concentraciones más elevadas no produzcan títulos de anticuerpos mayores (www.ocpt.cu/doc/1996/t1595).

Tiene gran importancia el adyuvante de Hidróxido de Aluminio; influyendo principalmente sobre la respuesta inmune primaria ya que actúan en el momento determinado y permitiendo una liberación lenta y paulatina, por lo cual prolonga el estímulo del antígeno y la falta de este no tendría el resultado esperado debido a que no respondería satisfactoriamente.

La bacterina experimental mostró resultados positivos pudiéndose utilizar como una vacuna eficaz para controlar y/o prevenir la enfermedad de la Leptospirosis.

Se concluye que siendo el conejo un modelo biológico adecuado, los resultados obtenidos en este trabajo pueden ser aplicables a otras especies animales. Por lo tanto, el empleo de concentraciones bajas del hidróxido de aluminio en gel como adyuvante son adecuadas para obtener una buena respuesta inmune de tipo humoral.

RECOMENDACIONES.

Cabe mencionar que se requieren más estudios de esta bacterina experimental, pudiendo aplicarse a diferentes especies, ambos sexos y en cada una de las distintas etapas, porque no en todos los animales hay una respuesta similar debido a que cada uno tiene diferente sistema inmune.

Es posible que la vacuna sólo induzca una protección parcial o temporal, por eso sería conveniente inmunizarlos contra las serovariedades existentes en el medio que los rodea para poder disminuir el riesgo de una zoonosis y establecer un plan de vacunación, en el que se expresen los intervalos de tiempo que deben transcurrir entre las inoculaciones de la inmunización básica y las revacunaciones, todo ello para conseguir una sólida inmunidad (Brunner et al, 2002)

La mayoría de los casos que se han encontrado de Leptospirosis en humanos se deben a la relación o contacto que existe con los animales que están aparentemente sanos y que eliminan a través de la orina; de forma que la elaboración de vacunas que puedan prevenir la Leptospirosis en los animales podrá resultar de suma importancia.

REFERENCIAS.

- Alonso-Andicoberry C., García-Peña F.J. y Ortega-Mora L.M. 2001. Epidemiología, Diagnóstico y control de la leptospirosis bovina (Revisión). Invest. Agr.:Prod. Sanid. Anim. Vol.16(2):205-225.
- Alves S.F., LeFebvre R., Probert W. 2000. Amino Acid Sequences of Proteins from *Leptospira* Serovar pomona. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Río de Janeiro, Vol.95(4):503-504.
- Blood D.C., Radostits O.M., Gay C.C. y Hinchcliff K.W. 2000. Veterinary Medicine. 9ª. Edición. Editorial W.B. Saunders Company Ltd. pp. 971-985
- Bodewes J. 2000. Leptospirosis. 28 de Mayo del 2003. <http://www.PetEducation.com>
- Brunner R., Danner K., Jungback C., Lemke I., Moos M., Selbitz H.-J. Y Truyen U. 2002. Vacunación de los Animales Domésticos. Edit. Acribia S.A. Zaragoza (España) pp. 1-18.
- Carter G.R. y Chengappa M.M. 1994. Bacteriología y Microbiología Veterinaria, Aspectos Esenciales. Ed. Manual Moderno S.A. de C.V. Méx. pp. 9-405.
- Ellis W. 2001. Leptospirosis: vacunas y vacunación en bovinos. Folleto Técnico No. 3 INIFAP-CENID-MICRO. Octubre.
- Ellis W. 2004. Bovine Leptospirosis: Cost, Treatment and Control. "Simposio Internacional sobre *Leptospira* y Leptospirosis en las Américas, México 2004".
- Faine S. 1994. *Leptospira and Leptospirosis*. Ed. CRC Press. Australia. pp. 1-323.
- Flarend R.E.; Hem S.L.; White J.L.; Elmore D.; Suckow M.A.; Rudy A.C. and Dandashli E.A. 1997. *In vivo* absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using Al. Vaccine Vol. 15, No. 12-13, pp. 1314-1318.
- Gavaldón R.D.G. 2004. Leptospirosis Humana: Patogenia, Cuadros Clínicos: Forma Severa y Forma Moderada. "Simposio Internacional sobre *Leptospira* y Leptospirosis en las Américas, México 2004".
- Gay G.J. 1995. Programa de Aprobación de Médicos Veterinarios Zootecnistas. Manual de Actualización sobre Enfermedades Exóticas de los Animales, su Prevención, Detección y Combate. Edit. SAGARPA. pp. 5-85.
- González G.J.A., Tamayo S. y Machado A. 1990. Leptospirosis. Ed. CIDA. La Habana, Cuba. pp. 5-66
- Goto N.; Kato H.; Maeyama J.; Shibano M. ; Saito T.; Yamaguchi J. and Yoshihara S. 1997. Local tissue irritating effects and adjuvant activities of calcium phosphate and aluminium hydroxide with different physical properties. Vaccine Vol. 15, No. 12-13, pp. 1364-1371.

- Herbert W.J. 1972. Inmunología veterinaria. Ed. Acribia, Zaragoza España.
- Levett N.P. 2003. Usefulness of Serologic Analysis as a Predictor of the Infecting Serovar in Patients with Severe Leptospirosis. *Clinical Infectious Diseases*. 36: 447-452.
- Levitan MD. 1998. ¿LEPTOSPIROSIS?. 12 de Marzo del 2003. www.forddodge.com.mx/pequenas/rev19/temas.htm.
- Luna Alvarez M., Moles y Cervantes L.P., Torres Barranca J., Salazar García F., Urrutia Velázquez R.M. y Nava Vázquez C. 2004. Leptospirosis Canina. "Simposio Internacional sobre Leptospira y Leptospirosis en las Américas, México 2004".
- Margni R.A. 1997. La Respuesta Inmune. *Revista de Divulgación y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy*. Vol. 6 No. 36.
- Matos S.C.C., Giongo V., Simpson J.G., Da Silva C.E.R., Silva J.L. y Cota K. Matilde. 2001. Effects of hydrostatic pressure on the *Leptospira interrogans*: high immunogenicity of the pressure – inactivated serovar hardjo. *Vaccine* 19:1511-1514.
- Matsuo K., Isogai E. Y Araki Y. 2000. Control of immunologically crossreactive Leptospiral infection by administration of lipopolysaccharides from a nonpathogenic strain of *Leptospira biflexa*. *Microbiol. Immunol.* 44(11) 887-890.
- Mecanismos de activación de la respuesta inmune. Respuesta natural y adquirida <http://www.sanidadanimal.info/inmuno/septimo1.htm>. 1997.
- Meléndez V.P. 1997. Prueba de Aglutinación Microscópica, Procedimiento y Valor Diagnóstico. *Memorias del 1er. Seminario – Taller Nacional sobre el Diagnóstico y Control de la Leptospirosis*.
- Merck. 1993. *Manual Merck de Veterinaria*. 5a. edición. Océano - Centrum. Barcelona, España.
- Moles C.L.P., Urrutia V.R.M., Diosdado V.F., Morilla G.A. 1998. Frecuencia de *Leptospira Interrogans* en Unidades de Producción Porcina del Antiplano de México. *Vet. Méx.* 29(1)49-52.
- Moles C.L.P., Cisneros P.M.A., Gavaldón R.D.G., Luna A. M. y Torres I.J. 2002. Estudio Retrospectivo de Leptospirosis Porcina en la Zona Porcícola del Bajío. *Memorias del Seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne, UAM-X*.
- Moles C.L.P. 2004. Leptospirosis Porcina. Experiencias en un Brote de Leptospirosis Porcina. "Simposio Internacional sobre Leptospira y Leptospirosis En las Américas, México 2004"

- Muñoz M. y Caballero M. 2002. Leptospirosis. www.urc.ac.cr/gacetapc/Leptospirosis.html pp.1-4.
- Myers M.D. 1985. Manual de Métodos para el Diagnóstico de Laboratorio de la Leptospirosis. OPS. Mendoza, Argentina. pp. 7-26.
- Nally J.E., Artiushin S. y Timoney J.F. 2001. Molecular characterization of thermoinduced immunogenic proteins Q1p42 and Hsp15 of *Leptospira interrogans*. Infection and Immunity. Vol.69 No.12 pp. 7616-7624
- Ochoa E.J. Sánchez A. y Ruiz I. 2001. Epidemiología de la Leptospirosis en una Zona Andina de Producción Pecuaria. Rev. Infección de la Asociación Colombiana de infectología. Vol.5 No.2 ACNI.
- OIE. 1992. Manual of standards for diagnostic test o vaccines. pp. 186-196.
- Pérez P.G.J. 1990. Leptospirosis Reporte de un Caso. Rev. Porcinotas pp.8-10
- Postic D., Meriam E., Perolat P. y Baranton G. 2000. Biological Diagnosis Leptospirosis – Lyme Borreliosis. Edit. Institute Pasteur. Serie Méthods de Laboratoide. 2da. Edición.
- Rocha T. 1998. Panorámica de la Leptospirosis en Granjas Pecuarias de Portugal. Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz. 17(3):699-712.
- Rojas S.N. 1997. Epidemiología de la Leptospirosis. Memorias del 1er. Seminario – Taller Nacional sobre el Diagnóstico y Control de la Leptospirosis.
- Rosentein S.E. 2000. Prontuario de Especialidades Veterinarias. Farmacéuticas Biológicas y nutricionales. Edit. PLM 20ª edición.
- Salado J.L., Cepero O., González J.A., Llorens F., Saenz C. Lazo L., Jiménez R. 1997. Prevalencia de Anticuerpos Leptospirales en Varias Especies de Animales de la Provincia de Villa Clara. Su Repercusión en el Entorno y Medio Ambiente. Instituto de Medicina Veterinaria, Villa Clara. Cuba.
- Saravi M.A., De Mazzonelli G.D. y Mazzonelli J.M. 1984. Análisis y Evaluación de la Metodología de Diagnostico, Prevención y Control de la Leptospirosis. Situación Nacional e Internacional. Ed. Informe producido por la Comisión Científica sobre Leptospirosis de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. pp. 7-14.
- Scancan C.M. 1991. Introducción a la Bacteriología Veterinaria. Ed. Acribia-Zaragoza España.pp.185-190.
- Scanziani E., Origgi F., Giusti A.M., Iacchia G., Vasino A., Pirovano G., Scarpa P. y Tagliabue S. 2002. Serological survey of leptospiral infection in kennelled dogs in Italy. Journal of Small Animal Practice 43, 154-157.

- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Norma Oficial Mexicana. NOM-038-ZOO-1995. Requisitos Mínimos para las Bacterinas empleadas para la Prevención y Control de la Leptospirosis Bovina. Diario Oficial. México D.F., 5 de Agosto de 1996:38-41.
- Sonnier C., Branger C., Michel V., Ruvoen-Clouet N., Ganiere J.P. y Andre-Fontaine G. 2001. Evidence of cross-protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. *Vaccine* 19:86-94.
- Stites D.P. 1996. Inmunología básica y clínica. Ed. Manual Moderno. México. pp. 67-878
- Thacker E. 2003. Adyuvantes Vacunales. Revista Los Porcicultores y su Entorno. Año 6 No.34. Julio-Agosto. pp. 14-15.
- Tizard I.R. 1998. Inmunología Veterinaria. 5a. edición. Ed. Interamericana McGraw-Hill, México.
- Torres B.J.I., Acevedo G.E., Cisneros P.M.A., Moles y C.L.P. y Gavaldón R.D.G. 1999. Recuperación de una Cepa de *L. Icterohaemorrhagiae* a partir del Tracto Genitourinario de Lechones infectados Experimentalmente. Memorias de la X Semana de la Investigación Científica en la UAM-Xochimilco, México D.F.
- Torres B.J.I. 2000. Situación de la Leptospirosis Porcina y Bovina en el Estado de Yucatán. Memorias de la 9ª. Reunión anual CONASA. pp. 215-217.
- Torres B.J.I., Romero I.P., Cisneros P.M.A., Moles y C.L.P. y Gavaldón R.D.G. 2002. Explotación Serologica de Leptospirosis en Ganado Bovino de Carne del Estado de Chiapas. Memorias del Seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne, UAM-X.
- Vacuna contra la Salmonelosis por *S. Dublin* y *S. Typhimurium*, en terneros. www.ocpt.cu/doc/1996/t1595. 5 de Abril del 2004.
- Zavala V.J.E., Vado S.I.A., Rodríguez F.E., Rodríguez A. Ma. Barrera P.M. y Guzmán M.E. 1998 Leptospirosis Anictérica en un Brote Epidémico de Dengue en la Península de Yucatán. <http://www.uady.mx/-biomedic/rb98921.html>.

ANEXOS

A continuación se describen las vacunas comerciales utilizadas en las diferentes especies:

BAYER DE MEXICO, S.A. DE C.V.

- BAYOVAC HORIZON 9 CON PROLONG.

Inyectable.

Vacuna contra la rinotraqueítis infecciosa, diarrea viral bovina, virus sincitial respiratorio y virus de la influenza 3.

Bacterina contra leptospirosis.

FORMULA: La fracción líquida contiene virus inactivados de la rinotraqueítis infecciosa bovina y diarrea viral bovina y bacterina con cultivos de *Leptospira canicola*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagie* y *pomona*. La fracción liofilizada contiene virus vivo modificado de parainfluenza 3 y del virus respiratorio sincitial bovino.

Contiene el adyuvante prolong, específicamente desarrollado para BAYOVAC HORIZON y que estimula la respuesta inmune celular y humoral.

USO EN: bovinos (Rosentein, 2002).

- BAYOVAC LEPTO 5

Inyectable

Bacterina contra la leptospirosis en el ganado bovino y porcino.

FORMULA: Microorganismos inactivados de los 5 serotipos más importantes en las especies indicadas como *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. pomona* e *icterohaemorrhagie*.

USO EN: Bovinos y porcinos (Rosentein, 2002).

- BAYOVAC PARVO TECH LEPTO 5

Inyectable.

Vacuna que proporciona una excelente protección contra las mayores causas de fallas reproductivas en cerdas, causadas por Parvovirus porcino y los serotipos más importantes de Leptospira.

FORMULA: Parvovirus porcino. Virus muerto. *Leptospira hardjo*, *Leptospira pomona*, *Leptospira icterohaemorrhagie*.

USO EN: Porcinos (Rosentein, 2002).

BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICAL S.A. DE C.V.

- ELITE 9HS*

Inyectable

Vacuna contra *la rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), parainfluenza 3 (PI3), diarrea viral bovina (IVB), virus respiratorio sincitial bovino (BRSV) y Bacterinas contra Haemophilus somnus y Leptospiras.*

FORMULA: Contiene antígenos inactivados de virus de rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), parainfluenza 3 (PI3), diarrea viral bovina (IVB), virus respiratorio sincitial bovino (BRSV); *Haemophilus somnus* y *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L.pomona*, *L. icterohaemorrhagie*.

USO EN: Toros, vacas y becerros (Rosentein, 2002).

- ONTAVAC-DHL

Inyectable

Contra el moquillo, hepatitis, tos de las perras por adenovirus y leptospirosis canina.

FORMULA: Fracción liofilizada: Vacuna de virus vivos modificados de distemper o moquillo canino, cepa Lederle y hepatitis canina, cepa Cornell, elaborada en cultivos estables.

Fracción diluyente: Bacterina de *Leptospiras*, cepas *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagie*, inactivadas.

USO EN: Perros (Rosentein, 2002).

FORT DODGE ANIMAL HEALTH, S. DE R.L. DE C.V.

- PUPPY SHOT* BOOSTER

Inyectable.

Vacuna contra moquillo, hepatitis infecciosa canina, enfermedad respiratoria causada por el adenovirus tipo 2, parainfluenza, parvovirus, coronavirus canino y bacteria de *Leptospira canicola* e *icterohaemorrhagiae* con tecnología (OMC).

FORMULA: Fracción liofilizada, Virus de Moquillo Canino, Adenovirus Canino Tipo 2, Virus de Parainfluenza Canina, Parvovirus Canino Cepa KF-11 (2ª). (Virus vivo modificado).

Fracción líquida. Coronavirus. Virus inactivados con adyuvantes y Bacterina de *Leptospira canicola* y *Leptospira icterohaemorrhagiae* (OMC). Gentamicina, Timerosal y Anfotericina B como conservadores 1 ml + Sistema Infovax-1D.

USO EN: Perros (Rosentein, 2002).

LABORATORIOS VIRBAC MEXICO, S. A. DE C. V.

- MHA2PPIL QUINTUPLE

Inyectable.

Vacuna viva atenuada liofilizada para la inmunización activa contra moquillo, hepatitis, adenovirus, parvovirus, parainfluenza y leptospirosis canina.

FORMULA: Virus atenuado de moquillo canino cepa Lederle, adenovirus canino tipo 2 atenuado, cepa Mahattan, parvovirus canino atenuado cepa Cornell, virus de parainfluenza canina atenuado cepa Mahattan, *Leptospira interrogans canicola* inactivada y *Leptospira icterohaemorrhagiae* inactivada.

USO EN: Perros (Rosentein, 2002).

- CANIGEN MHA2L TRIPLE

Inyectable

Vacuna viva atenuada liofilizada para la inmunización activa contra moquillo, hepatitis infecciosa, adenovirus y leptospirosis canina.

FORMULA: Virus atenuado de moquillo canino cepa Lederle, adenovirus canino tipo 2 atenuado, cepa Manhattan, *Leptospira interrogans canicola* inactivada y *Leptospira icterohaemorrhagiae* inactivada.

USO EN: Perros (Rosentein, 2002).

- CANIGEN MHA2PL CUADRUPLE

Inyectable

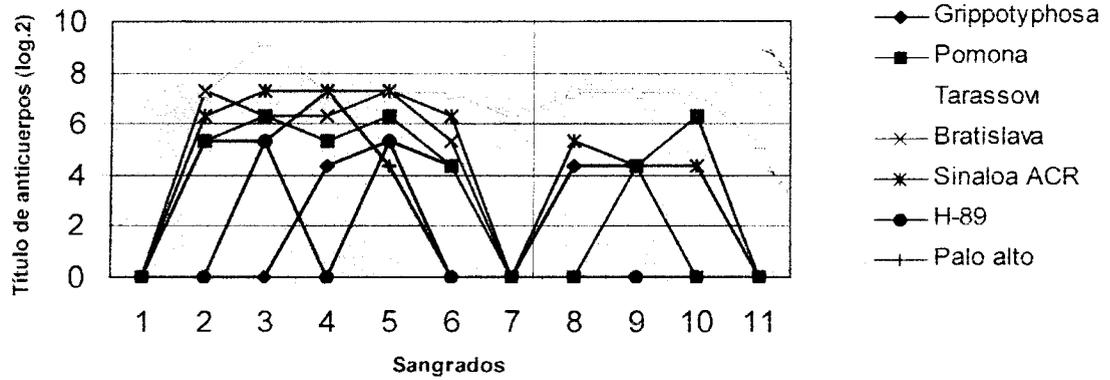
Vacuna viva atenuada liofilizada para la inmunización activa contra moquillo, hepatitis infecciosa, adenovirus, parvovirus y leptospirosis canina.

FORMULA: Virus atenuado de moquillo canino cepa Lederle, adenovirus canino tipo 2 atenuado, cepa Manhattan, parvovirus canino atenuado cepa Cornell, *Leptospira interrogans canicola* inactivada y *Leptospira icterohaemorrhagiae* inactivada.

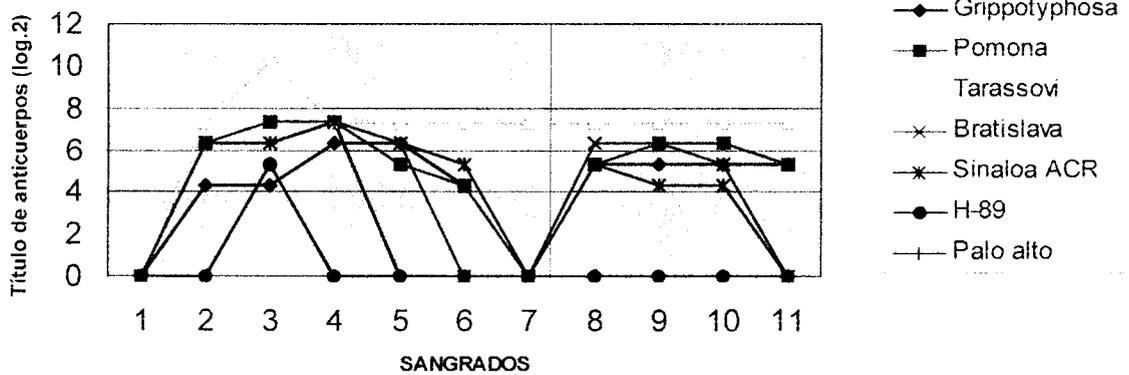
USO EN: Perros (Rosentein, 2002).

Las gráficas que se muestran a continuación son los resultados de los títulos de anticuerpos obtenidos por conejo, porcentaje y serovariedades.

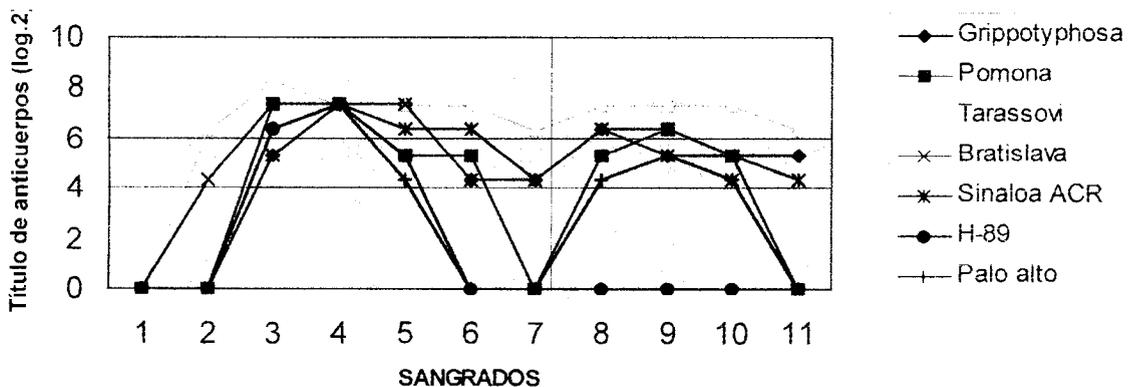
CONEJO 1 AL 5%



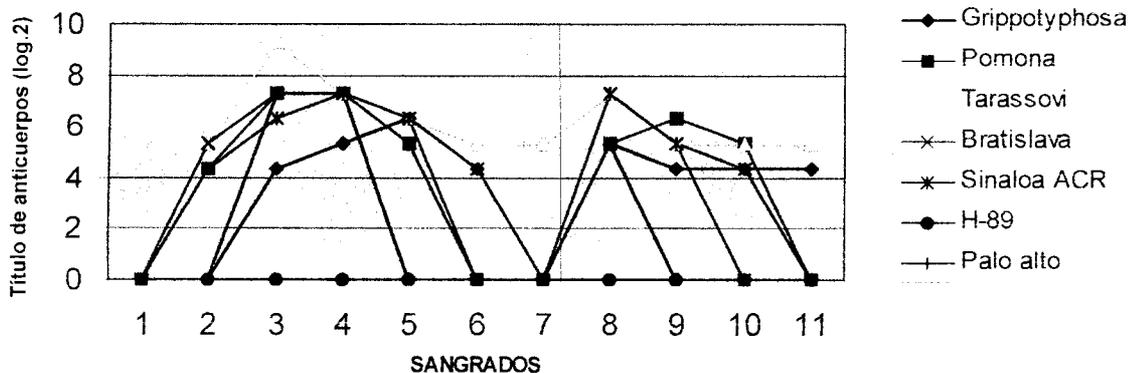
CONEJO 2 AL 5%



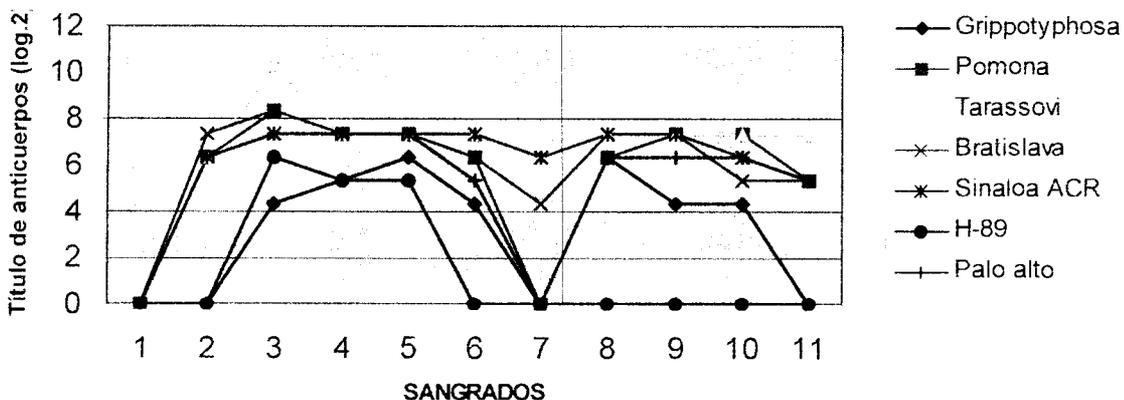
CONEJO 3 AL 5%



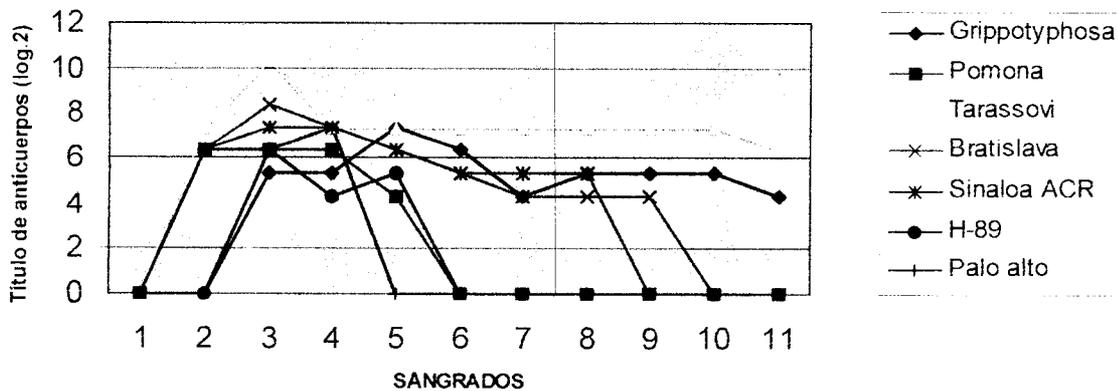
CONEJO 4 AL 5%



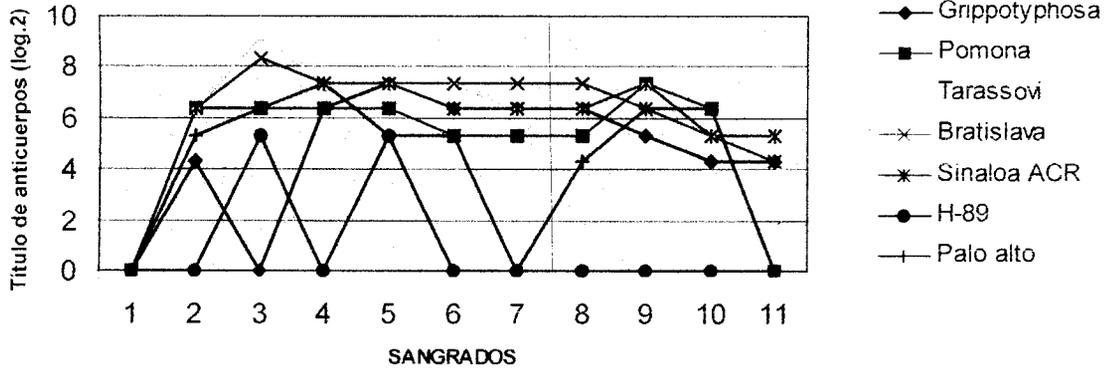
CONEJO 5 AL 5%



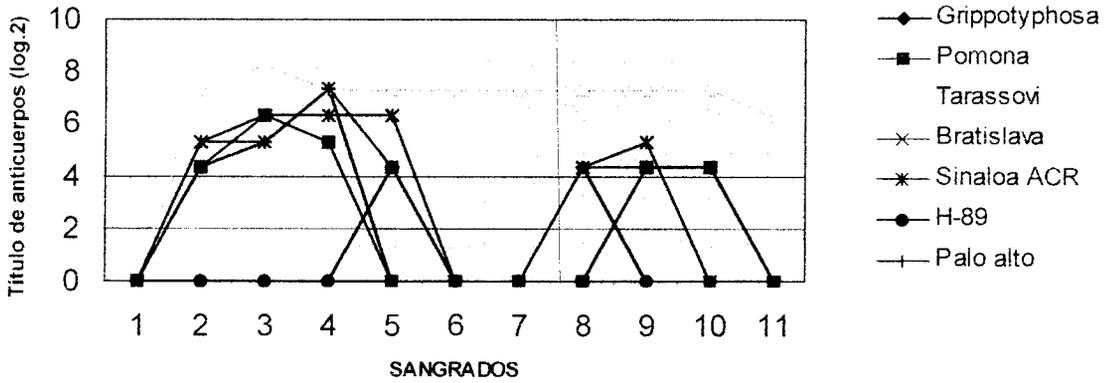
CONEJO 1 AL 10%



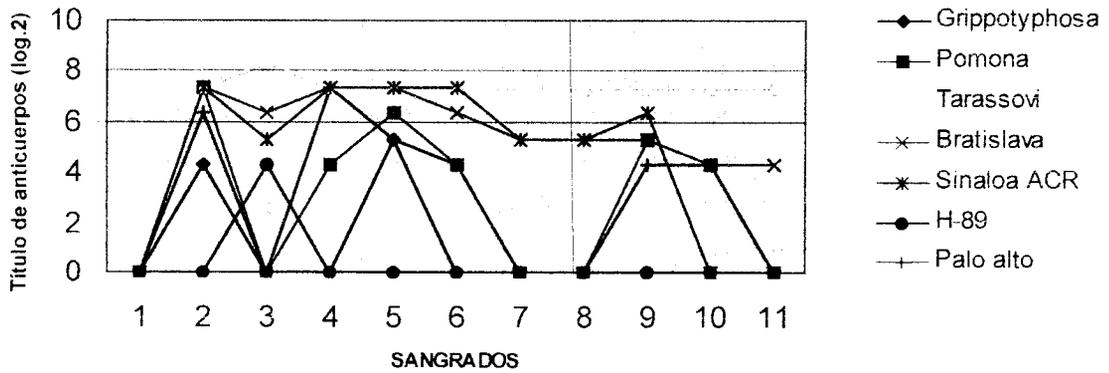
CONEJO 2 AL 10%



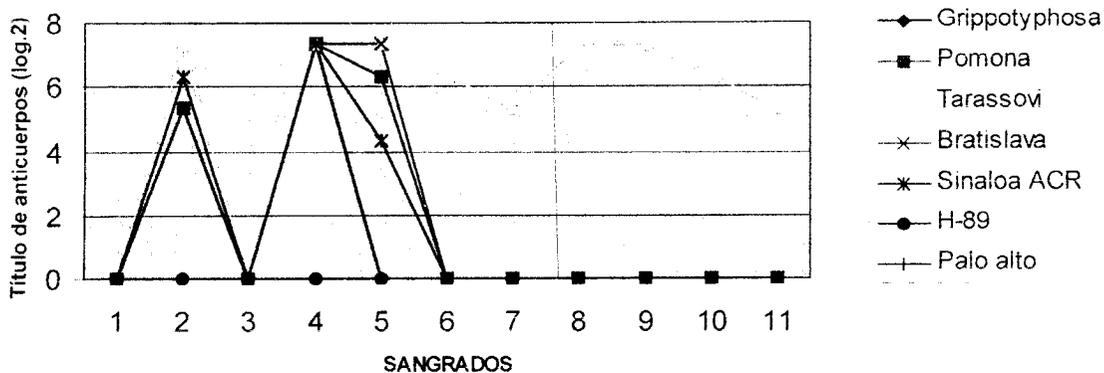
CONEJO 3 AL 10%



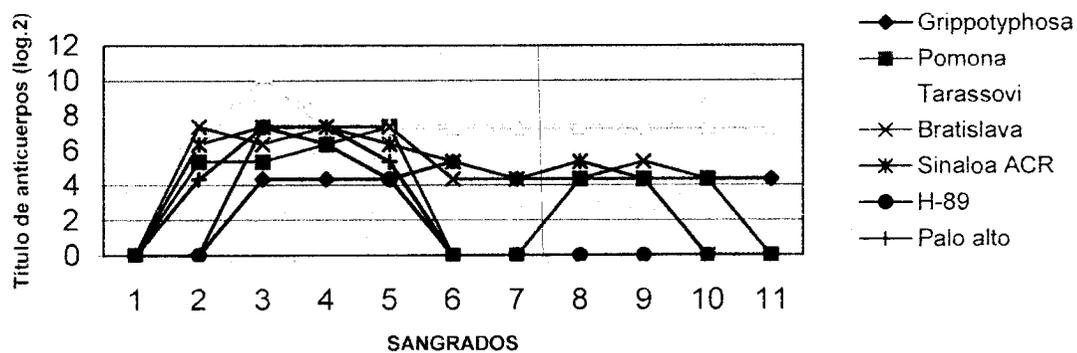
CONEJO 4 AL 10%



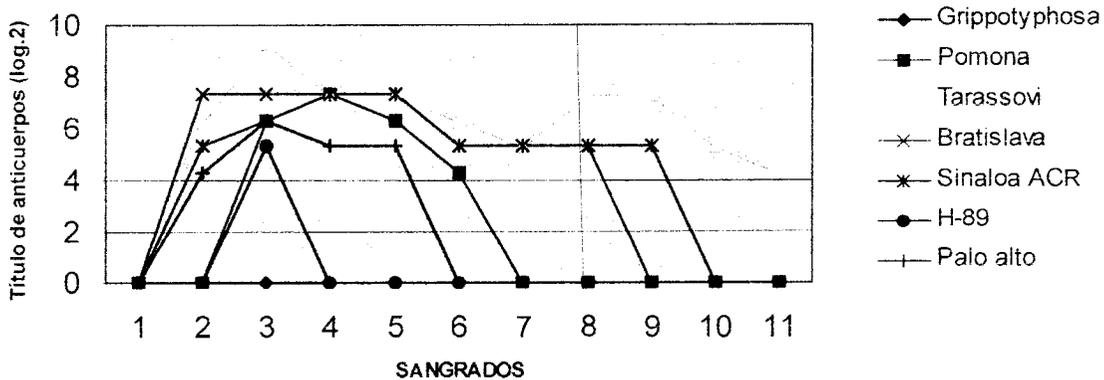
CONEJO 5 AL 10%



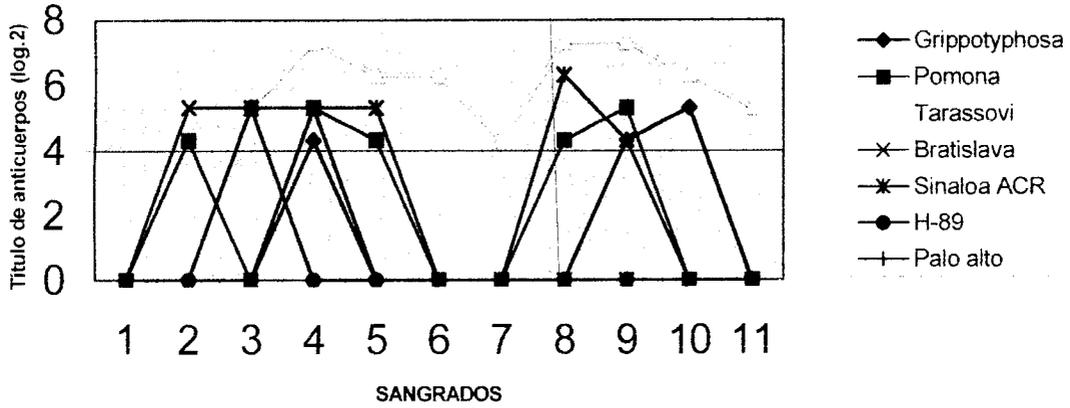
CONEJO 1 AL 20%



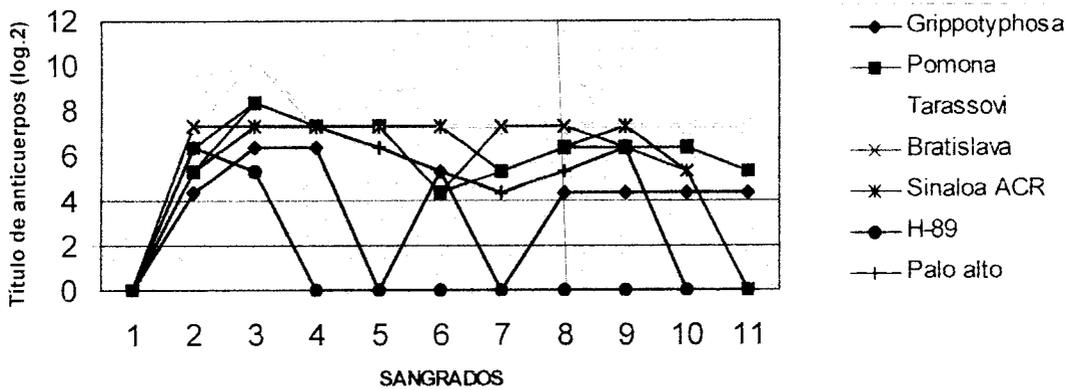
CONEJO 2 AL 20%



CONEJO 3 AL 20%



CONEJO 4 AL 20%



CONEJO 5 AL 20%

