

Capítulo XXIV

Importancia del control de *Leptospira borgpetersenii* *serovar Hardjo tipo Hardjo bovis* en el rebaño bovino

Víctor Bermúdez, PhD

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis (transmitida del animal al hombre), de distribución mundial y de gran impacto económico en sistemas de producción animal. Es una enfermedad ocupacional de alto riesgo para el hombre, quien es huésped accidental y terminal (Fig. 1), donde los médicos veterinarios, matarifes, granjeros, obreros y familias que viven en áreas suburbanas y rurales, poseen un alto riesgo ambiental. Los animales son hospedadores naturales de *Leptospira interrogans* y en el caso de los bovinos, *Leptospira borgpetersenii* Srv. *Hardjo Tipo Hardjo bovis* el cual es un serovar adaptado al bovino. En el caso de los cerdos, *Leptospira interrogans* Srv. *Bratislava* en un serovar adaptado al cerdo. El aborto por *Leptospira* spp. en la yegua parece ser más común de lo que los médicos veterinarios reconocen, con serovares no adaptados entre ellos, *hardjo*.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA LEPTOSPIROSIS

La leptospirosis aguda concurre en especies domesticas (huésped de mantenimiento) y seres humanos (huésped accidental), asociado a serovares no-adaptados que irrumpen en estos huéspedes accidentales o de mantenimiento y desarrollan casos agudos con muerte en muchos casos. La presentación clínica, se asocia con un Síndrome Icterohemorrágico que sorprende a los médicos humanos, al ser confundidos y tratados como Hepatitis viral, cuyo tratamiento es solamente de soporte.

La transmisión de *Leptospira* (*Gram negativa, espiralado, móvil*) es tanto horizontal como vertical en los animales y hospedadores de serovares adaptados y se discrimina a continuación (Cuadro 1):

- Venérea y vertical (*L. borgpetersenii*, *srv. Hardjo Tipo Hardjo bovis*), vía orina, semen y descargas vaginales.

- Contacto directo con membranas mucosas, piel húmeda y escoriaciones, contactos con placentas o riñones (humanos).

Condiciones ambientales tales como:

- Alta humedad y temperatura, elevado pH, aguas estancadas en condiciones de trópicos y subtropicos son ideales para su desarrollo.
- El período de tránsito de las leptospiras es mayor de 6 semanas (Prescott y Zuerner, 1993).

El ciclo epidemiológico de la leptospira se aprecia a continuación (Fig. 1):

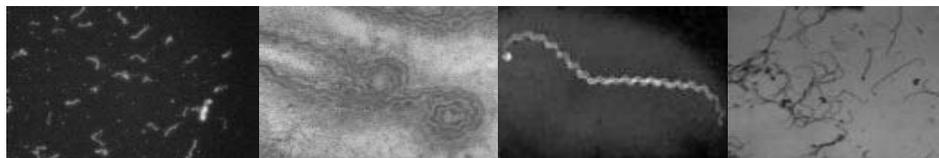
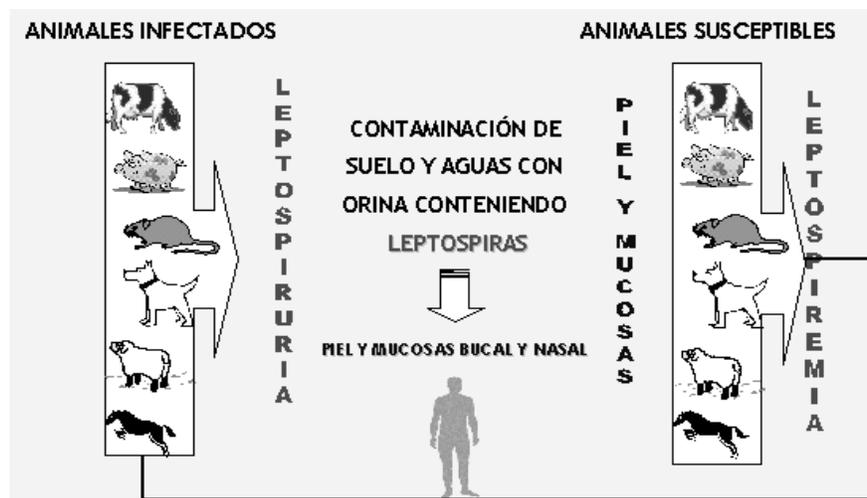


Figura 1. Ciclo Epidemiológico de la Leptosirosis.

CLASIFICACIÓN DE *Leptospira* Serovar ADAPTADA AL BOVINO

Anteriormente, las leptospiras patógenas se ubicaban dentro del género y especie, *Leptospira interrogans*. En el caso del Serovar adaptado al bovino, estaba clasificada dentro de *Leptospira interrogans* Serovar *hardjo tipo hardjo bovis*, pero fue reclasificada por Thierman *et al.*, 1986 (Cuadro 1). Posteriormente ésta última fue clasificada como *Leptospira borgpetersenii* Serovar *hardjo, tipo hardjo Boris*, mientras que fue dejado el Serovar No Adaptado al bovino, *Leptospira interrogans* Serovar *hardjo, tipo hardjo prajitno* en la especie *interrogans*. Es de hacer notar que ambos biotipos son muy similares en la inmunogenicidad, no comportándose similarmente en la antigenicidad, resultando indistinguibles en la prueba de Microaglutinación (MAT), a pesar que son molecularmente diferentes (LeFebvre *et al.*, 1987, Zuerner y Bolin, 2001).

Cuadro 1
Hospedadores accidentales y de mantenimiento en animales y el hombre

<i>Leptospira spp.</i>	Hospedador de Mantenimiento	Hospedador Accidental
Hardjo-bovis	Ganado	Ovejos, humanos
Hardjo-prajitno	Ganado	Ovejos, humanos
Pomona	Cerdos	Ganado, cerdos
Canicola	Perros	Ganado, cerdos
Grippotyphosa	Mapaches	Ganado, cerdos
Icterohaemorrhagiae	Ratas	Ganado, cerdos

Leptospira borgpetersenii Srv. *Hardjo Tipo hardjo-bovis* se reporta con más frecuencia en América y Australia, mientras que *L. interrogans* Srv. *Hardjo Tipo hardjo prajitno* es encontrada más frecuentemente en el Reino Unido y Europa (Cuadro 2). Ahora bien, la infección por *L. borgpetersenii* Srv. *Hardjo Tipo hardjo bovis* es la causa más común de Leptospirosis Bovina en ganado de leche y carne en los Estados Unidos (Fig. 2), siendo la misma realidad para México y Chile.

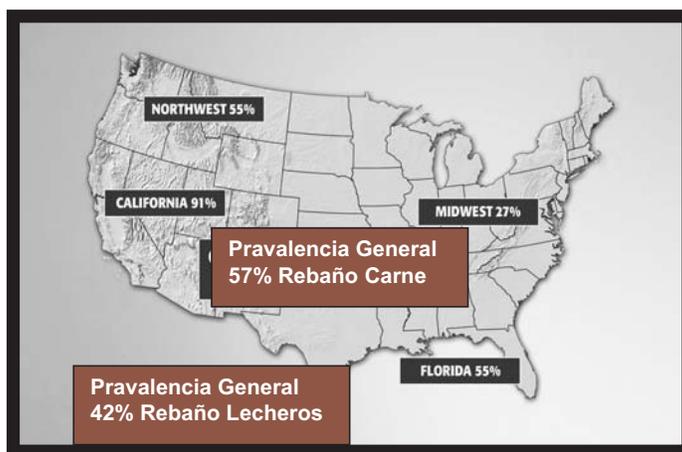


Figura 2. Prevalencias de *L. borgpetersenii* Srv. *Hardjo Tipo hardjo bovis* en ganaderías de carne 57% y leche 42% en USA

SIGNOS CLÍNICOS DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA

Como una sintomatología adicional presente en la leptospirosis se ha señalado:

- Ictericia Hepatoceular indirecta
- Hemoglobinuria
- Oliguria - Anuria
- Anemia Hemolítica
- Fiebre (Vacas, cerdas y yeguas pueden abortar sin cuadro febril)

- Septicemia/endotoxemia, Muerte súbita < 1 año
- Inapetencia, salivación e interrupción de la rumia
- Mialgias, intolerancia al ejercicio
- Diarrea y cólicos
- Periodicoftalmítis – Fotofobia
- Síndrome de vaca repetidora

En los fetos y anexos placentarios se suele observar:

- Abundante tinción meconial de eponequias, piel y membranas anexas y membranas mucosas, placentitis cotiledonaria e intercotiledonaria necrotizante y hemorrágica, amnionitis fibrosante hemorrágica, ictericia fetal, hepatitis, alveolitis, nefritis, uveitis, cataratas, meningitis, atrofia tímica, septicemia/endotoxemia (Bolin, 2001; Bermúdez *et al.*, 2006).

Cuadro 2

Sintomatología clínica de *L. borgpetersenii* Srv. *Hardjo* Tipo *hardjo bovis* y diferencias con *L. interrogans* Srv. *Hardjo* Tipo *hardjo prajitno*

Aspectos clínicos	hardjo prajitno	hardjo-bovis
Agaláctia	+++	+
Muerte embrionaria	+	+++
Nacimiento de becerros débiles	++	++
Retención de placenta	++	+
Colonización Renal y Tracto Genital	+	+++
Mastitis flácida	++	+

Prescott y Zuerner, 1993; Faine *et al.*, 1999; Zuerner y Bolin, 2001.

FACTORES DE VIRULENCIA EN *Leptospira spp.*

- Factores permisibles en el Rol de Supervivencia en el Suero y en el hospedador permanecen aún oscuros.
- Adherencia a fibronectina/colágeno de importancia en colonización.
- TNF δ , induce activación de monocitos, los lipoligosacáridos de membrana-pared, expresan mayor endotoxigenidad en el endotelio, induciendo coagulación intravascular diseminada.
- *Leptospira* como causal de trombocitopenia/agregación plaquetaria.
- Hemolisinas: Expresión del gen Esfingolmielinasas/Fosfolipasa A.
- Factores extracelulares \approx Virulencia (hemoglobinuria, anemia hemolítica y citólisis, Prescott & Zuerner, 1993, Van Metre y Divers, 2002).

SURVEY SEROLÓGICO DE *L. borgpetersenii* Srv. *Hardjo Tipo hardjo bovis* EN VACAS, NOVILLAS Y TOROS EN REBAÑOS Y REGIONES DE ALTO RIESGO DE *LEPTOSPIRA* Y ABORTOS EN VENEZUELA

Nos planteamos el objetivo general de determinar la seroprevalencia de *Leptospira borgpetersenii hardjo-bovis* en la temporada de monta del 2007 en cohortes por grupos etarios de bovinos de regiones (10 Estados, representados por 42 fincas con 1.743 animales, 40 animales X finca (Fig. 3) en ganaderías estratégicas enzoóticas de *Leptospirosis bovina* en Venezuela, basados en la hipótesis de que en Venezuela existe una alta seroconversión y presencia de *Leptospira borgpetersenii hardjo-bovis* en los diferentes rebaños muestreados representativos del tamaño de la población nacional bovina Venezolana.



Figura 3. Distribución de las fincas muestreadas por estados (Zulia, Trujillo, Táchira, Mérida, Portuguesa, Lara, Cojedes, Barinas, Guárico y Apure

Para lograr esos propósitos, nos trazamos las siguientes estrategias:

- Determinar los títulos de Anticuerpos (Ac) contra *Leptospira borgpetersenii* Srv. *hardjo bovis* en grupos de animales conformados por 20 vacas, 15 novillas y 5 toros por finca, utilizando el test de ELISA competitivo (Linnodee®, UK, validado por la Unión Europea, estandarizado en Ladivet y leído en un Lector Automatizado de Elisa Biotek® a 460 nm en densidades ópticas, Mackie DP. 2006). Aquellos animales positivos se enfrentarían al MAT (Cepa de *L. hardjo prajitno* suministrada por el INH Alberto Rangel, Caracas), (Fig. 4a,b).
- Evaluar en grado de acuerdo estadístico, la seropositividad para *Leptospira borgpetersenii hardjo-bovis* en ELISA Competitivo vs MAT;

- c) Fluidos corporales de 80 fetos abortados y sueros de sus vacas madres fueron evaluados por Elisa, además de fluidos corporales de 29 fetos inmunocompetentes (> 5 meses de gestación) obtenidos de mataderos estratégicos del país fueron estudiados igualmente; los positivos se estudiaron por MAT.



Figura 4a,b. Kit de ELISA y el Lector Automatizado (Valores S/P < 0,250 = Negativo y Valores S/P > 0,500 = Positivo. Punto de Corte = $\sqrt{\text{OD}(-) / \text{OD}(+) \times 2}$).

Resultados del estudio vacas, novillas y toros

La prevalencia general de *Leptospira borgpetersenii* Srv. *hardjo bovis* en la población estudiada por ELISA fue del 61% (Fig. 5). La distribución de los Ac por estado reveló una prevalencia > 70% en los Estados Mérida, Zulia, Barinas, Cojedes y Lara.

Seroprevalencia *L. borgpetersenii* Srv *Hardjo bovis* en Venezuela

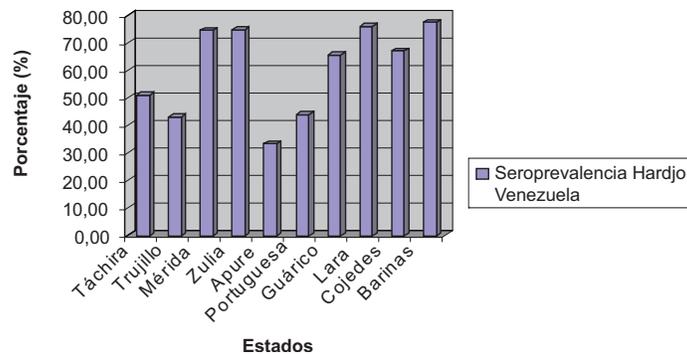


Figura 5. Prevalencia general de Ac contra *Leptospira borgpetersenii* Srv *hardjo* Tipo *hardjo-bovis* distribuidos por estados en la temporada de monta 2007.

Los Ac *Leptospira borgpetersenii* Srv *hardjo* Tipo *hardjo-bovis* distribuidos por grupo etario/sexo reveló una mayor prevalencia en las vacas multíparas (72,4%) comparado con las novillas (58,6%) y los toros (54,4%; $p < 0,05$); (Fig. 6). La distribución de Ac por estado vs. grupo etario/sexo, reveló un efecto finca estadístico en donde el manejo reproductivo del rebaño era mayor por monta natural en proporción con fincas

bajo programas de inseminación artificial con repaso de toros en monta natural en fincas de doble propósito como los modelos de la zona Sur del Lago de Maracaibo. Los análisis revelan una evidente ($p < 0,05$) prevalencia mayor de Ac contra *leptospira*. Sin embargo, en la población estudiada, se detectaron Ac contra *Leptospira borgpetersenii Srv hardjo Tipo hardjo-bovis* en todas 42 fincas y estados estudiados en el país.

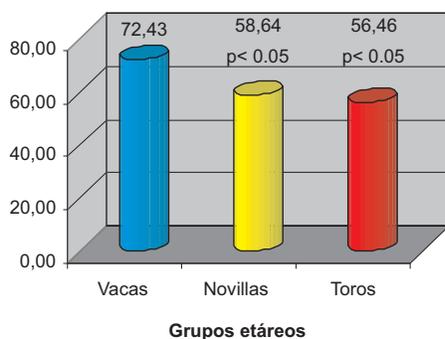


Figura 6. Prevalencia de leptospirosis Serovar Hardjo por grupo etéreo. Venezuela. 2007, chi-X²

El estudio comparativo del comportamiento del ELISAc vs. MAT, en la sensibilidad de detectar Ac contra *Leptospira borgpetersenii Srv hardjo Tipo hardjo-bovis* muestra una sensibilidad del ELISAc del 58,9% superior al MAT en la población estudiada, denotando un significativo desacuerdo estadístico ($p < 0.05$) mediante la técnica de Mantel y Hansel. Esta discrepancia entre los test validados (OMS/OIE), posible-

mente reflejan el hecho de que MAT como prueba oficial es muy específica en la detección de Ac Aglutinantes (con cepa viva de referencia) (Fig. 8), MAT mediada por Ig M en las etapas agudas de la enfermedad o postvacunal temprana, ya que es poco específica para detectar Ig G, contrario a la sensibilidad y especificidad del ELISAc en la detección de Ig G (Ac Monoclonal contra *Leptospira borgpetersenii Srv hardjo Tipo hardjo-bovis*).

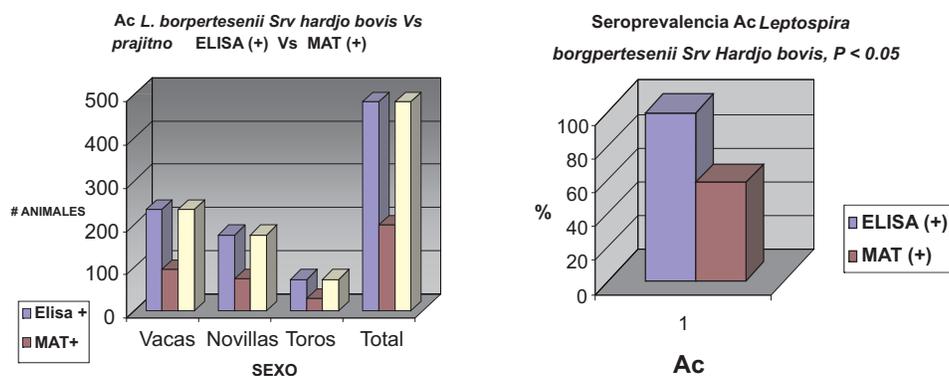


Figura 7 a,b. Anticuerpos (Ac) contra *Leptospira borgpetersenii Srv hardjo Tipo hardjo-bovis* comparando ELISAc vs. MAT discriminados por grupo etario/sexo. Véase la proporción uniforme de Ac (+) al ELISAc vs. MAT en los grupos etarios y en todas las muestras (+) a ambos test ($p < 0.05$).

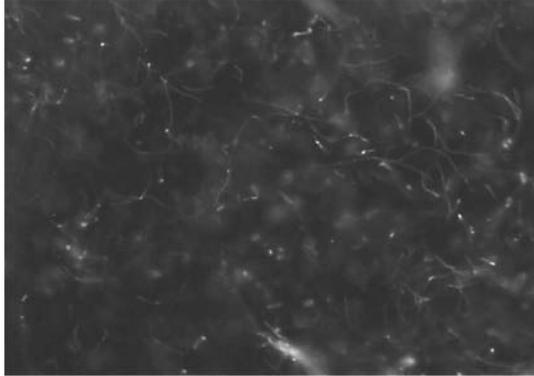


Figura 8. MAT (+) que refleja las formas espiralazas de *L. interrogans* Srv. Hardjo Tipo hardjo prajitno reconocidas por los Ac (+) del contenido estomacal de un feto bovino de último tercio de gestación abortado por Hardjo (Foto, MV Rosaura Pérez).

Resultados del estudio en fetos y vacas abortadoras vs. fetos de matadero

Los fetos obtenidos de mataderos estratégicos (El Vigía y Turmero) que representan muchos estados del país, importantes en la incidencia de leptospirosis, no revelaron positividad tanto para ELISAc como MAT (Fig. 9d). Mientras que los fetos abortados (Fig. 9a,b,c) y sus vacas madres mostraron Ac contra *Leptospira borgpetersenii* Srv hardjo Tipo hardjo-bovis en ELISAc fue sustancialmente mayor que en los detectados por MAT (Fig. 9d).



Figura 9a,b,c. a) Feto a término con emaciación, hepatomegalia; b) impresiones costales en superficie hepática y tinte icterico; c) Placentitis pericotiledonaria en media luna, cotiledones amarillos por meconio e ictericia leptospiral y placentitis intercotiledonaria fibrosante. La placentitis crónica cotiledonaria fibrosante y anemia, ocasionan emaciación fetal.

ELISA (+) Vs MAT (+) Fetos/Vacas Abortados (80) Vs Fetos Mataderos (29), $p < 0.05$

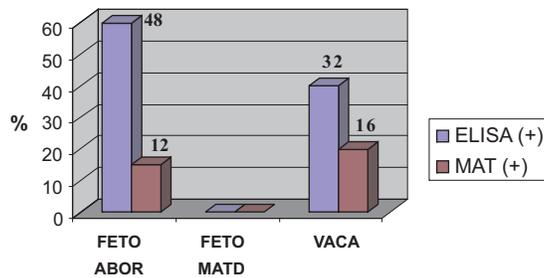


Figura 9d. ELISA (+) vs. MAT (+) en fetos y vacas abortadas vs fetos de mataderos.

ESTRATEGIAS DE VACUNACION Y CONTROL DE LEPTOSPIROSIS BOVINA

El control de la leptospira en los rebaños bovinos es difícil, debido al reto que confieren el ambiente, las fincas circunvecinas cuyos programas sanitarios no están uniformizados con las fincas controladas y debido a que existe un alto número de reservorios naturales presentes en la fauna endógena y exógena a los predios controlados. La diversidad de los cambios

climáticos asociados al Calentamiento Global favorecen efectos como el NIÑO y la NIÑA, que ponen en evidencia estaciones lluviosas prolongadas o atípicas, alternando con periodos de verano extremo.

Es por ello que los programas de vacunaciones contra Leptospirosis requieren multidosis desde las etapas tempranas de edad. Esto se basa en la duración tan variable de los anticuerpos calostrales y al hecho de que *Leptospira* spp. posee una antigénicidad, cuya respuesta inmune en el hospedador, se expresa mediante una corta y variable respuesta en la calidad y cantidad de Anticuerpos (Ac). Por ello, es necesario implementar los programas de vacunación multidosis.

Se hace necesario romper paradigmas y crear nuevas posibilidades en el área de la reproducción y fertilidad bovina, mediante el uso de nuevos biológicos destinados a controlar la excreción de *Leptospira* spp. al ambiente por los animales infectados, abortadores, portadores sanos-estresados, luego de la fase de leptospiremia, cuando luego acontece la multiplicación renal y leptospiruria. Esto se basa en el hecho de que existen nuevos biológicos específicos contra Serovares de *Leptospira* spp., adaptados a su hospedador, como es el caso específico de *L. borgpetersenii* Hardjo bovis, LBHB (Spirovac®). El éxito de este biológico va destinado a levantar un volumen de Ac específicos contra LBHB y a controlar la excreción urinaria de esta leptospira al ambiente, al inhibir la multiplicación bacteriana y la leptospiruria.

Fincas multidosis requieren estudiar el ambiente y las áreas circunvecinas. Si existe alta seroprevalencia mas allá de la respuesta vacunal, significa un reto elevado, por lo que se requiere usar tres a cuatro dosis anuales en vacunación horizontal del rebaño a partir de la 3ra. Semana de edad con el uso de la vacuna de *L. Borgpetersenii* Hardjo bovis (Spirovac®). Se debe usar dosis del complejo respiratorio y reproductivo contra (IBR/BVD + *Leptospira* Multivalente) a partir del destete o en el programa de mautas.

Se recomienda usar una dosis preservicio de *Leptospira* pentavalente y *L. borgpetersenii* Hardjo bovis o una dosis de esta última al 1er trimestre de gestación.

CONCLUSIONES

- La prevalencia general de Ac contra leptospira borgpetersenii srv. hardjo tipo hardjo boris en la temporada de monta del 2007 fue del 61%.
- El test de ELISAc de Linnodee® demostró una importante especificidad y sensibilidad en la detección de Ac contra leptospira borgpetersenii srv. hardjo tipo hardjo bovis un 58,9% más sensible que el MAT (p 0,05), denotando un gran desacuerdo estadístico entre los tests, lo cual debe ser tomado en consideración para futuros estudios de rebaños subclínicamente infectados con historia de abortos o nacidos débiles en las fincas.
- el 100% de los estados/fincas y grupos etareos revelaron la presencia de Ac contra leptospira borgpetersenii srv. hardjo tipo hardjo boris.
- la seroprevalencia de Ac de los fetos abortados y sus madres en ELISA fue significativamente superior que en MAT (p0,05%), expresando la presencia de Ac

contra leptospira borgpetersenii sr. hardjo tipo hardjo bovis en los fetos abortados y no así en los fetos de matadero.

- epidemiológicamente de este estudio sería importante tomar medidas de control en mautes (as) y en los toros en los programas de medicina preventiva e inmunización en el control de leptospirosis en las fincas y hatos.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al personal Médico Veterinario y de apoyo logístico de campo del Equipo Pfizer integrado por Guillermo Ávila, Carlos Bofelli, Gustavo Bohórquez, Carlos Cardozo, Iverick Cepeda, Eduardo De Armas, Rickson Guerrero, Alejandro Linares, Joshdar Pérez, Nelson Serrano y Juan Socorro y a los Médicos Veterinarios y Ganaderos Propietarios de las 22 Fincas que participaron en este proyecto. Al Técnico Histotecnólogo Francisco García del Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela por el apoyo en el procesamiento de muestras del proyecto.

LITERATURA CITADA

Aidorevich L. 1987. Evaluación hematológica e inmunológica en bovinos positivos para Leptospiriosis. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV. 70-73.

Aidorevich L. 2003. Conozca la Leptospiriosis: Una Zoonosis Reemergente, CENIAP HOY Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela. Septiembre-Diciembre, vol 23 (3):15-20.

Alfaro C, Rolo M, Clavijo A. 2004. Epidemiología y Diagnóstico de la Leptospiriosis como fundamentos para el diseño de estrategias de Control. CENIAP HOY Revista del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela Zoot Trop. 22 (2):117-132.

Alfaro C. Alfaro C, Rolo M, Clavijo A. 2007. Epidemiología de Leptospiriosis bovina en sistemas ganaderos doble propósito del estado Monagas. II. Factores climáticos. Zootecnia Trop 25(3):193-196.

Bermúdez V. 2001. Manejo de la crisis abortiva. En, Reproducción bovina. C González-Stagnaro (ed). Fundación Girarz. Ediciones Astro Data S A, Maracaibo, Venezuela. Cap XI: 151-169

Bermúdez V, Moreno J, Álvarez J, Morales A, Moscardi A. 2007. Estudio retrospectivo de las causas de Abortos en Fetos Bovinos en Venezuela. Venezuela Bovina 22 (71): 37-40.

Bolin C. 2000. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts. Proc. Am. Soc. Microbiol., 243.

De La Peña-Montezuma, A. 1999. Comparative analysis of the LPS biosynthetic loci of the genetic subtypes of the serovars Hardjo: L. interrogans serovar HardjoPrajitno and L. Borgpeterseniii serovar Hardjobovis. FEMS Microbiol Let 177:314.

Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. 1999. Leptospira and Leptospiriosis. 2da edición. Med. Sci. Melbourne, Australia. 231-232.

Hernández E. 2007. Situación Actual de la Leptospiriosis en el Estado Zulia. Conferencia de Ganadería del CMVV, El Vigía.

- LeFebvre R, Bolin C, Zuerner R. 1987. Genetic and Antigenic difference of serologically indistinguishable *Leptospira* of serovar Hardjo. *J Clin Microbiol* 25(11): 2094.
- Mackie DP. 2006. Bovine Leptospirosis. Hardjo bovis ELISA Test standardization. Linnodee® *Leptospira* ELISA Kitt, Inserto de estandarización. Linnodee Animal Care, Ireland. www.linnodee.com ir.
- Paiva R. 2006. Epidemiología de la Brucelosis, Leptospirosis, IBR y DVB en ganaderías de Doble Propósito en la Zona Sur del Lago. Conferencia de Ganadería del CMVV, El Vigía.
- Prescott J, Zuerner R. 1993. *Leptospira*. In, Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. C Gyles, O Thoen. 2nd Ed. Iowa State University Press, Ames, USA, 287-296.
- Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K. 2002. *Medicina Veterinaria. Tratado de Enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. 9na edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid España. Vol 1:1270-1275.
- Van Metre D, Divers T. 2002. Leptospirosis. In, *Large Animal Internal Medicine*. Smith B. 3rd Ed. Mosby, London 870-871.
- Zuerner R, Bolin C. 2001. Evaluation of antibiotics for treatment of cattle infected with *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo bovis. *JAVMA* 219:636-639.