

Prevalencia de la leptospirosis bovina en 23 explotaciones ganaderas en Honduras

Julieta Andrea Sosa Cuevas

Zamorano, Honduras

Diciembre; 2009

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Prevalencia de la leptospirosis bovina en 23 explotaciones ganaderas en Honduras

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Julieta Andrea Sosa Cuevas

Zamorano, Honduras

Diciembre; 2009

Prevalencia de la leptospirosis bovina en 23 explotaciones ganaderas en Honduras

Presentado por:

Julieta Andrea Sosa Cuevas

Aprobado:

John Jairo Hincapié S., Ph.D.
Asesor principal

John Jairo Hincapié S., Ph.D.
Coordinador Área Temática
Zootecnia

Isidro Matamoros, Ph.D.
Asesor

Miguel Vélez, Ph.D.
Director Carrera de Ciencia y
Producción Agropecuaria

William Hernández, D.M.V.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

María Antonieta Molina, Q.B.
Asesora

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

RESUMEN

Sosa, J.A. 2009. Prevalencia de la leptospirosis bovina en 23 explotaciones ganaderas en Honduras. Proyecto de graduación del Programa de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. 24 p.

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana difundida en el ganado bovino que es considerada una zoonosis. Se determinó la prevalencia de la leptospirosis en 23 explotaciones ganaderas distribuidas en el territorio hondureño. En cada una se recolectaron muestras de sangre de 20 vacas en etapa reproductiva. Las muestras fueron procesadas utilizando la prueba ELISA con un kit de Linnodee Animal Care para el serovar *L. Harjo bovis* (HB). Los datos fueron analizados utilizando el programa de epidemiología WinEpi TASAS versión 2.0. La Prevalencia observada (PO) por finca presentó valores entre 8.89% y 93.33%, mientras que la Prevalencia esperada (PE) por finca estuvo entre 5.13% y 57.14%; la relación entre la Po y Pe dio como resultado un Índice Epidémico (IE) superior a 1.25 lo que se interpreta como exceso de casos en las 23 fincas analizadas. Los resultados generales dieron un 55.49% de Pe, 1.09% de Po y un IE de 50.85, lo que se interpreta igualmente como un exceso de casos en el total de la población analizada

Palabras claves: Índice Epidémico, zoonosis, trastornos reproductivos, disminución de la producción

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	II
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y anexos	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	4
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
4. CONCLUSIONES	8
5. RECOMENDACIONES	11
7. BIBLIOGRAFÍA	12
8. ANEXOS	14

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadro

1. Ubicación, finca y/o propietario y número de animales de cada una de las fincas seleccionadas.....4
2. Interpretación del Índice Epidémico6
3. Índice Epidémico (IE),Prevalencia esperada (Pe) y observada (Po) e interpretación de los casos esperados para cada una de las fincas muestreadas.....8
4. Índice Epidémico (IE), Prevalencia esperada (Pe), Prevalencia observada (Po) y Casos Esperados de acuerdo a la ubicación (departamento)9

Anexo

1. Densidades ópticas, cálculos e interpretaciones de cada una de las cinco placas de ELISA14

1. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad difundida en el ganado bovino y que es considerada una zoonosis, ya que puede ser transmitida al hombre. La especie que interesa como agente zoonótico es la *Leptospira interrogans* que está agrupada en serogrupos y éstos en serovares (Faine 1982). Dentro de los serovares el más importante es la *L. Hardjo*, principal causante de dicha enfermedad.

La definición de serovar fue formulada por primera vez en 1954 por Wolff y Broom (Rojas y Céspedes 2008) y en la clasificación actual se utiliza lo que estos autores dejaron planteado. La vía de penetración de la enfermedad es a través de la piel erosionada, con cortaduras, o por la piel intacta reblandecida por el agua y a través de las mucosas orofaríngeas, nasal, ocular y genital (López *et al.* 1992). La leptospirosis se presenta de forma endémica y eventualmente como epidemia por exposición a una fuente común de infección. Se considera una enfermedad ocupacional de trabajadores relacionados con la ganadería, plantaciones de arroz, caña y otros (Pedroso 2000).

Según Acha y Szyfres (1988) las formas en que se presenta la enfermedad son las siguientes:

Forma aguda: son más susceptibles los becerros menores de un mes de edad. La enfermedad se caracteriza por septicemia, fiebre alta (40.5- 41.5° C), anorexia, depresión, anemia hemolítica con hemoglobinuria, ictericia, palidez de mucosas, congestión pulmonar, meningitis y alta mortalidad.

Fase leptospirémica o forma subaguda: es común en adultos y puede durar hasta 15 días, se caracteriza por disminución en la producción de leche, que puede ser amarillenta y con coágulos sanguíneos. Esta fase es caracterizada por fiebre, anorexia, disnea y postración. En esta fase las leptospiras alcanzan el torrente circulatorio y son llevadas a los órganos internos: hígado, riñones, útero, vagina, ovarios, oviductos, membranas fetales, feto y glándula mamaria en la hembra y a los testículos, epidídimo y vesículas seminales en el macho donde ocasionan daño tisular más o menos severo de acuerdo con el serovar involucrado y la severidad de la infección. La fase leptospirémica cesa con la aparición de anticuerpos

Fase leptospirúrica o forma crónica: se manifiesta por signos clínicos leves que pueden ser restringidos al aborto en el último tercio de la gestación a la presentación en el hato de

abortos simultáneos o tormenta de abortos. La infección de las membranas fetales y del feto puede ocasionar abortos y el paso de las leptospiras a través de la placenta facilita los cambios degenerativos en la última etapa de gestación.

El cuadro clínico general en los bovinos se presenta como una enfermedad febril aguda, seguida de un curso prolongado con posibles secuelas de aborto, nefritis subaguda y crisis hemólicas. Hay especies con diferentes tipos de virulencia y la gravedad de dicha enfermedad puede variar de una septicemia subclínica a la aguda mortal (Faine 1982)

Los reservorios de la infección son los animales que tienen una leptospiuria prolongada y generalmente no sufren ellos mismos la enfermedad. Tal es el caso de las ratas que son los principales vectores de la enfermedad (Acha y Szyfres 1988). Las ratas más comunes son la rata negra, la noruega y la de alcantarilla; pueden medir unos 23 cm y pesar entre 150 y 200 g. Su habilidad reproductiva es muy alta, puede parir de 6 a 10 crías por camada de 4 a 6 veces al año, su periodo de gestación es de 21 días y entra en madurez sexual a los 3 meses.

Según Meneses y Faz (2007) uno de los métodos de control de roedores más prácticos es el de uso de tubos de PVC como cebaderos que en su interior contienen una bolsa plástica que con concentrado y un rodenticida, ubicando cada cebadero alrededor de las áreas de mayor problema como las bodegas de concentrados.

El diagnóstico de la enfermedad requiere un enfoque integral basado en la evaluación epidemiológica, la sintomatología clínica y la utilización del laboratorio como herramienta de diagnóstico.

El diagnóstico epidemiológico incluye datos sobre la época del año, la aptitud del hato, el estado sanitario del mismo, el contacto con otras especies domésticas, la sintomatología predominante y si se realiza vacunación contra la leptospirosis, el número de animales afectados, la edad y la fase de la gestación en la que se produce el aborto. La cantidad de animales enfermos es la morbilidad (Latín: *morbus* = enfermedad) y el número de muertos es la mortalidad (Thrusfield 1990).

El diagnóstico clínico tiene como dificultad la sintomatología inespecífica de la enfermedad, ya que las principales manifestaciones de leptospirosis son comunes a un gran número de afecciones observándose: ictericia, hemoglobinuria, hematuria, daño renal y meningitis. Las hembras preñadas pueden abortar, presentar disminución de la producción láctea, la leche puede contener coágulos de sangre y el recuento de células blancas es muy alto.

Es importante mencionar la prevención y profilaxis como componente de los programas sanitarios e implica todas aquellas precauciones que se deben considerar para minimizar la enfermedad. Dentro de las medidas de precaución se pueden mencionar:

- Mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias y de manejo poblacional para minimizar la diseminación de la enfermedad.
- Vigilancia epidemiológica mediante monitoreos serológicos periódicos en las explotaciones animales.

Blood y Radostits (1992) mencionan como los métodos de control:

- Antibióticoterapia: el uso de antibióticos como penicilina, estreptomina y dihidroestreptomina. Este último actúa sobre la leptospiremia y elimina los estados del portador.
- Vacunas: contra los serotipos específicos. Las bacterinas no protegen contra la infección renal y la iniciación del estado del portador; aunque desde el punto de vista clínico parecen asintomáticos. El efecto protector de la vacuna produce disminución de abortos y mortandad en terneros.

Las interacciones antígeno- anticuerpo pueden ocurrir en el animal (*in vivo*) o fuera de éste (*in vitro*) bajo condiciones de laboratorio especiales y controladas, siendo muy utilizadas en las pruebas diagnósticas (Harley *et al.* 2002).

Se emplean varios procedimientos serológicos para identificar anticuerpos específicos uno de ellos es la prueba de ELISA, por sus siglas en inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas). Esta prueba se ha convertido en una de las más empleadas para detección de anticuerpos o de antígenos. Implica la incubación de un antígeno en un búfer sensibilizante apropiado en los pocillos de una placa de microaglutinación y que se absorbe a las paredes de los pocillos. El antígeno libre se elimina por lavado. Si existe anticuerpo específico, se une al antígeno. El anticuerpo no unido también se elimina mediante lavados. Los anticuerpos directa o indirectamente producen una reacción y que puede ser medida por espectrofotometría (Harley *et al.* 2002).

Andrade (2002) desarrolló una investigación epidemiológica de brucelosis y leptospirosis en el Litoral Atlántico y el Valle del Aguán en Honduras, y obtuvo una prevalencia del 24.7% para leptospirosis en 255 muestras tomadas a vacas en etapa reproductiva, siendo la prevalencia en los departamentos de Colon y Yoro cuatro y cinco veces mayores que en el departamento de Atlántida (8%). Los serotipos encontrados con mayor frecuencia fueron *Cannicola*, *Hardjo* y *Pomona*; cabe destacar que alrededor del 30% de los animales positivos, presentaron más de un serotipo de leptospira. Las explotaciones estudiadas presentaban una incidencia alta de abortos y del síndrome de caída de leche.

Esta investigación que tuvo como objetivo determinar la prevalencia e índice epidémico de la leptospirosis bovina en 23 explotaciones ganaderas distribuidas en el territorio hondureño.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó entre agosto del 2008 y julio del 2009. Con base en los datos suministrados por el Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA) se seleccionaron 23 fincas ganaderas distribuidas en el territorio hondureño. Las fincas, el propietario, número de animales por finca y su ubicación se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Ubicación, finca y/o propietario y número de animales de cada una de las fincas seleccionadas.

Departamento/Ciudad	Finca y/o propietario	Nº animales
Trojes, El Paraíso	Hacienda Casa Blanca	580
Trojes, El Paraíso	Finca Santa Elena	350
Trojes, El Paraíso	Finca Las Acacias	390
Jamastrán, El Paraíso	Hacienda Rancho Rosalía	460
El Paraíso	Hacienda Las Gemelas	150
Danlí, El Paraíso	Hacienda Los Alpes	1400
Juticalpa, Olancho	Hacienda La Caña	860
Juticalpa, Olancho	Hacienda Los Ángeles	200
Olancho	Hacienda Piedras Negras	450
Francisco Morazán	Zamorano	230
Trojes, El Paraíso	Hacienda Las Marías	650
Olancho	Gerardo Gómez	300
El Bijagual, Olancho	Hacienda El Sálamo	480
Lepaguare, Olancho	Hacienda La Pradera	550
Marcovia, Choluteca	Hacienda La Grecia	1200
Zamora, Colón	Hacienda Zamora	700
Olanchito, Yoro	Hacienda La Joya	400
Bonito Oriental, Colón	Hacienda Piedras Blancas	800
Saba, Colón	Hacienda Hermanos Ligeros	600
Cáceres, Choluteca	Hacienda El Faro	200
Bonito Oriental, Colón	Hacienda Bonito Oriental	800
Comayagua	Fondo Ganadero	300
Juticalpa, Olancho	Hacienda El Pinar	670
Total		12720
Promedio		553

En cada una de las fincas se tomaron 20 hembras al azar, usando como criterios de inclusión animales que se encontraban en etapa reproductiva y que no hubiesen sido vacunadas contra la leptospirosis (muestreo estratificado).

Las muestras se tomaron por punción en la vena caudal o coccígea, recolectando aproximadamente 6 mL de sangre, utilizando agujas calibre 22 x 1½' acopladas al sistema de vacío vacutainer en tubos estériles de 10 mL; se utilizó una aguja y un vacutainer por vaca. Una vez recolectadas las muestras fueron colocadas en posición inclinada y luego sometidas a centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos, para separar el plasma del coágulo. El plasma fue almacenado en tubos eppendorf de 1.5 mL y congelado a -5°C, para luego preparar las placas de dilución. Las muestras que no se pudieron centrifugar inmediatamente después de la recolección, fueron refrigeradas entre 4-8°C por periodos no mayores de 48 horas hasta su centrifugación.

Después de recolectadas las muestras, se prosiguió al montaje de las placas para la prueba de ELISA la cual fue realizada en Laboratorios Molina en Tegucigalpa. Se utilizó un kit de Linnodee Animal Care y un lector de placas marca Bio-tek 311 utilizando un filtro de 450 nm para el serovar *Harjo bovis* (HB). El desarrollo de la prueba se hizo de acuerdo al protocolo suministrado en el kit.

Los datos fueron analizados utilizando el programa WinEpi TASAS versión 2.0, mediante el cual se calculó la prevalencia e índice epidémico para cada finca y general (Blas y Ortega s.f.).

La Prevalencia (P) se define como la cantidad de animales enfermos que se presenta en una población conocida durante un período determinado, sin distinguir los casos nuevos de los casos antiguos. La prevalencia generalmente se expresa como **prevalencia puntual**, la cual es la cantidad de animales enfermos que existe en una población en un momento determinado del tiempo. A pesar de que la prevalencia puede ser definida simplemente como el número de animales afectados, generalmente se expresa en términos del número de animales enfermos en relación con el número de animales existentes en la población en riesgo de desarrollar la enfermedad (Thrusfield 1990).

$$P = \frac{\text{Número de animales que presentan una enfermedad en un periodo de tiempo concreto}}{\text{Número de individuos en riesgo de la población, en el mismo periodo de tiempo}}$$

El Índice Epidémico (IE) se define como la expresión del número de nuevos casos que aparecen en una población conocida durante un periodo de tiempo. Mide el flujo de individuos desde el estado libre de enfermedad al enfermo en dicha población. Su interpretación se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Interpretación del Índice Epidémico

Valor	Interpretación
< 0.75	Menos casos de los esperados
0.75 a 1.25	Casos similar a los esperados
0.75 a 1.25	Exceso de casos

Fuente: Winepi TASAS 2.0

La incidencia al igual que la prevalencia, puede ser definida simplemente en términos del número de animales afectados, pero, generalmente, se expresa en relación con la población en riesgo.

El exceso de casos esperados hace referencia a que existen más casos de los que se esperarían en un periodo determinado de tiempo y si se habla de menos de los casos esperados, es que en ese periodo de tiempo hay menos casos de los esperados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En forma general el resultado epidemiológico mostró una Pe de 1.09%, una Po de 55.43%, un IE de 50.85, dando como interpretación final más casos de los esperados. Uno de los principales factores que pueden estar influyendo en tan altos índices epidémicos es el manejo inadecuado en control y manejo de plagas en las fincas, principalmente de roedores, ya que de acuerdo a la información suministrada por los administradores no se ejecuta ningún plan de acción, solo cuando la población de roedores es excesiva, los ganaderos compran cebos y los colocan solo una vez. La falta de prevención (programas de vacunación), diagnóstico, profilaxis y tratamiento son otros de los factores de los que depende una gran parte la sanidad del hato y los resultados obtenidos.

El resultado obtenido para el Índice Epidémico (IE), Porcentaje de Prevalencia esperada (Pe), Porcentaje de Prevalencia observada (Po) y los casos esperados se presentan en el Cuadro 3. Los mayores valores para Pe los presentaron las fincas El Faro, Rancho Rosalía y La Pradera, mientras que los menores valores se encontraron en Las Gemelas y Ganadería Gómez; con respecto a la Po los mayores valores fueron encontrados en las fincas Rancho Rosalía, El Faro, Piedras Blancas y Los Ángeles, mientras que la finca con el menor valor fue Piedras Negras.

Con respecto al IE, los valores más elevados se encontraron en la fincas Ganadería Gómez, seguida por Hda. Casa Blanca, El Sálamo, Las Gemelas, La Grecia, Santa Elena y Bonito Oriental; la finca Piedras Negras fue la única que presentó un IE bajo. Al analizar la relación de estos indicadores con los casos esperados, se obtuvo que todas las fincas estudiadas presentaran un exceso de casos a los esperados con excepción de la finca Piedras Negras que presentó un indicador de menos casos de los esperados (Cuadro 3).

Al agrupar los resultados de acuerdo a su ubicación (departamento), se obtuvo que las fincas ubicadas en el departamento de Yoro presentan la mayor Pe y Po, mientras que el mayor IE lo presentaron las fincas ubicadas en el departamento de Olancho (Cuadro 3).

Cuadro 3. Índice Epidémico (IE), Prevalencia esperada (Pe) y observada (Po) e interpretación de los casos esperados para cada una de las fincas muestreadas

Departamento	Finca	Prevalencia observada (%Po)	Prevalencia esperada (%Pe)	Índice Epidémico (IE)	Casos esperados
Choluteca	La Grecia	53.33	8.33	6.4	Exceso
Choluteca	El Faro	92.85	57.14	1.63	Exceso
Colón	Hermanos Ligeros	35	7.69	4.55	Exceso
Colón	Hacienda Zamora	60	14.29	4.2	Exceso
Colón	Bonito Oriental	76.92	12.82	6	Exceso
Colón	Piedras Blancas	80	25	3.2	Exceso
Comayagua	Fondo Ganadero	65	14.29	4.55	Exceso
El Paraíso	Las Gemelas	33.33	5.13	6.5	Exceso
El Paraíso	Las Acacias	50	10	5	Exceso
El Paraíso	Hacienda Casa Blanca	57.14	6.12	9.34	Exceso
El Paraíso	Los Alpes	63.63	27.27	2.33	Exceso
El Paraíso	Las Marías	73.33	13.33	5.5	Exceso
El Paraíso	Santa Elena	81.25	12.5	6.5	Exceso
El Paraíso	Rancho Rosalía	93.33	33.33	2.8	Exceso
Fco. Morazán	EAP Zamorano	78.94	21.05	3.75	Exceso
Olancho	Piedras Negras	8.89	26.66	0.33	Exceso
Olancho	La Caña	55	11.11	4.95	Exceso
Olancho	El Pinar	55	14.29	3.85	Exceso
Olancho	El Sálamo	57.89	7.24	8	Exceso
Olancho	Ganadería Gómez	66.66	5.56	11.99	Exceso
Olancho	La Pradera	68.42	31.58	2.17	Exceso
Olancho	Los Ángeles	80	25	3.2	Exceso
Yoro	La Joya	75	25	3	Exceso
Promedio		63.51	18.03	4.77	Exceso

Cuadro 4. Índice Epidémico (IE), Prevalencia esperada (Pe), Prevalencia observada (Po) y Casos Esperados de acuerdo a la ubicación (departamento)

Ubicación de las Fincas	Prevalencia observada (%Po)	Prevalencia esperada (%Pe)	Índice Epidémico (IE)	Casos esperados
Colón	62.98	14.95	4.49	Exceso
Choluteca	73.09	32.74	4.02	Exceso
Olancho	55.98	17.35	4.93	Exceso
El Paraíso	64.57	15.38	5.42	Exceso
Comayagua	65.00	14.29	4.55	Exceso
Fco. Morazán	78.94	21.05	3.75	Exceso
Yoro	75.00	25.00	3.00	Exceso

Según Dubraska y Díaz (2005) el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Venezuela (INIA) encontró en el periodo de 1998-2002 de un análisis de 3,380 muestras de sueros bovinos procedentes de 302 fincas de la mayoría de los estados del país, que el 46% (1,555) resultaron con sueros seroaglutinantes y el 72.6% se reportó con seropositivos. El serovar Hardjo es el que más predomina cada año. Estas cifras resaltan el impacto económico en la ganadería y el alto riesgo de exposición al que se enfrenta el hombre en las éstas zonas pecuarias.

Céspedes (2003) indica que en un estudio realizado en la provincia Manu, Madre de Dios en Perú para determinar la prevalencia de leptospirosis y los factores de riesgo en 71 personas que presentaban antecedentes de fiebre en dicha provincia. La positividad en las mujeres fue de 31.9% y en los hombres de 45.8%. Lo anterior demuestra la presencia de esta enfermedad en otros países igualmente afectando tanto la ganadería como al humano

4. CONCLUSIONES

- La prevalencia observada presentó valores entre 8.89% y 93.33%, mientras que la prevalencia esperada estuvo entre 5.13% y 57.14%
- La relación entre la prevalencia observada y prevalencia esperada dio como resultado un índice epidémico superior a 1.25 lo que se interpreta como exceso de casos en las 23 fincas analizadas.

5. RECOMENDACIONES

- Establecer un programa de monitoreo y control de vectores (roedores).
- Manejo y control de aguas estancadas, control de malezas alrededor de las instalaciones y evitar la acumulación de basura.
- Establecer un programa de monitoreo serológico en los hatos, con énfasis en el análisis de los trastornos reproductivos (abortos, retenciones de placenta, repetición de celos) y productivos (síndrome de caída de leche) a fin de diagnosticar lo antes posible la presencia del patógeno.
- Establecer un programa de vacunación y protocolo de tratamiento de los animales seropositivos.

6. BIBLIOGRAFÍA

Acha, P; Szyfres, B. 1988. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales. 2ª ed. Washington, D.C. Publicación Científica No. 503

Andrade, D. 2002. Estudio epidemiológico de Brucelosis y Leptospirosis en el litoral Atlántico y el Valle del Aguán. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. EAP Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 14 p.

Blas, I; Ortega, C. s.f. Unidad de patología infecciosa y epidemiología. Facultad de Veterinaria. España. Manual de WinEpi TASAS 2.0.

Blood, DC; Radostits, OM. 1992. Medicina Veterinaria: Leptospirosis. 7ª ed. México D.F. McGraw-Hill Interamericana. p 816-827.

Céspedes, M. 2003. Prevalencia de leptospirosis y factores de riesgo en personas con antecedentes de fiebre en la provincia de Manu, Madre de Dios, Perú. Revista de medicina experimental y salud pública. 20(4): 6.

Dubraska, V; Díaz, C. 2005. Leptospirosis. Manual de ganadería de doble propósito. (en línea). Maracaibo, Venezuela. Consultado 24 mayo 2009. Disponible en: http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo4-s5.pdf

Faine, S. 1982. Guide lines for the control of leptospirosis. Ed. Faine, S. Geneva, WHO. OMS, Publicación No. 67: 16.

Harley, JP; Klein, DA; Prescott, LM. 2002. Microbiología. 5ª ed. Madrid, España. McGraw-Hill Interamericana. p 836-839.

López, M; Fleisher, T; De Shazo, RD. 1992. Use and interpretation of diagnosis immunologic laboratory tests. JAMA (en línea) Consultado el 14 de mayo 2009. Disponible en: <http://jama.ama-assn.org/>

Meneses, P.; Faz, L. 2007. Monitoreo de la mosca doméstica, *Musca domestica*, en Zootecnia y evaluación de control de roedores en la unidad de aves Zamorano, Honduras. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. EAP Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. p 4.

Pedroso, B. 2000. Estudio epidemiológico de leptospira. Revista Panamericana de Salud Pública. Santos, Brasil. (36) 1: 36.

Rojas, J; Céspedes, M. 2008. Development of PCR rep1 to differentiate serovars of leptospira sp and comparison with the Immunological test MAT (microscopic agglutination test). Consultado 3 de Julio 2009. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpoe/v4n2/a02v4n2.pdf>

Thrusfield, M. 1990. Epidemiología Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal. Zaragoza, España. Editorial Acribia, S.A. 42 p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Densidades ópticas, cálculos e interpretación de cada una de las cinco placas de ELISA

Bovine *Leptospira hardjo* Antibody Test

Plate # 1

Wavelengths: 450nm 630nm

Date: 30.08.08

Table 1. Negative Cut Off Value.

Positive Control (POS)	OD 450/630nm	Negative Control (NEG)	OD 450/630nm	Ratio (x/mean POS)	Ratio
POS 1	1.319	NEG 1	0.059	0.059/1.372	0.043
POS 2	1.536	NEG 2	0.056	0.056/1.372	0.041
POS 3	1.261	NEG 3	0.061	0.061/1.372	0.044
Mean	1.372			Mean	0.043
				Mean NEG x 2	0.086

Negative Cut Off	0.086
-------------------------	--------------

Table 2. Ratio.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	0.961	1.120	0.919	0.043	0.041	0.044	0.307	0.044
2	0.024	0.034	0.038	0.402	0.120	0.254	0.067	0.262
3	0.200	0.493	0.007	0.087	0.043	0.078	0.197	0.036
4	0.052	0.154	0.072	0.454	0.481	0.580	0.448	0.156
5	0.044	0.031	0.022	0.028	0.037	0.544	0.257	0.520
6	0.418	0.376	0.007	0.046	0.026	0.020	0.054	0.037
7	0.023	0.926	0.415	0.096	0.274	0.020	0.049	0.032
8	0.196	0.558	0.461	0.038	0.117	0.034	0.042	0.055
9	0.069	0.029	0.042	0.405	0.031	0.144	0.358	0.018
10	0.309	0.374	0.187	0.454	0.021	0.101	0.007	0.007
11	0.008	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.038	0.080
12	0.392	0.020	0.417	0.401	0.022	0.182	0.106	0.049

Table 3. Identification of Serum Samples Results.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	C+	C+	C+	C-	C-	C-	1	0
2	0	0	0	1	1	1	0	1
3	1	1	0	1	0	0	1	0
4	0	1	0	1	1	1	1	1
5	0	0	0	0	0	1	1	1
6	1	1	0	0	0	0	0	0
7	0	1	1	1	1	0	0	0
8	1	1	1	0	1	0	0	0
9	0	0	0	1	0	1	1	0
10	1	1	1	1	0	1	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0
12	1	0	1	1	0	1	1	0

Table 4. Results for Serum Samples.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	C+	C+	C+	C-	C-	C-	Positive	Negative
2	Negative	Negative	Negative	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive
3	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative	Negative	Positive	Negative
4	Negative	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
5	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Positive	Positive	Positive
6	Positive	Positive	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
7	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Negative	Negative
8	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative	Negative	Negative
9	Negative	Negative	Negative	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative
10	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative	Negative
11	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
12	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative

Plate #	A3	B	C	D	E	F	G	H
1	1.319	1.536	1.261	0.059	0.056	0.061	0.421	0.061
2	0.033	0.047	0.052	0.552	0.164	0.349	0.092	0.360
3	0.275	0.677	0.010	0.119	0.059	0.107	0.270	0.049
4	0.072	0.211	0.099	0.623	0.660	0.796	0.614	0.214
5	0.060	0.043	0.030	0.038	0.051	0.747	0.352	0.714
6	0.574	0.516	0.009	0.063	0.036	0.028	0.074	0.051
7	0.031	1.270	0.569	0.132	0.376	0.027	0.067	0.044
8	0.269	0.765	0.633	0.052	0.161	0.047	0.058	0.075
9	0.095	0.040	0.058	0.556	0.043	0.197	0.491	0.025
10	0.424	0.513	0.256	0.623	0.029	0.139	0.010	0.010
11	0.011	0.010	0.009	0.009	0.009	0.010	0.052	0.110
12	0.538	0.028	0.572	0.550	0.030	0.250	0.145	0.067

End of Run

Plate # 2
 Wavelengths: 450nm 630nm
 Date: 01.09.08

Table 5. Negative Cut Off Value.

Positive Control (POS)	OD 450/630nm	Negative Control (NEG)	OD 450/630nm	Ratio (x/mean POS)	Ratio
POS 1	1.388	NEG 1	0.100	0.100/1.372	0.073
POS 2	1.360	NEG 2	0.063	0.063/1.372	0.046
POS 3	1.368	NEG 3	0.087	0.087/1.372	0.063
Mean	1.372			Mean	0.061
				Mean NEG x 2	0.121

Negative Cut Off 0.121

Table 6. Ratio.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	1.012	0.991	0.997	0.180	0.956	0.192	0.203	0.383
2	0.073	0.046	0.063	0.181	0.803	0.652	0.348	0.464
3	1.052	0.730	0.499	0.459	0.131	0.007	0.198	0.614
4	0.182	0.772	0.079	0.173	0.093	0.379	0.283	0.082
5	0.241	0.430	0.415	0.138	0.454	0.058	0.224	0.388
6	0.784	0.054	0.036	0.126	0.027	0.045	0.712	0.403
7	0.087	0.113	0.030	0.017	0.638	0.585	0.064	0.356
8	0.337	0.058	0.234	0.663	0.042	0.318	0.815	0.291
9	0.343	0.256	0.101	0.754	0.036	0.203	0.305	0.077
10	0.341	0.069	0.047	0.276	0.125	0.063	0.278	0.183
11	0.093	0.131	0.348	0.343	0.513	0.252	0.087	0.245
12	0.273	0.547	0.431	0.249	0.113	0.224	0.052	0.094

Table 7. Identification of Serum Samples Results.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	C+	C+	C+	1	1	1	1	1
2	C-	C-	C-	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	1	0	1	1
4	1	1	0	1	0	1	1	0
5	1	1	1	1	1	0	1	1
6	1	0	0	1	0	0	1	1
7	0	0	0	0	1	1	0	1
8	1	0	1	1	0	1	1	1
9	1	1	0	1	0	1	1	0
10	1	0	0	1	1	0	1	1
11	0	1	1	1	1	1	0	1
12	1	1	1	1	0	1	0	0

Table 8. Results for Serum Samples.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	C+	C+	C+	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
2	C-	C-	C-	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
3	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive
4	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative
5	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive
6	Positive	Negative	Negative	Positive	Negative	Negative	Positive	Positive
7	Negative	Negative	Negative	Negative	Positive	Positive	Negative	Positive
8	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive
9	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative
10	Positive	Negative	Negative	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive
11	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive
12	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative	Negative

Test # 50 LEPTO-H
 ABSORBANCE MODE B PAGE 1
 Lot Number: Placa # 2 Exp. Date: _____
 User: Rosa Molina
 WAVELENGTHS=450nm 630nm
 Plate #A2

Modified: 08/29/08
 09/01/08

1
 1

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	1.388	1.360	1.368	0.247	1.311	0.263	0.279	0.526
2	0.100	0.063	0.087	0.248	1.102	0.894	0.478	0.636
3	1.444	1.002	0.685	0.630	0.180	0.010	0.272	0.842
4	0.250	1.059	0.108	0.237	0.128	0.520	0.388	0.112
5	0.330	0.590	0.570	0.190	0.623	0.080	0.308	0.532
6	1.076	0.074	0.049	0.173	0.037	0.062	0.977	0.553
7	0.120	0.155	0.041	0.024	0.876	0.802	0.088	0.489
8	0.462	0.079	0.321	0.910	0.058	0.436	1.118	0.399
9	0.471	0.351	0.139	1.035	0.049	0.279	0.418	0.105
10	0.468	0.095	0.064	0.378	0.171	0.086	0.381	0.251
11	0.128	0.180	0.477	0.471	0.704	0.346	0.120	0.336
12	0.375	0.751	0.592	0.342	0.155	0.307	0.071	0.129

Plate # 3
 Wavelengths: 450nm 630nm
 Date: 02.09.08

Table 12. Results for Serum Samples.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	C+	C+	C+	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
2	C-	C-	C-	Positive	Negative	Negative	Positive	Positive
3	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Negative	Negative	Negative
4	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative	Negative
5	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
6	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive
7	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive
8	Negative	Negative	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive
9	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative
10	Negative	Negative	Positive	Negative	Negative	Positive	Positive	Negative
11	Negative	Positive	Negative	Negative	Negative	Negative	Positive	Negative
12	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive

ABSORBANCE MODE 8 PAGE 1
 Lot Number: Placa 3 Exp. Date: _____
 User: P. Malva
 WAVELENGTHS=450nm 630nm
 Plate # 1

09/02/08 17:

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	2.359	2.656	2.352	0.043	0.221	0.088	0.677	0.114
2	0.045	0.079	0.059	0.318	0.021	0.041	1.200	1.502
3	0.135	0.779	0.349	0.738	0.039	0.008	0.078	0.072
4	1.402	0.830	0.505	0.072	0.881	0.540	0.049	0.046
5	0.255	1.104	0.872	0.670	0.888	0.522	0.965	1.286
6	1.153	0.067	1.201	0.622	0.032	0.623	1.176	1.116
7	0.906	1.579	0.479	0.044	0.329	0.241	1.221	1.440
8	0.065	0.046	0.332	0.245	0.085	0.186	0.377	0.285
9	0.523	0.735	1.209	0.637	0.829	0.076	0.392	0.045
10	0.044	0.037	0.482	0.027	0.053	0.605	0.320	0.034
11	0.056	0.853	0.120	0.117	0.093	0.095	1.199	0.038
12	0.165	0.702	0.534	0.598	0.398	0.871	0.260	0.452

End of Run

Plate # 4
 Wavelengths: 450nm 630nm
 Date: 04.09.08

Table 13. Negative Cut Off Value.

Positive Control (POS)	OD 450/630nm	Negative Control (NEG)	OD 450/630nm	Ratio (x/mean POS)	Ratio
POS 1	1.951	NEG 1	0.047	0.047/1.538	0.031
POS 2	1.213	NEG 2	0.053	0.053/1.538	0.034
POS 3	1.449	NEG 3	0.047	0.047/1.538	0.031
Mean	1.538			Mean	0.032
				Mean NEG x 2	0.064

Negative Cut Off	0.064
-------------------------	--------------

Plate # 4
 Wavelengths: 450nm 630nm
 Date: 04.09.08

Table 14. Ratio.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	1.269	0.789	0.942	0.754	0.284	0.317	0.039	0.395
2	0.031	0.034	0.031	0.206	0.216	0.553	0.067	0.486
3	0.291	0.952	0.425	0.052	0.071	0.505	0.047	0.027
4	0.806	0.122	0.525	0.963	0.691	0.338	0.146	0.928
5	0.099	0.597	1.192	0.021	0.356	0.481	0.414	0.518
6	0.791	0.038	0.047	0.070	0.134	0.044	0.094	0.055
7	0.035	0.288	0.269	0.331	0.067	0.149	0.252	0.763
8	0.047	0.103	0.090	0.376	0.305	0.420	0.191	0.030
9	0.617	0.883	0.656	0.114	0.052	0.743	0.018	0.617
10	0.047	0.899	0.097	0.238	0.758	0.319	0.020	0.030
11	0.832	0.901	0.717	0.056	0.017	0.525	0.061	0.123
12	0.348	0.107	0.062	0.344	0.252	0.153	0.688	0.551

Table 15. Identification of Serum Samples Results.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	C+	C+	C+	1	1	1	0	1
2	C-	C-	C-	1	1	1	1	1
3	1	1	1	0	1	1	0	0
4	1	1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	0	1	1	1	1
6	1	0	0	1	1	0	1	0
7	0	1	1	1	1	1	1	1
8	0	1	1	1	1	1	1	0
9	1	1	1	1	0	1	0	1
10	0	1	1	1	1	1	0	0
11	1	1	1	0	0	1	0	1
12	1	1	0	1	1	1	1	1

Plate # 4

Wavelengths: 450nm 630nm

Date: 04.09.08

Table 16. Results for Serum Samples.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	C+	C+	C+	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive
2	C-	C-	C-	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
3	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Negative	Negative
4	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
5	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive
6	Positive	Negative	Negative	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative
7	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
8	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative
9	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
10	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative	Negative
11	Positive	Positive	Positive	Negative	Negative	Positive	Negative	Positive
12	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive

#4

Plate #A1	B	C	D	E	F	G	H	
1	1.951	1.213	1.449	1.160	0.437	0.487	0.060	0.607
2	0.047	0.053	0.047	0.317	0.332	0.850	0.103	0.748
3	0.448	1.464	0.653	0.080	0.109	0.777	0.072	0.041
4	1.239	0.187	0.808	1.481	1.063	0.520	0.225	1.427
5	0.152	0.918	1.833	0.032	0.548	0.740	0.637	0.796
6	1.217	0.059	0.072	0.107	0.206	0.067	0.144	0.084
7	0.054	0.443	0.413	0.509	0.103	0.229	0.387	1.173
8	0.072	0.159	0.139	0.578	0.469	0.646	0.293	0.046
9	0.948	1.358	1.009	0.176	0.080	1.143	0.028	0.948
10	0.073	1.383	0.149	0.366	1.166	0.491	0.030	0.046
11	1.280	1.385	1.102	0.086	0.026	0.807	0.094	0.189
12	0.535	0.165	0.096	0.529	0.388	0.235	1.058	0.848

Plate # 5
Wavelengths: 450nm 630nm
Date: 06.09.08

Table 17. Negative Cut Off Value.

Positive Control (POS)	OD 450/630nm	Negative Control (NEG)	OD 450/630nm	Ratio (x/mean POS)	Ratio
POS 1	1.527	NEG 1	0.103	0.103/1.560	0.066
POS 2	1.634	NEG 2	0.075	0.075/1.560	0.048
POS 3	1.518	NEG 3	0.119	0.119/1.560	0.076
Mean	1.560			Mean	0.063
				Mean NEG x 2	0.127

Negative Cut Off	0.127
-------------------------	--------------

Plate #A3	B	C	D	E	F	G	H	
1	1.527	1.634	1.518	0.197	0.473	0.642	0.117	1.035
2	0.103	0.075	0.119	0.902	1.506	0.473	1.164	0.231
3	0.678	1.165	0.303	1.148	0.452	0.131	1.153	0.180
4	0.121	0.431	1.382	0.117	0.060	0.094	0.207	0.120
5	0.590	1.383	1.188	0.862	0.096	0.400	0.060	1.071
6	0.212	0.240	1.458	0.018	0.017	0.007	0.016	0.013
7	0.018	0.021	0.015	0.015	0.053	1.060	0.232	0.118
8	0.065	0.061	0.044	0.045	0.055	0.064	0.047	0.040
9	0.054	0.040	0.034	0.034	0.043	0.045	0.046	0.036
10	0.047	0.052	0.043	0.036	0.034	0.041	0.048	0.033
11	0.068	0.046	0.052	0.020	0.020	0.016	0.019	0.018
12	0.026	0.022	0.023	0.024	0.024	0.024	0.023	0.023

End of Run