

# SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS BOVINA EN RELACIÓN A LOS FACTORES DE RIESGO EN EL MUNICIPIO ALBERTO ADRIANI ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA

Serological Prevalence of Leptospirosis Bovine to Risk Factors at the Alberto Adriani Municipality, Merida State, Venezuela

Miguel Ramírez<sup>1</sup> y Sergio Rivera P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FONAIAP-Anzoátegui, Apartado 212. El Tigre, Edo. Anzoátegui, Venezuela. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Apartado 15252. Maracaibo 4005-A, Edo. Zulia, Venezuela. E-mail: srivera@cantv.net

## RESUMEN

Se recolectaron mediante punción de la vena yugular, muestras de sangre de 384 bovinos en 32 fincas productoras de leche, localizadas en El Vigía, municipio Alberto Adriani, estado Mérida, Venezuela. Se realizó la prueba de aglutinación microscópica (AM). De los 384 sueros, 231 (60,1%) resultaron positivos y 153 negativos (39,9%). El serovar *hardjo* estaba presente en el 40,78% y el *hebdomadis* en un 30,74% de los sueros positivos. Sesenta y dos sueros (26,83%) reaccionaron aisladamente al serovar *hardjo*, y 9 sueros (3,89%) al serovar *hebdomadis*; el resto reaccionó contra más de un serovar. Se obtuvo asociación estadística entre leptospirosis y fincas con problemas graves de roedores, entre abortos y leptospirosis; a su vez se detectaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en las explotaciones donde existía asistencia veterinaria permanente y en las fincas donde se suplementaron los animales con concentrado. Se determinó asociación causal entre leptospira y los factores: sexo, vacunación, abortos y tipo de explotación.

**Palabras clave:** Leptospirosis, riesgo, aglutinación microscópica, reservorios, abortos.

## ABSTRACT

Blood samples were collected for serologic examinations from 384 bovines in 32 dairy farms, located at Alberto Adriani county, Mérida state, Venezuela. It was carried out the microscopic agglutination test (AM). Of the 384 serums, 231 (60.1%) resulted positives and 153 negatives (39.9%). The *hardjo* serovar was present in the 40.78% and *hebdomadis* one in the

30.74% of the positive serums. Sixty two serums (26.83%) reacted to the *L. hardjo*, and 9 serums (3.89%) to the *L. Hebdomadis*, the remainder reacted against more than one serovar. Statistical association was gotten between *Leptospira* and abortion or farms with grave problems of rodents. Significant differences ( $P < 0.05$ ) were detected when veterinary permanent attendance existed and in the farms with concentrated supplementation. It was detected causal association between leptospira and the following factors: sex, vaccination, abortion and type of exploitation.

**Key words:** Leptospirosis, risk, microscopic agglutination test, reservoirs, abortion.

## INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis es una zoonosis distribuida ampliamente a nivel mundial, causada por un grupo de bacterias en forma de espiral, espiroquetas [1].

El género *Leptospira* pertenece al orden *Spirochaetales* y a la familia *Leptospiraceae*; este género se subdivide en dos especies: *L. interrogans*, las cuales incluyen todos los serovares patógenos y la especie *L. Biflexa*, que incluye los serovares saprófitos [24]. La especie *L. interrogans* agrupa todas las leptospira patógenas, que comprenden alrededor de doscientos serovares [18, 26]. Hoy en día con los avances diagnósticos de Biología Molecular, se han identificado siete especies patógenas [22, 29].

Las investigaciones de Feigin [6], determinaron que todos los serovares parásitos son potencialmente patógenos tanto para las especies de animales domésticos, como para el hombre [23].

La Leptospirosis en bovinos fue identificada por primera vez en Rusia en 1935 [7].

Roth y col. [19], en el año 1958 aíslan el microorganismo en los Estados Unidos; adicionalmente, mediante estudios serológicos evidenciaron que *hardjo* es el serovar más frecuente.

En Venezuela, las investigaciones sobre Leptospirosis fueron iniciadas por Jelambi en 1965. Durante el período 1968-1970, en el Instituto de Investigaciones Veterinarias en Maracay, se aislaron doce cepas de leptospiras en diferentes especies animales, y el primer aislamiento en bovinos fue realizado en el año 1969 [9].

Estudios epidemiológicos realizados en Leptospirosis en Venezuela por Jelambi y col. [10] en bovinos y búfalos durante el período 1975-1981, en 13.341 muestras de suero de las principales áreas ganaderas del país, detectaron los siguientes serovares: *hardjo*, *ballum*, *pomona*, *grippotyphosa*, *canícola*, *icterohaemorrhagiae*. Estos hallazgos fueron confirmados mediante aislamiento y tipificación de leptospiras a partir de muestras de riñón y de fetos. Los serovars *hardjo*, *canícola* e *icterohaemorrhagiae* fueron los más frecuentes. La seroprevalencia para el estado Zulia en esa oportunidad fue de un 68,0% [10]. Para 1989, también en el estado Zulia, en sueros provenientes de animales con historia clínica de Leptospirosis, se obtuvo un 78,6% de positividad resultando el serovar *hardjo* el de mayor importancia seguido del *hebdomadis* [10].

En bovinos, la enfermedad presenta una alta morbilidad: afecta el 75,0% de los animales de un rebaño; la forma aguda de la enfermedad puede manifestar signos como fiebre repentina de 40°C o más, anorexia, ictericia, hematuria, hemoglobiuria, niveles aumentados de bilirrubina y albúmina en orina, desarrollo de uremia en los estadios finales, siendo los animales jóvenes los más susceptibles; los animales preñados suelen abortar. En esta forma aguda de la enfermedad suele aislarse como agente causal *L. pomona* [21].

La forma subaguda tiene un período de aparición lento, puede presentarse una ligera ictericia acompañada de aumento de volumen de los riñones producto de una nefritis. La lactación se reduce y se observa "mastitis de ubre blanda" [8, 17]. Usualmente, las serovariaciones más aisladas en este tipo de infección son *L. canícola*, *L. griptifosa* y *L. icterohemorrágica* [17].

La forma crónica se asocia comúnmente a: abortos, nacimientos débiles, muerte fetal, mortinatos y retención placentaria. Es posible que no presente ningún otro síntoma. Los anticuerpos por Aglutinación Microscópica (AM) pueden estar en un rango de dilución que va de 1:100 a 1:3.000. Algunos autores reportan la presencia del serovar *hardjo* en estas infecciones crónicas [17].

El sexo [25], la presencia de reservorios [13], la ausencia de vacunación [25], el tipo de explotación [3, 12], han sido reportados como factores de riesgo asociados a la Leptospirosis. La conformación anatómica de la hembra la condiciona a sufrir enfermedades relacionadas con el tracto uterino y la

ubre. Existen condiciones que favorecen la sobrevivencia de la espiroqueta en la naturaleza, entre ellas está el clima, especialmente temperatura e índices pluviométricos y a estas se les suma la presencia de una gran variedad de roedores silvestres con un alto grado de infección, constituyéndose en reservorios importantes para determinados serovares.

En el presente trabajo se intentó realizar un estudio seroepidemiológico para evaluar el estado actual de la Leptospirosis bovina en el municipio Alberto Adriani estado Mérida, debido a las evidencias clínicas de la enfermedad, aunado a la enorme cantidad de abortos detectados en esta zona. Establecer la seroprevalencia de la leptospira en la región, detección de los serovares más frecuentes y determinación de los factores de riesgo con asociación causal en el Municipio, consistieron los objetivos a lograr.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de sangre a partir de bovinos provenientes de fincas ubicadas en el borde andino de la cuenca del Lago de Maracaibo, procedentes del municipio Alberto Adriani, estado Mérida, Venezuela. Las fincas fueron encuestadas a fin de establecer los diferentes factores involucrados en cada explotación.

### Explotaciones agropecuarias

Las explotaciones agropecuarias donde se efectuó la toma de muestras sanguíneas, se encuentran a una altitud de 130 m sobre el nivel del mar, con una superficie de 70.060 hectáreas y un desarrollo urbano de 2647,49 hectáreas. Las explotaciones bovinas estudiadas están ubicadas al noroeste del estado Mérida y al sur del Lago de Maracaibo, entre los 8° 46' 45" de latitud norte y los 71° 30' 45" de longitud oeste. La precipitación media es de 1526 mm. La temperatura media mensual es de 26,9°C [15].

### Metodología de laboratorio

**Selección de sueros:** Esta investigación se realizó mediante el análisis de 384 sueros bovinos de ambos sexos y edades diferentes, por muestreo aleatorio estratificado (Intervalo de confianza al 95% = 1,96; nivel de significancia = 0,05; error de muestreo = 5%) efectuado en treinta y dos (32) explotaciones productoras de leche o doble propósito durante el mes de agosto de 1996.

**Prueba de Aglutinación Microscópica:** Las muestras fueron procesadas en el Instituto de Investigaciones Veterinarias del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP), Venezuela, mediante la prueba de aglutinación microscópica (AM) serovar específica, como lo recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS) [16].

Se evaluaron seis serovares: *Icterohaemorrhagiae*, *canícola*, *pomona*, *grippotyphosa*, *hebdomadis* y *hardjo*.

Por cada antígeno se preparó un tubo control que contenía 0,2 ml. de solución salina y 0,2 ml. de uno de los seis antígenos mencionados, se agitaron y se incubaron a 37°C por media hora. Con una asa calibrada para bacteriología, se dejó caer una gota sobre un porta objeto de vidrio y se leyó al microscopio de campo oscuro con objetivo de 16x y ocular de 10x.

**Extensión del título:** Los sueros positivos a una dilución de 1/100 fueron seleccionados para la titulación; para la determinación del título se hicieron soluciones dobles; de la dilución del suero de 1/25 se preparó una gradilla con hileras de seis tubos para cada suero positivo hasta completar las siguientes diluciones: 1:100; 1:200; 1:400; 1:800; 1:1600; 1:3200. Se leyeron los tubos después de la incubación por el procedimiento descrito anteriormente.

### Metodología estadística

Para verificar la asociación entre la Leptospirosis y las diferentes variables, se utilizó el test estadístico de Ji cuadrado ( $X^2$ ), empleando niveles de significancia de  $P < 0,05$ . Se elaboraron TABLAS y FIGURAS para cada variable en particular.

A fin de verificar la asociación causal entre la enfermedad y el factor analizado, se determinó el riesgo relativo y la razón de desigualdades con datos provenientes de las encuestas realizadas a cada finca en particular.

**Variable dependiente:** Leptospirosis bovina.

**Variables encuestadas:**

- Sexo: Machos y hembras. Becerros (as), mautes (as), novillos (as), vacas, toros.
- Edad de los animales: Becerros (as), mautes (as), novillos (as), vacas, toros.
- Vacunación.
- Abortos.
- Asistencia Veterinaria.

- Tipo de alimentación.
- Tipo de explotación: leche, carne, mixta.
- Carga animal por hectárea.
- Presencia de Roedores, Caprinos, Ovinos, Caninos.
- Identificación de vacas que abortaron.

## RESULTADOS

Mediante el presente estudio se determinó que el 60,15% de los sueros analizados reveló anticuerpos frente a la leptospira, TABLA I.

En la TABLA II se observa que el mayor porcentaje de positividad lo tienen las hembras con 62,41%; de los 384 sueros analizados mediante la AM, 181 de 290 provenientes de hembras y 50 obtenidos de 94 machos, resultaron positivos.

La FIG. 1 señala que las vacas presentan el mayor número de reactores positivos: de las 178 vacas, 112 resultaron mayormente positivas, seguidas por las becerras [29].

En la FIG. 2 se observa que en los machos, los animales con mayor índice de infección fueron los novillos, con 19 reactores positivos.

La TABLA III muestra que los mayores porcentajes de positividad se presentaron en los grupos etarios mayores de dos años; fundamentalmente, novillos(as) y vacas con 62,96% y 62,96% respectivamente. No se observó diferencia significativa con los otros dos grupos.

En la TABLA IV se observa que la dilución con mayor frecuencia fue 1:800, correspondiendo en mayor número a los animales menores de un año y a bovinos mayores de cuatro años.

Los becerros menores de un año, presentaban el cuadro agudo de Leptospirosis y reaccionaban prontamente a la terapia con antibióticos vía endovenosa.

**TABLA I**  
**RESULTADOS DE LOS SUEROS BOVINOS EXAMINADOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA PARA LEPTOSPIROSIS**

	Sueros Positivos	Sueros Negativos	Total
Aglutinación Microscópica	231	153	384
Positividad en %	60,15	39,9	100

**TABLA II**  
**DISTRIBUCIÓN DE LOS BOVINOS SEROPOSITIVOS, SEGÚN SEXO**

Sexo	Sueros	Negativos	Positivos	% de Positividad
Hembras	290	109	181	62,41
Machos	94	44	50	52,19
Total	384	153	231	60,15

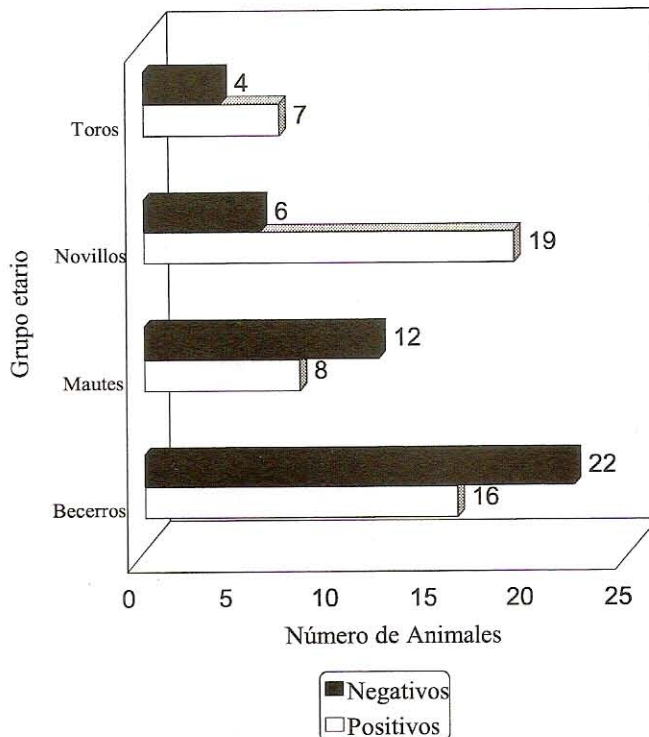
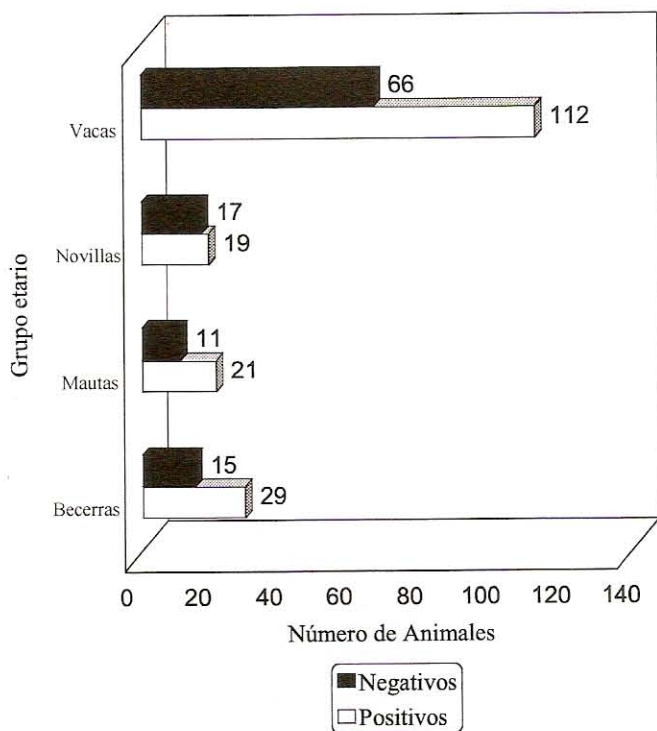


FIGURA 1. LEPTOSPIROSIS BOVINA EN HEMBRAS.

FIGURA 2. LEPTOSPIROSIS BOVINA EN MACHOS.

TABLA III  
DISTRIBUCIÓN SEGÚN GRUPOS ETARIOS; PORCENTAJE DE BOVINOS POSITIVOS A LEPTOSPIRA (AM)

Grupos Etarios	# de Sueros Examinados	Positivos	% de positivos
< 1 Año	82	45	54,87
1-2 Años	52	29	55,76
2-4 Años	61	38	62,29
> 4 Años	189	119	62,96
Total	384	231	60,15

TABLA IV  
DISTRIBUCIÓN DE BOVINOS POSITIVOS A LEPTOSPIRA(AM). VALORES DE TÍTULOS POR GRUPO ETARIO

Diluciones	Grupo Etario			
	Menores a 1 Año	1-2 Años	2-4 Años	Mayores a 4 Años
1:100	7	4	5	8
1:200	7	4	14	24
1:400	6	4	3	24
1:800	12	5	8	39
1:1.600	7	10	6	16
1:3.200	6	2	2	8
Total	45	29	38	119

En la TABLA V se observa que, de los animales mayores de cuatro años (vacas), el 16,88% presentaron diluciones de 1:800 y el 6,92% mostraron diluciones de 1:1.600. Entre los animales menores de un año, el 5,19% resultó con títulos de 800 y en el 4,76%, se encontraron títulos de 1.600. Del Grupo

Etario de dos a cuatro años, el 6,0% mostró títulos de 200. El 69,0% de los bovinos positivos dio como resultado títulos significativos por encima de la dilución 1:400, P < 0,05.

En la FIG. 3 se observa que los bovinos más afectados son los del Grupo Etario mayor a cuatro años de edad (vacas

TABLA V

DISTRIBUCIÓN EN PORCENTAJE DE BOVINOS POSITIVOS A LEPTOSPIRA (AM) SEGÚN DILUCIONES Y GRUPO ETARIO

Diluciones	Grupo Etario			
	Menores a 1 Año	1-2 Años	2-4 Años	Mayores a 4 Años
1:100	3,03%	1,73%	2,16%	3,46%
1:200	3,03%	1,73%	6,00%	9,95%
1:400	2,59%	1,73%	1,30%	10,38%
1:800	5,19%	2,16%	3,46%	16,88%
1:1.600	4,76%	3,05%	2,60%	6,92%
1:3.200	2,68%	0,89%	0,86%	3,46%
Total	21,28%	11,29%	16,38%	51,05%

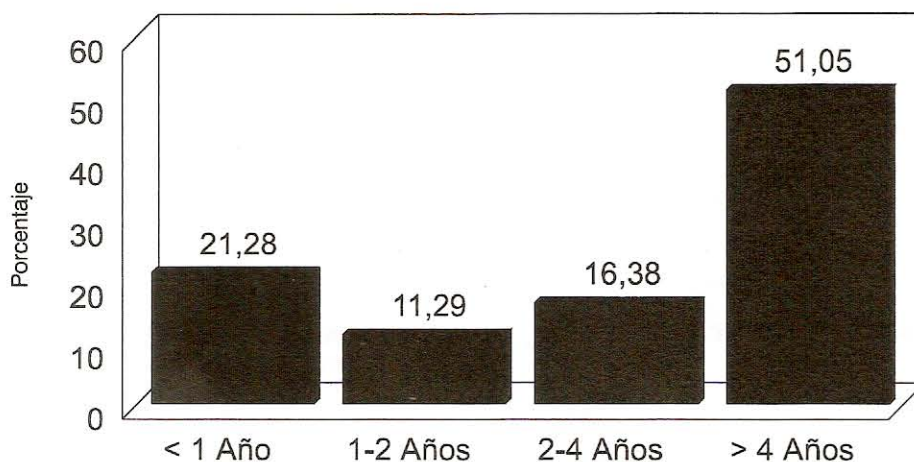


FIGURA 3. PORCENTAJE DE REACTORES SEROPOSITIVOS A LEPTOSPIRA POR GRUPOS DE EDADES EN BOVINOS DEL MUNICIPIO ALBERTO ADRIANI, ESTADO MÉRIDA.

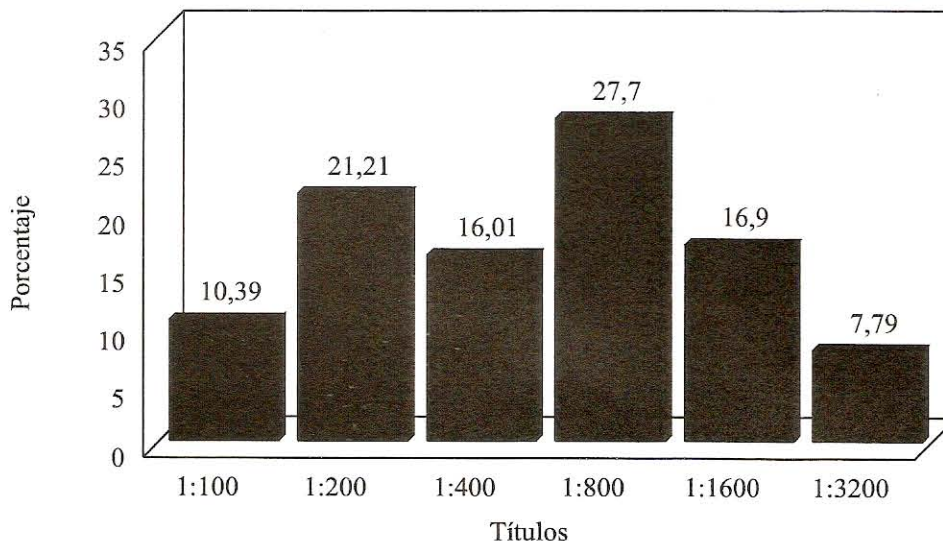


FIGURA 4. PORCENTAJE DE LAS DILUCIONES SEROLÓGICAS FRENTE A LEPTOSPIROSIS BOVINA.

y toros), con un porcentaje del 51,05%; los animales menores de un año (becerras y becerros), le siguen en porcentaje con un 21,28% de infectados.

con mayor porcentaje de reactores fue de 1:800 con 27,70% (64 sueros); el título 1:600 obtuvo un porcentaje de 16,90% (39 sueros). Los títulos a partir de 400, suman en total el 69,0% de los animales positivos.

La FIG. 4 muestra las diluciones obtenidas en bovino del municipio Alberto Adriani del estado Mérida. La dilución

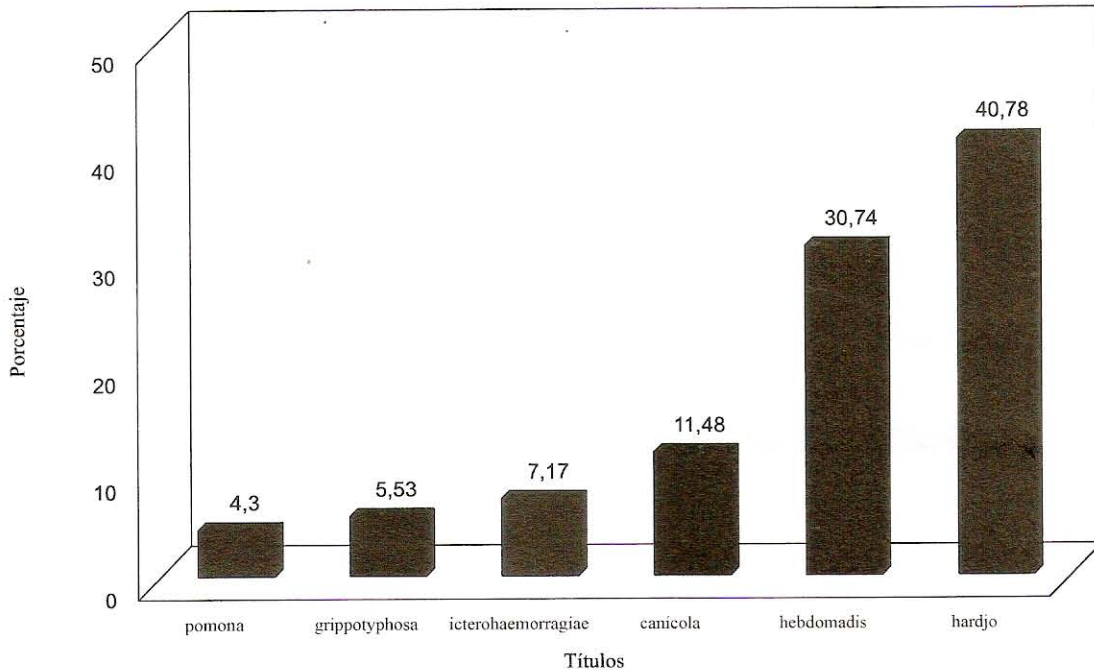
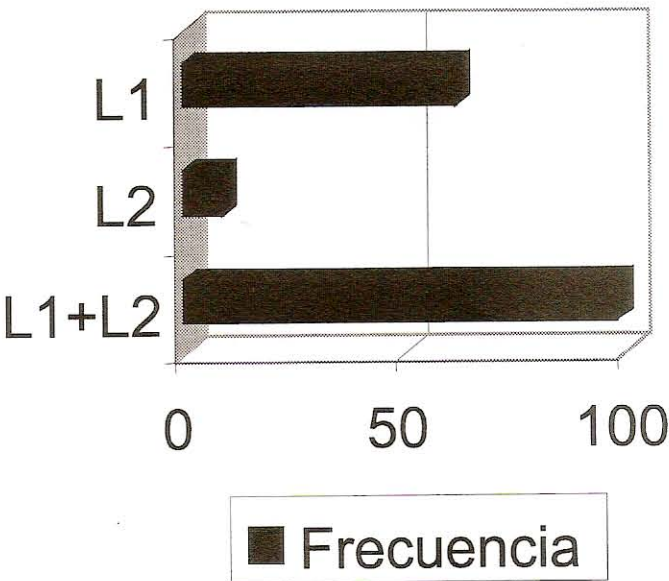


FIGURA 5. SEROPREVALENCIA DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA POR SEROVAR.



L1 = *L. hardjo*. L2 = *L. haebdomadis*

FIGURA 6. FRECUENCIA COMBINACIÓN DE SEROVARES DE LEPTOSPIRA EN BOVINOS.

La seropositividad por serovar fue la siguiente: *hardjo* 40,78%, *hebdomadis* 30,74%, *canícola* 11,48%, *icterohaemorrhagiae* 7,17%, *grippotyphosa* 5,53%, *pomona* 4,3%, representadas en la FIG. 5.

La combinación de *L. hardjo* y *L. hebdomadis*, se presentó en 98 de las muestras positivas, lo cual representa el 42,4% de los reactores positivos a leptospira, FIG. 6.

La evaluación de la frecuencia de combinación de dos y tres serovares muestra que la asociación más alta se obtuvo

entre *hardjo* y *hebdomadis* para dos y *hardjo*, *hebdomadis* y *grippotyphosa* para tres serovares, FIG. 7.

Al evaluar frecuencias de combinación de cuatro serovares, se pudo observar en la misma proporción, las asociaciones de los serovares: *hardjo-hebdomadis-canícola-icterohaemorrhagiae* o *hardjo-hebdomadis-grippotyphosa-canícola*, para cuatro.

Para cinco serovares, la combinación más frecuente fue la de *hardjo*, *hebdomadis*, *grippotyphosa*, *canícola* e *icterohaemorrhagiae*, FIG.8.

En la TABLA VI se puede observar la evaluación de las asociaciones entre la seropositividad a Leptospirosis Bovina y varios factores de riesgo.

Pese a los resultados obtenidos con la prueba de Ji cuadrado ( $X^2$ ) para los diferentes factores de riesgo, algunos como el sexo (hembras), presencia de abortos, no vacunación, más de un animal por Ha. y el tipo de explotación lechera presentaron asociación causal con la Leptospirosis. Otros factores tales como presencia de roedores, no asistencia veterinaria y ausencia de suplementación con concentrados no presentaron asociación causal con la enfermedad.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó una seroprevalencia a la Leptospirosis bovina en el municipio Alberto Adriani, del estado Mérida del 60,15%. En investigaciones realizadas por Jelambi y col. [10], se obtuvo una seroprevalencia a Leptospirosis en los siguientes estados: Zulia, vecino al estado Mérida del 68,0%; Barinas 53,10%; Táchira 49,10%, en Lara 39,50% y en Falcón, 57,91% predominando el serovar *hardjo*. Los re-



conjuntamente con el *hebdomadis*, sumaron más de un 70,0% de la seropositividad en las muestras procesadas. En las frecuencias combinadas de estos dos serovares juntos alcanzaron un 98,0%. El tercer serovar combinado, observado en frecuencia de tres fue *grippotyphosa*, de cuatro *canícola* y de cinco *icterohaemorrhagiae*. Esta información resulta valiosa para la conformación de vacunas polivalentes tendientes a prevenir la Leptospirosis en la zona afectada. Dicho resultado coincide con el reportado previamente para las zonas ganaderas del estado Zulia durante el período 1985-1989 en los cuales las variantes serológicas *hardjo* y *hebdomadis* representaron un 66,08% [10]. Las otras serovariedades reportadas fueron *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa* y *pomona* en inferior porcentaje justificando así la escogencia de los serovar a evaluar en el presente trabajo.

La prevalencia observada de Leptospirosis fue superior a la reportada en Chile en el año 1987 (44,9%) [18] e inferior a la registrada en México en 1993 (84,48%) [11]. Estas cifras por si solas muestran una amplia distribución de la Leptospirosis en el Continente Americano.

El serovar *hardjo* es un factor determinante en esta problemática como también ha sido señalado para otros países [4, 5, 14, 20, 27]. Su alta prevalencia podría estar asociada a las condiciones de alta pluviosidad y a la humedad relativa que se mantiene casi constantemente en la zona estudiada durante todo el año.

Existen evidencias serológicas de que *L. hardjo* produce aborto en vacas o nacimientos de becerros débiles, si se presenta la infección natural en vacas en la segunda mitad de la preñez; lo cual ha sido confirmado con el aislamiento de leptospiras del humor acuoso de fetos abortados; aborto y nacimiento de becerros prematuros producidos mediante infección experimental de novillas preñadas [2].

Llama la atención la alta incidencia de la seropositividad a leptospira observada en los animales jóvenes menores de 1 año de edad (54,87%) durante el estudio, en comparación con las cifras obtenidas en adultos mayores de 4 años (62,96%), indicando que los mismos juegan un papel importante en la epidemiología de la infección. Los títulos >400 de aglutinación obtenidos con la técnica de AM en el grupo etáreo "menores de 1 año", durante el presente trabajo, aunado a la sintomatología asociada a Leptospirosis observada en el mismo grupo, sugieren la presencia de una infección reciente [17].

En un estudio serológico en ganado, se reportó que animales vacunados al menos dos veces, presentaban títulos de anticuerpos  $\geq 200$  para los serovar *canícola*, *pomona* y *hardjo*; posterior a la vacunación, los títulos de anticuerpos descendieron a  $\geq 100$  [19]. Esto permite descartar la posibilidad de que el alto porcentaje de animales jóvenes positivos, los cuales, presentaron en su mayoría títulos  $\geq 400$ , se deba a la presencia de anticuerpos maternos.

Con respecto a los factores de riesgo, es importante destacar en el presente estudio que, las hembras no vacunadas, de explotaciones lecheras en las cuales se observan episodios continuos de abortos, con más de una U.A. por hectárea, poseen un riesgo mayor a sufrir la enfermedad puesto que dichos factores mostraron una asociación causal con la seropositividad a la leptospira.

La baja cobertura de vacunación en la zona en estudio para esta enfermedad, coincide con la alta seropositividad contra leptospira observada pudiendo corresponder con la alarmante cantidad de animales infectados [25].

Se observaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los bovinos reactivos positivos de fincas donde se evidenció la presencia de roedores y las fincas donde no habían problemas con roedores. Sin embargo, no hubo asociación causal entre este factor y la seropositividad a leptospira. La presencia de una gran variedad de roedores silvestres con un alto grado de infección, constituyen un reservorio importante para determinados tipos de serovares, tales reservorios pueden ser uno o más por serovar [13].

No hubo predominio del número de hembras positivas, sobre los machos positivos, no existiendo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Sin embargo, se presentó asociación causal. El sexo es una variable que condiciona la ocurrencia de la Leptospirosis, ya que define diferentes riesgos de la exposición, motivado a que la producción láctea está sujeta a una serie de rutinas que aumentan el potencial de exposición al riesgo, al estar en contacto el animal con él o los agentes productores de la enfermedad [25].

## RECOMENDACIONES

En trabajos de investigación a realizarse en el futuro, sería conveniente incluir el diagnóstico bacteriológico y molecular para confirmar la presencia de los serovares reportados y poder detectar la presencia de otros, también responsables de la Leptospirosis en el rebaño de la zona estudiada.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Asociación de Ganaderos del municipio Alberto Adriani, El Vigía, estado Mérida, por el financiamiento de la investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALSTON, J.M.; BROOM, J.C. Treatment and control of Leptospirosis in domestic animals. **Leptospirosis in men and animals**. Edinburgh and London, United Kingdom E, Livingston. LTD.267 pp. 1958.
- [2] DHALIWAL, S.G.; MURRAY, D.R.; DOBSON, H. Presence of antigen and antibodies in serum and genital dis-

- charges of cows from Dairy naturally infected with *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. **Res. in Vet. Sci.** 60: 163-167. 1996.
- [3] ELDER, J.K.; PEPPER, P.M.; HILL, M.W.; WARD, W.H. The significance of Leptospiral titres associated with Bovine Abortion. **Aust. Vet.** 62 (8): 258-261. 1985.
- [4] ELLIS, W.A.; O'BRIEN, J.S.; CASSELLS, A.J. Role of cattle in the maintenance of *Leptospira interrogans* serotype *hardjo* in Northern Ireland. **Vet. Rec.** 108: 555-557. 1992.
- [5] EZEH, A.O.; ADDO, P.B.; ADESIYUN, A.A.; BELLO, C.S.; MAKINDE, A.A. Serological prevalence of bovine leptospirosis in Plateau State, Nigeria. **Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.** 42(4): 505-508. 1990.
- [6] FEIGIN, R.D.; ANDERSON, D.C. Human leptospirosis. **Rev. Clin. Lab. Sci.**, 31: 413-415. 1975
- [7] HANSON, L.E. Bovine Leptospirosis. **J. Dairy Sci.** 59(6): 1167-1170. 1984.
- [8] HIGGINS, R.J; HARBOURNE, J.F; LITTLE, T.W.; STEVENS, A.E. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with *Leptospira* of the serotype *hardjo*, **Vet. Record.** 107: 307-310. 1980.
- [9] JELAMBI, F; PEÑA, A; PADILLA, N.I.; POLANCO, J.E. La Leptospirosis de los animales domésticos en Venezuela. **Veterinaria Tropical.** 1:63-71. 1976.
- [10] JELAMBI, F.; de AGUIRRE, L. **Memorias del I Foro Nacional sobre Leptospirosis.** Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias Maracaibo, Noviembre 25. 87 pp. 1989.
- [11] LUNA, F.J.; VARGAS, R.A.; MOCTEZUMA, P.A. Detección de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en bovinos de hatos lecheros en el Valle de Atlixco, Puebla, mediante la prueba de aglutinación microscópica. **Veterinaria México**, 24 (1): 47-49. 1993.
- [12] MALAGA, H. Riesgo. **Epidemiología Veterinaria.** Ediluz, Maracaibo, Venezuela: 18-25. 1990.
- [13] MARQUEZ, N.A., Hospederos y factores variables. **Fundamentos de Epidemiología Veterinaria.** Editorial Americana, C.A: Caracas, Venezuela: 63-69. 1987.
- [14] MILLER, D.A.; WILSON, M.A.; BERAN, G.W. Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection mature cattle in the United States. **Am. J. Vet. Res.** 52 (11): 1761-1765. 1991.
- [15] Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Cuenca del lago de Maracaibo. El Vigía Edo. Mérida, **Anuario Climatológico.** Serie Publicaciones MARNR - Región Zulia 1997, 92 pp. 1998.
- [16] Organización Mundial de la Salud. Leptospirosis. **Manual de Métodos para el Diagnóstico de Laboratorio.** Nota Técnica N° 30. 46 pp. 1987.
- [17] PINO, R.D. Clínica, tratamiento y control de Leptospirosis en Bovino. **Memorias I Foro Nacional sobre Leptospirosis Bovina.** Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracaibo, Noviembre 25. 11 pp. 1989.
- [18] RIEDEMANN, S.; ZAMORA, J. Leptospirosis Animal. Serogrupos y serovares presentes en Chile y su importancia. **Arch. Med. Vet.** Vol. XIX (2): 69-71. 1987.
- [19] RIVERA, S. Aspectos inmunológicos de la Leptospirosis en bovinos. **Memorias I Foro Nacional sobre Leptospirosis Bovina.** Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracaibo, Noviembre 25. 31pp. 1989.
- [20] ROTH, E.E. ; GALTON, M.M. Isolation and identification of *Leptospira hardjo* from cattle in Louisiana. **Am. J. Vet. Res.** 21: 422-426. 1960.
- [21] SLEIGHT, S.D; ATALLAH, O.A.; STEINBAUER, D. Experimental Infection of *Leptospira pomona* in Bulls. **Am. J. Vet. Res.** 25: 1663-1668. 1974.
- [22] SPEELMAN, P. Leptospirosis. **Medicina Interna T.R.** Harrindson. 14ª Edición: 1036-1038. 1997.
- [23] SULLIVAN, N.D. Leptospirosis in Animals and Man **Aust. Vet. J.** 50:216-223. 1974.
- [24] THIERMANN, A.B. Bovine Leptospirosis. Bacteriologic versus serologic diagnosis of cow at slaughter. **Am. J. Vet Res.** Vol. 44 (12): 2244-2245. 1983.
- [25] THRUSFIELD, M. Determinantes de la enfermedad, **Epidemiología Veterinaria.** Editorial Acribia, S.A.5ª Edición. Zaragoza, España: 59-74. 1990.
- [26] TORTEN, M. Leptospirosis., Zoonoses section. **Hand-Book Series.** Vol. I. James, M. Steel Ed. Florida: 373-426. 1987.
- [27] WHITE, F.H.; SULZER, K.R.; ENGEL, B.S. Isolation of *Leptospira interrogans* serovars *hardjo balconica* and *pomona* from cattle at Slaughter. **Am. J. Vet. Res.** 43: 1170-1173. 1982.
- [28] ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.O. Consideraciones para la interpretación de la prueba de aglutinación microscópica en el diagnóstico de Leptospirosis Bovina. **Arch. Med. Vet.** Vol. XVIII (2): 136-140. 1986.
- [29] ZUERNER, R.L.; BOLIN, C.A. Differentiation of *Leptospira interrogans* isolates by IS 1500 hybridization and PCR assay. **J. Clin. Microbiol.** 35 (10): 2612-2617. 1997.