

ARTÍCULO ORIGINAL

## Pesquisa serológica de *Leptospira* en roedores silvestres, bovinos, equinos y caninos en el noreste de México

C. Méndez<sup>I</sup>, L. Benavides<sup>II</sup>, A. Esquivel<sup>III</sup>, A. Aldama<sup>IV</sup>, J. Torres<sup>I</sup>, D. Gavaldón<sup>V</sup>, P. Meléndez<sup>I</sup>, L. Moles<sup>I</sup>

<sup>I</sup>Departamento de Producción Agrícola y Animal, UAM-X. Calzada del Hueso 1100 México DF, 04960.

Correo electrónico: cmztaareas@hotmail.com; <sup>II</sup>Departamento Sistemas Biológicos, UAM-X. Calzada del Hueso 1100 México DF, 04960; <sup>III</sup>Departamento del Hombre y su Ambiente, UAM-X. Calzada del Hueso 1100 México DF, 04960;

<sup>IV</sup>Departamento de Sistemas, UAM-A. Avenida San Pablo, México DF, 02200; <sup>V</sup>Departamento de Atención a la Salud, UAM-X. Calzada del Hueso 1100 México DF, 04960.

**RESUMEN:** La estrecha convivencia de las especies domésticas con los roedores silvestres en ecosistemas modificados, hace relevante estudiar la participación de estos en el mantenimiento de distintas serovariedades de *Leptospira*. El propósito de este trabajo fue determinar la distribución de anticuerpos antileptospira en roedores silvestres y en tres especies domésticas que comparten el mismo hábitat en un área endémica de leptospirosis bovina al NE de México. Se determinaron anticuerpos antileptospira en roedores, bovinos, equinos y caninos. Se analizaron muestras de suero de 24 roedores, 220 bovinos, 24 equinos y 6 caninos con la prueba de aglutinación microscópica empleando 12 serovariedades de *Leptospira* de las más comunes en México ; excepto los roedores que se evaluaron contra: siete serovariedades (importantes en este grupo de animales). Las especies valoradas reaccionaron contra una o más serovariedades con el porcentaje de seropositividad siguiente: 50% de los roedores reaccionó contra *Icterohaemorrhagiae* (37%), *Grippityphosa* (14%), *Tarassovi* (12%) y *Canicola* (4%). El 52% de los bovinos reaccionaron contra *Hardjoprajitno* cepa H89 (45.5%), *Hardjoprajitno* (33.1%), *Wolffi* (28.6%) y *Tarassovi* (9%). Los equinos presentaron una seropositividad de 70.8% contra *Tarassovi* (41.6%), *Hardjoprajitno* (29.1%), *Wolffi* (12.5%) y *Hardjoprajitno* cepa H89 (12.5%). El 100% de los caninos resultaron seropositivos, a *Icterohaemorrhagiae* cepa Palo Alto, *Portland-vere* cepa Sinaloa y *Canicola*, mientras que contra *Icterohaemorrhagiae* sólo 66.6%. Ninguno de los perros mostró positividad a las serovariedades del serogrupo *Sejroe* probadas. Los análisis estadísticos de Conglomerados, Componentes Principales y Discriminante mostraron que los caninos se agrupan con los equinos y estos con los bovinos, con respecto a *Hardjoprajitno*, *Hardjoprajitno* cepa H89 y *Tarassovi*. Los caninos y los roedores no se relacionaron con las serovariedades asociadas a bovinos

**Palabras clave:** *Leptospira*; anticuerpos antileptospira; roedores; bovinos; equinos; caninos.

---

### Serological screening of *Leptospira* in wild rodents, bovines, equines and canides in the northeast of Mexico

**ABSTRACT:** Close coexistence of domestic species with wild rodents in modified ecosystems makes relevant the effort to study the role that they may play in the maintenance of different *Leptospira* serovars. The aim of this study was to define the antileptospiral antibodies distribution in wild rodents and three domestic species that share the same habitat in an endemic area of bovine leptospirosis at the NE Mexico. Antileptospiral antibodies were determined in rodents, bovines, equines and dogs. Using the Microscopic agglutination test, antibodies were identified in the sera of 220 bovines, 24 horses, six dogs and 24 wild rodents. Sera from all the species were assayed against the 12 *Leptospira* serovars most frequent in Mexico, except those from the rodents which were tittered against only seven (important in these animals). All species reacted against one or more serovars, only 52% of the bovines were positives against: *Hardjoprajitno* strain H89 (45.5%),

Hardjoprajitno (33.1%), Wolffi (28.6%) and Tarassovi (9%); 70.8% of equines were positive against: Tarassovi (41.6%), Hardjoprajitno (29.1%), Wolffi (12.5%) and Hardjoprajitno strain H89 (12.5%). All the dogs were positive against Icterohaemorrhagiae strain Palo Alto, Portland-vere strain Sinaloa and Canicola, and only 66.6% were positive against Icterohaemorrhagiae strain RGA. None of the dogs were positive to the Sejroe serogroup serovars. The seropositivity of the rodents was 50% against the following serovars: Grippotyphosa (14%), Tarassovi (12%), Icterohaemorrhagiae (37%), and Canicola (4%) but negative against Pyrogenes, Wolffi and Hardjoprajitno strain H89. Statistical Cluster, Principal Components and Discriminant Analysis grouped dogs with horses and horses with cattle, with respect to the serovars Hardjoprajitno, Hardjoprajitno H89 strain and Tarassovi. Dogs and rodents were not grouped with the valued serovars associated with cattle.

**Key words:** *Leptospira*; antileptospiral antibodies; rodents; bovines; equines; canines.

## INTRODUCCIÓN

La leptospirosis figura entre las zoonosis más ampliamente distribuidas (1,2,3,4,5) y es ocasionada por diferentes serovariedades patógenas de espiroquetas del género *Leptospira* que se han clasificado con base a sus características antigénicas en más de 250 serovariedades y por lo menos en 23 serogrupos (4,6).

Numerosos animales silvestres son portadores y transmisores de *Leptospira*, la que ha coevolucionado con sus hospederos, adaptándose a algunas especies de la fauna silvestre que pueden no padecer la enfermedad. De esta manera, se constituyen en su reservorio prácticamente de por vida e infectan a otros individuos de la misma u otra especie, facilitando así la dispersión de la bacteria. Los roedores son reservorios de algunas serovariedades de este agente infeccioso (1,7,8,9). Los animales infectados eliminan las leptospirosis en la orina, contaminando terrenos y aguas (1,10,11).

A nivel nacional y mundial se sabe que la leptospirosis bovina es ocasionada principalmente por la serovariedad Hardjo, cuyo huésped de mantenimiento es el bovino, siendo las serovariedades Hardjo, Wolffi y Tarassovi las más frecuentes (12-15). Se desconoce con precisión la función que desempeñan otras especies animales en la transmisión de la serovariedad Hardjo al bovino.

El propósito de este trabajo fue determinar la seroprevalencia de *Leptospira* en roedores silvestres y en tres especies domésticas con las que conviven en una unidad de producción ganadera en el noreste de México.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en un centro de producción extensiva de ganado bovino de carne, de 5,000 hectáreas en el Municipio de Villa Soto la Marina, Tamaulipas,

México. Es un área de bosque tropical bajo, el clima es BS (h') KW (e), cálido con temperatura media superior a 22°C, extremoso, con oscilaciones entre 7 y 14°C y con un régimen de lluvias en verano (16).

### Obtención de muestras de sangre

Se realizó una selección de zonas de pastoreo de grupos de bovinos, en las cuales se recolectaron 220 muestras de sangre de bovinos según la fórmula de Daniel (17) y 24 de los roedores silvestres ahí capturados. Se muestrearon los seis caninos y los 24 equinos presentes en estos sitios. Tanto los caninos como los equinos conviven de forma cotidiana con el ganado bovino.

Para la captura de los roedores se utilizaron 180 trampas tipo Sherman. Se ubicaron en seis sitios de muestreo, donde se colocaron las trampas a través del método de cuadrantes 7 x 7 (18,19). Se consideró como criterio de inclusión a todos los individuos colectados en los sitios donde habían estado los bovinos, los equinos y los caninos incluidos en este estudio. Las trampas se ubicaron en áreas fuera de los caminos, veredas u otras rutas de actividad humana. Los animales que se capturaron se transportaron de las trampas al lugar de colección del espécimen donde se llevó a cabo la identificación de la especie, la toma de medidas morfométricas y la toma de muestras sanguíneas por medio de punción en el capilar del ojo. En todos los casos los ratones fueron liberados posteriormente al período de muestreo. Las muestras se obtuvieron del plexo ocular de los ratones, por punción de la vena coccígea en los bovinos, de la vena yugular en los equinos y de la vena cefálica en los caninos.

### Determinación de anticuerpos antileptospira con la técnica de aglutinación microscópica (AM).

La técnica de AM se realizó de acuerdo a las especificaciones de la Organización Internacional de Sanidad Animal (6). En el caso de los roedores la dilución inicial fue 1:20 (20) y se valoraron sólo contra siete serovariedades, tres importantes bovinos en México

(Hardjo, Wolffi y Tarassovi) (21,22) y cuatro relevantes en roedores (*Grippytyphosa*, *Pyrogenes*, *Icterohaemorrhagiae* y *Canicola*) (19). Para las otras especies la dilución inicial fue 1:100, valorándose contra las 12 serovariedades más frecuentes en la zona en estudio (21,22). En todos los casos el título se consideró como la dilución máxima del suero en la que se observó el 50% de aglutinación y/o desaparición de células a la observación en el microscopio de campo oscuro. En este estudio se incluyeron los datos de los animales seropositivos a cualquier dilución y al menos a una serovariedad. Los antígenos empleados por especie animal se muestran en la Tabla 1.

**TABLA 1.** Serovariedades de *Leptospira* spp. utilizadas como antígenos en el análisis de los sueros./ Serovars of *Leptospira* spp. used as antigens in the sera analysis.

Serovariedad	Bovinos, equinos, caninos	Roedores
Hardjoprajitno H89 (H89)	X	X
Wolffi 3707 (Wol)	X	X
Tarassovi Perepelitsin (Tar)	X	X
Grippytyphosa Moska V (Gri)	X	X
Pyrogenes Salinem (Pyr)	X	X
Icterohaemorrhagiae Palo Alto (IPA)	X	X
Canicola Hond Utrecht IV (Can)	X	X
Bratislava Jez-Bratislava (Bra)	X	
Portland-vere Sinaloa (PvS)	X	
Hardjo Hardjoprajitno (Hp)	X	
Icterohaemorrhagiae RGA (Ict)	X	
Pomona Pomona (Pom)	X	

### Identificación taxonómica de los roedores

Para la determinación taxonómica se usaron las claves de Hall (23). Una vez identificados los ejemplares, se procedió a elaborar el listado de especies conforme con la nomenclatura y secuencia taxonómica de Ceballos *et al.*, que se basa en Wilson y Reeder (24,25).

### Análisis estadístico

El análisis de resultados comprendió el uso de estadística descriptiva y tres análisis multivariados: Análisis de Conglomerados (AC) por el Método de Ward

distancia euclidiana, Análisis de Componentes Principales (ACP) y Análisis Discriminante (AD) (26,27). Estos análisis se realizaron con el software StatisticaO para Windows 99.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La seropositividad antileptospira determinada contra una o varias serovariedades, se muestra en las Tablas 2 y 3.

Los gráficos obtenidos con el ACP de los datos de cada una de las cuatro especies contra las siete serovariedades de *Leptospira* empleadas, mostraron que la distribución de estas en los roedores, es similar a la de los equinos pero diferente a las de los caninos y bovinos. Es importante destacar que solamente un bovino se agrupó con los roedores debido a que resultó seropositivo a Tar. (Figura 1).

Con relación a la distribución por especie de las siete serovariedades de *Leptospira* valoradas en los roedores, los resultados refuerzan la hipótesis propuesta por Ellis de que el modo de transferencia para las serovariedades adaptadas al bovino parece ser la transmisión horizontal directa y que el ganado bovino actúa como huésped de mantenimiento de la serovariedad Hp (14,15).

De los 159 individuos capturados de diferentes especies de roedores; solo 41 de ellos tuvieron el peso requerido para ser sangrados y de estos, sólo de 24 se obtuvo suero suficiente, 10 µl, para valorarse serológicamente (muestreo de oportunidad). Los roedores muestreados pertenecían a los géneros y especies: *Peromyscus leucopus*, *Liomys irroratus*, *Sigmodon hispidus*, *Baiomys musculus*, *Oryzomys alfaroi* y una especie cosmopolita *Mus musculus* (23,24,25).

Es importante destacar la participación de los roedores en la circulación de algunas serovariedades de *Leptospira* que se detectaron también en los equinos y los caninos.

El hecho de que los roedores silvestres del área estudiada no presentaran anticuerpos contra las serovariedades del serogrupo Sejroe, puede sugerir su no participación en la transmisión y mantenimiento de las serovariedades Hp y Wol. Sin embargo, comparten con los equinos las serovariedades Tar, Gri y Can, lo que hace considerar que los roedores participan en la transmisión interespecie de éstas en el área analizada.

Aunque en los roedores sólo se valoraron siete serovariedades que hemos encontrado frecuentemente en otros estudios (19) es importante mencionar que

**TABLA 2.** Seropositividad por serovariedad de *Leptospira* spp en los distintos grupos de animales estudiados./ *Seropositivity by Leptospira spp. serovar in the different groups of animals studied*

Serovariedad	Bovinos	Equinos	Caninos	Roedores
Hardjoprajitno H89 (H89)	45%	12%	0	0
Wolffi 3707 (Wol)	28%	12%	0	0
Tarassovi Perepelitsin (Tar)	9%	41%	0	12%
Grippotyphosa Moska V (Gri)	0.4%	4%	16%	14%
Icterohaemorrhagiae Palo Alto (IPA)	0	0	66%	37%
Pyrogenes Salinem (Pyr)	0	0	16%	0%
Canicola Hond Utrecht IV (Can)	25%	0	66%	4%
Bratislava Jez-Bratislava (Bra)	2%	8%	16%	NV
Portland-vere Sinaloa (PvS)	0.4%	8%	66%	NV
Hardjo Hardjoprajitno (Hp)	35%	29%	0	NV
Icterohaemorrhagiae RGA (Ict)	0	12%	66%	NV
Pomona Pomona (Pom)	0.9%	42%	0	NV
% de seropositivos por tipo de animal	52	71	100	50

NV no valorada

**TABLA 3.** Frecuencia de anticuerpos antileptospira en los géneros y especies de roedores estudiadas./ *Frequency of Leptospira antibodies in the genera and species of rodents studied.*

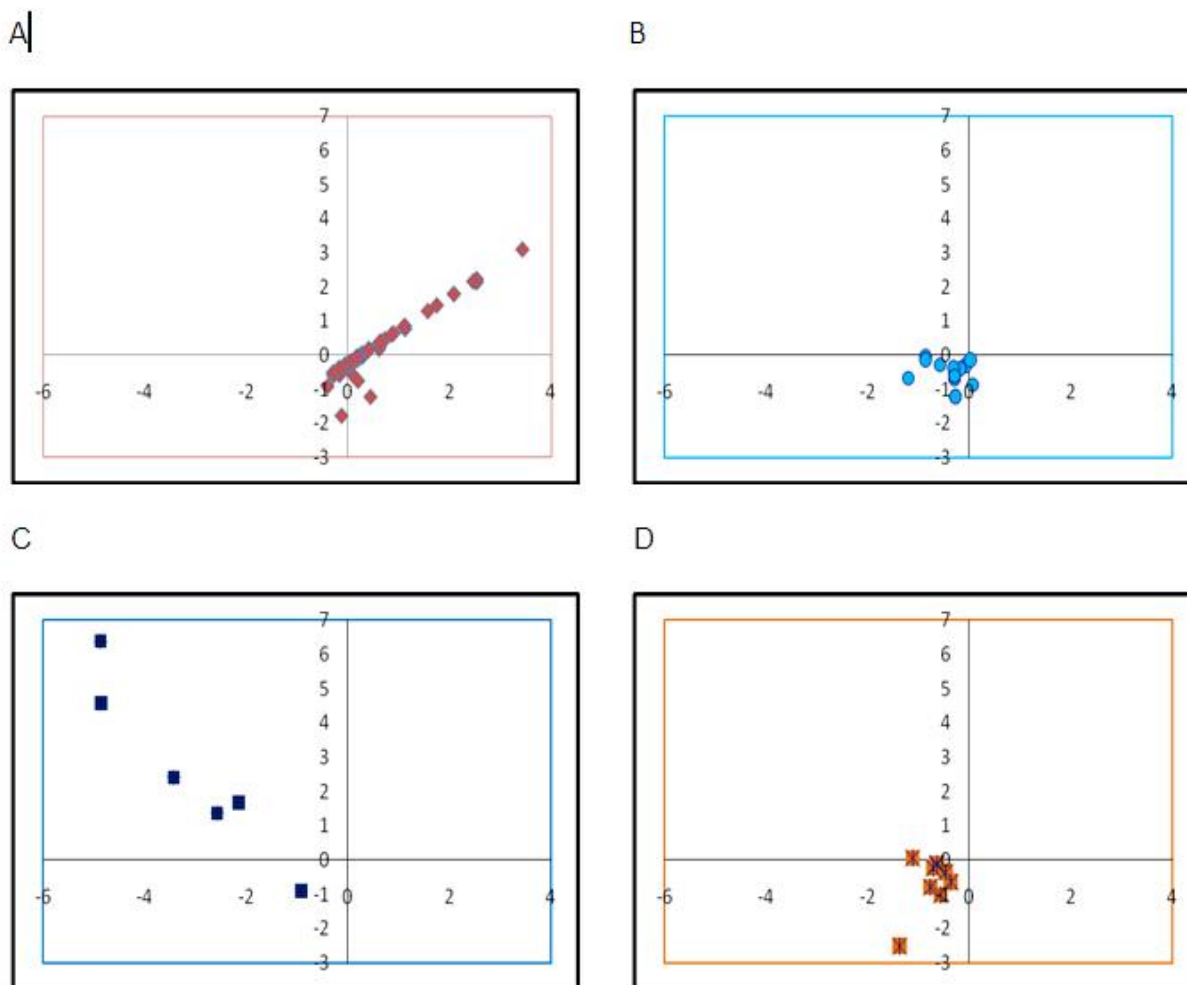
Género y especie	positivos/total	Serovariedades
<i>Baiomys musculus</i>	1/2	Ict
<i>Liomys irroratus</i>	1/3	Ict, Tar
<i>Mus musculus</i>	1/2	Ict, Gri, Can
<i>Oryzomys alfaroi</i>	4/6	Ict, Gri, Tar
<i>Peromyscus leucopus</i>	3/6	Ict, Gri,
<i>Sigmodon hispidus</i>	2/5	Ict, Gri, Tar

algunas eran compartidas por varias especies; así Hardjoprajitno (Hp) mostró positividad en bovinos (35%) y equinos (29%); Pomona (Pom) estuvo presente en los bovinos (0.9%) y los equinos (42%). Además de que Bratislava (Bra) y Portland-vere cepa Sinaloa (PvS) se identificaron respectivamente en bovinos (2%, 0.4%), equinos (8%, 8%) y caninos (16%, 66%). La serovariedad Icterohaemorrhagiae cepa Palo Alto (IPA) se determinó únicamente en equinos (12%) y caninos (66%). En estudios posteriores es necesario ampliar la batería de antígenos para identificar la frecuencia de otras serovariedades en estas especies.

El análisis de conglomerados con los datos de seropositividad contra 12 serovariedades de bovinos, equinos y caninos definió cinco grupos, los que se precisaron mediante un análisis discriminante posterior (Tabla 4). Como se observa, la serovariedad Tar circula tanto en los roedores (12%) como en los equinos

(41%) y los bovinos (9%); en tanto, la serovariedad Icterohaemorrhagiae (Ict) únicamente se identificó en los roedores (37%) y los caninos (66%). La serovariedad Canicola (Can) frecuente en caninos (66%) y equinos (25%) sólo fue detectada en un ratón (4%).

Los métodos de AC y ACP agruparon a los caninos con los equinos y en ningún caso con los bovinos. Los equinos se relacionaron tanto con los bovinos como con los caninos. Cuando se aplicaron los análisis de AC, ACP y AD de las cuatro especies contra las siete serovariedades de *Leptospira* utilizadas para valorar los sueros de los roedores, se conformaron cinco grupos y cinco subgrupos. Los roedores se agruparon con los equinos y los caninos y a bovinos solamente en el caso de Tarassovi (Tar); sin embargo, no se detectaron roedores positivos a las serovariedades Hardjo (Hp) y Wolffi (Wol) (Tabla 5).



A) bovinos B) equinos C) caninos D) roedores

**FIGURA 1.** Análisis de Componentes Principales de los títulos de anticuerpos contra siete serovariedades de *Leptospira* por especie animal./ *Principal component analysis of antibody titres against seven serovars of **Leptospira** per animal species.*

**TABLA 4.** Grupos de animales conformados sobre la base de los análisis de Conglomerados y Discriminante de los títulos de anticuerpos contra 12 serovariedades de *Leptospira* spp./ *Groups of animals formed on the basis of the Cluster analysis of antibody titers against 12 serovars of **Leptospira** spp.*

Grupos	Especies	Característica principal
1	2 equinos, 6 caninos	Can, PvS , IPA títulos 1: 800 – 1:1600
2	3 bovinos, 3 equinos	Tar 1:800 – 1:1600
3	10 bovinos	Wol y H89 títulos 1:800 – 1:1600
4	12 bovinos	Hp y H89 títulos 1:800 – 1:1600
5.1	23 bovinos, 2 equinos	Hp títulos < 200
5.2	6 bovinos	H89 títulos 1:400
5.3	18 bovinos, 1 equino	Wol títulos entre 1:100 a 1:400
5.4	4 bovinos	H89 títulos 1:200
5.5	41 bovinos, 9 equinos	H89 y Hp títulos ? 200

**TABLA 5.** Grupos de animales conformados con base a los análisis de Conglomerados, Discriminante y de Componentes Principales, de los títulos de anticuerpos contra 7 serovariedades de *Leptospira* spp./ *Groups of animals formed on the basis of the Cluster analysis, Discriminant and Principal Components of the antibody titers against 7 serovars of Leptospira spp.*

Grupos	Especies	Característica principal
1	3 caninos	Can, títulos 1:100 - 1:1600
2	3 bovinos, 3 equinos	Tar títulos 1:800 – 1:1600
3	12 bovinos	H89 títulos 1:800 – 1:1600, Wol títulos 1:100 – 1:800
4	51 bovinos	H89 y Wol títulos 1:100 – 1:400; Wol títulos 1:100 – 1:800
5.1	36 bovinos, 1 equino	H89 títulos 1:100 – 1:200
5.2	3 equinos, 2 caninos y 1 roedor	Can títulos 1:200 – 1:400, Gri títulos 1:100 – 1:320
5.3.1	4 bovinos, 1 equino	Wol títulos 1:100
5.3.2	1 cánido, 11 roedores.	Ict títulos 1:20 – 1:200, Gri títulos 1:20 - 1:80
5.4	5 bovinos, 6 equinos	Tar títulos 1:100 y 1:400

Los resultados obtenidos al utilizar una combinación de métodos de análisis multivariado, fueron los mismos que permitieron identificar los efectos de varios factores como son especies y serovariedades de *Leptospira* en la variable de estudio que en este caso fue la seropositividad antileptospira, los cuales permitieron conocer la significancia de las diferencias observadas. Con esta metodología se comprobó que los roedores y los caninos no se relacionaron con los bovinos en cuanto a las serovariedades del serogrupo Sejroe propias de estos últimos.

La elevada serofrecuencia en las cuatro especies analizadas es congruente con la endemidad de la leptospirosis bovina en esta zona (21,22). No obstante, se requiere efectuar estudios similares con diseños encaminados a evaluar la real participación de las distintas especies animales en el mantenimiento y dispersión de la *Leptospira* en esta zona agroecológica.

En este estudio las serovariedades Hp y Wol pertenecientes al serogrupo Sejroe resultaron ser las más frecuentes en los bovinos, aunque en ocasiones se identificó seropositividad contra otras, lo que concuerda con estudios recientes realizados en países como Escocia (28) y Turquía, donde además de Hp se encontraron bovinos positivos a Gri e Ict (29); asimismo, en Queensland Australia al analizar 2,857 bovinos se determinó que Hp era más frecuente y que la seroprevalencia aumentaba con la edad de los animales; se menciona además la presencia de Tar y Pom (30). En el norte de España al relacionar abortos de bovinos con estudios serológicos de leptospirosis se detectaron anticuerpos contra las serovariedades Bra y Hp (31).

En México, la serovariedad Tar ha adquirido importancia en la última década. En un estudio realizado en el noreste de México (22) se encontró que la infección de los bovinos por *Leptospira* está ampliamente distribuida en el área y es ocasionada por las serovariedades: Hp, Wol y Tar. Esta información coincide con los datos obtenidos por otros investigadores (20), tanto en los porcentajes de seropositividad como en las serovariedades involucradas. Estudios realizados en México, resaltan la importancia de las serovariedades Hp, Wol, Tar, Can y Pom en el Valle de Toluca (32) en el estado de Querétaro (33) y en la península de Yucatán (34). En este estudio se determinaron anticuerpos antileptospira, anti Tarassovi en equinos y en roedores, lo que refuerza la presencia de esta serovariedad en la zona. El laboratorio de *Leptospira* de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco a lo largo de más de tres décadas ha definido la importancia de las serovariedades Hp, Wol y Tar en el ganado bovino.

Esta investigación además de definir la seroprevalencia de doce de las serovariedades más frecuentes en México en bovinos, equinos y caninos, permitió obtener información sobre la posible importancia de los roedores silvestres en la circulación de *Leptospira* en las especies animales con las que comparten su hábitat.

## AGRADECIMIENTOS

A la MVZ Rocío Pinal Prieto por su valioso apoyo en el trabajo de campo.

## REFERENCIAS

1. Faine S, *Leptospira* and Leptospirosis 1994; Boca Ratón: CRC Press.
2. Hartskeer RA, Collares-Pereira M, Ellis WA. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:494-501.
3. Ko AI, Goarant C, Picardeau M. *Leptospira*: The dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:736-747.
4. Evangelista KV, Coburn J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol.* 2010;5:1413-1425.
5. Ristow P, Bourhy P, Kerneis S, Schmitt C, Prevost MC, Lilenbaum W, Picardeau M. Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospires. *Microbiology.* 2008;154(5):1309-1317.
6. Organización Mundial de Salud Animal. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 2009. [citado 2010 julio 15]. Disponible en: URL:[http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/A\\_summry.htm](http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/A_summry.htm).
7. Webster JP, Ellis WA, Mac Donald DW. . Prevalence of *Leptospira spp* in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) in UK farms. *Epidemiol Infect* 1995;114:195-201.
8. Meites E, Jay MT, Deresinski S, Shieh WJ, Kaki SR, Tompkins L, et al. Reemerging leptospirosis, California. *Emerg Infect Dis.* 2004;10: 406-412.
9. Sacaquispe RC, Glenny MA, Céspedes MZ. Estudio preliminar de Leptospirosis en roedores y canes en Salitral, Piura-1999. *Rev Perú Med Exp Salud Pública.* 2003;20:39-40.
10. Silva EF, Cerqueira GM, Seyffert N, Seixas FK, Hartwig DD, Atanasio DA, et al. *Leptospira noguchi* and human and animal leptospirosis, southern Brazil. *Emerg Infects Dis.* 2009;15:621-623.
11. Ellis WA, McParland JP, Bryson GD. Isolation of leptospires from the genital tract and kidneys of aborted sows. *Vet Rec.* 1986;118:294-295.
12. Lomar AV, Diament D, Torres JR. *Leptospira* in Latin América. *Infect Dis Clin North Am.* 2000;14:23-39.
13. Gavaldón RD, Benavides PL, Moles CL, Torres BJ, Valadéz MP. *Leptospira* y leptospirosis. En Chapela MC y Mosqueda A eds. De la clínica a lo social: luces y sombras a los 35 años. México:UAM-X. 2009.
14. Ellis WA. Recent developments in bovine leptospirosis. *Vet Annu.* 1983;23:91-95.
15. Ellis W A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1994;10:463-478.
16. García T. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. México DF, 1981. Offset Larios S.A.
17. Daniel WW. Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences. 5th Ed. 1991. New Jersey: John Wiley & Sons.
18. Ojastí J. Manejo de fauna silvestre neotropical. Dallmeier. Washington, DC. 2000; SIMAB, serie N° 5, Smithsonian Institution/MAB, Program.
19. González DMA. Seroprevalencia de *Leptospira spp* en roedores silvestres de los bosques de pino-encino con diferente manejo (con y sin pastoreo) en Chapa de Mota, Estado de México (tesis de maestría). México DF, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2004.
20. Hathaway SC, Blackmore DK, Marshall R. Leptospirosis in Free-living species in New Zealand. *J Wildlife Dis.* 1981;17:489-496.
21. Luna AMA, Moles CLP, Gavaldón RD, Nava VC, Salazar FG. Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México considerando regiones ecológicas. *Rev Cubana Med Trop.* 2005;57:1-7.
22. Cantú A. Factores asociados en la epidemiología de los principales problemas reproductivos en bovinos productores de carne en el estado de Nuevo León. Publicación científica. México 2003; s/p.
23. Hall ER. The mammals of North America, 2a ed. Vols. I y II. Wiley, New York. 1981; 1181.

24. Ceballos G, Arroyo-Cabrales J, Medellín RA, Domínguez-Castellanos Y. Lista actualizada de los mamíferos de México. *Revista Mexicana de Mastozoología*. 2005;9:27-71.
25. Wilson DE, Reeder DM, (eds.) *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*, 3a ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. 2005.
26. Mardia KV, Kent JT, Bibby JM. *Multivariate analysis*. London: Academic Press, 1979.
27. Pérez LC. *Métodos estadísticos avanzados con SPSS*. España :Thomson, 2005.
28. Lewis IF, Gunn JG, McKenderick JL, Murray MF. Bayesian inference for within-herd prevalence of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo using bulk milk antibody testing. *Biostatistics*. 2009;10(4):719-728.
29. Aslatan O, Zdemur V. Determination of the Seroprevalence of Leptospirosis in Cattle by MAT and ELISA in Hatay, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*. 2005;29(4):1019-1024.
30. Black PF, Corney BG, Smythe LD, Dohnt MF, Norris MA, Symonds ML. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in beef cattle in central Queensland. *Aust Vet J*. 2001;79(5):344-348.
31. Atxaerandío R, Aduriz G, Ziluaga I, Esteban J, Maranda L, Mainar-Jaime RC. Serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava infection and its association with abortions in cattle in northern Spain. *Vet Rec*. 2005;156(12):376-380.
32. León LL, García RC, Díaz CO, Valdez RB, Carmona GCA, Velázquez BLG. Prevalence of Leptospirosis in Dairy Cattle from Small Rural Production Units in Toluca Valley, State of México. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1149:292-295.
33. Escamilla HP, Martínez MJ, Medina CM, Morales SE. Frequency and causes of infectious abortion in a dairy herd in Querétaro, Mexico. *Can J Vet Res*. 2007;71(4):314-317.
34. Segura-Correa VM, Solís-Calderón JJ, Segura-Correa JC. Seroprevalence of and risk factors for leptospiral antibodies among cattle in the state of Yucatán, México. *Trop Anim Health Prod*. 2003;35(4):293-299.

Recibido: 29-5-2012.

Aceptado: 23-11-2012.