

## Una visión general de la leptospirosis

Gabriela Pacheco Sánchez<sup>1</sup>

Recibido: 15 abril 2015 / Aceptado: 17 junio 2015

### ■ Resumen

La leptospirosis es una zoonosis reemergente, considerada una de las de mayor distribución mundial en la actualidad; ha sido reportada en todos los continentes, menos Antártica, y existe evidencia de la condición de portadores de *Leptospira* en casi todas las especies mamíferas. Es causada por serovariedades patógenas de *Leptospira* spp., las cuales son espiroquetas finas caracterizadas por la presencia de flagelos periplásmicos; existen más de 250 serovares patógenos descritos. La transmisión se da por contacto directo o indirecto con orina de animales portadores y por actividades ocupacionales y recreacionales que involucren contacto con animales y/o áreas infectados. La técnica "*gold standard*" para el diagnóstico es MAT (Aglutinación microscópica), la cual determina el serovar infectante. La mejor técnica de control en animales es la inmunización y existen vacunas comerciales para las principales especies; en humanos solo se vacuna en poblaciones de riesgo.

**Palabras clave:** leptospirosis, zoonosis, *Leptospira* spp.

<sup>1</sup> Bach MV, Est. MSc. Universidad Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"-Campus Botucatu, SP, Brasil. Correo electrónico: pacheco.sanchez.gabriela@gmail.com



## An overview of leptospirosis

### ■ Abstract

Leptospirosis is a reemerging zoonosis, considered as one of the most widespread in the world. It has been reported in all continents except Antarctica and there is evidence for the carriage of *Leptospira* spp. in almost all mammalian species. The disease is caused by pathogenic serovars of *Leptospira* spp., which are thin spirochetes characterized by the presence of periplasmic flagella. There are over 250 pathogenic serovars described. Transmission is due to direct or indirect contact with urine of carrier animals and to occupational and recreational activities, which involve infected animals or areas. The "gold standard" test for the diagnosis is MAT (microagglutination), which determines the infecting serovar. The best tool for the control of the disease in animals is the immunization, and there are commercial vaccines available for the most important species. In the case of humans, only populations at risk are vaccinated.

**Key words:** leptospirosis, zoonosis, *Leptospira* spp.

## Uma Visão Geral Da Leptospirose

### ■ Resumo

Leptospirose é uma zoonose reemergente, considerada umas das zoonoses de maior distribuição mundial na atualidade; tem sido reportada em todos os continentes menos Antártica e existe evidência da condição de portadores de *Leptospira* em quase todas as

espécies mamíferas. É causada por sorovares patogênicos de *Leptospira* spp., as quais são espiroquetas finas caracterizadas pela presença de flagelos periplásmicos; existem mais de 250 sorovares patogênicos descritos. A transmissão é por contato direto ou indireto com a urina de animais portadores e pelas atividades ocupacionais e recreativas que envolvem contato com animais ou áreas infectadas. A técnica "padrão de ouro" para o diagnóstico é o SAM (Soroaglutinação microscópica), a qual determina o sorovar infectante. A melhor técnica para o controle em animais é a imunização, existem vacinas comerciais para as principais espécies animais; em humanos a imunização é aplicada somente às populações em risco.

**Palavras chaves:** leptospirose, zoonose, *Leptospira* spp.

### ■ Introducción

Leptospirosis es una zoonosis de gran impacto en la salud animal y en la salud pública; produce gran morbilidad y mortalidad en el mundo, principalmente en regiones de climas tropicales (Vijayachari, Sugunan, y Shriram, 2008).

Esta enfermedad es causada por espiroquetas patógenas del género *Leptospira* spp., y la infección animal puede manifestarse desde cuadros agudos (p. e. falla renal y/o hepática aguda en caninos) hasta cuadros crónicos (p. e. problemas reproductivos en animales de producción). En humanos la enfermedad se presenta en cuatro formas clínicas: similar a una gripe, síndrome de Weil, meningitis o meningoencefalitis y hemorragia pulmonar (Who, 2003).

En 1886, en Heidelberg, Adolfo Weil reportó el Síndrome de Leptospirosis icterica con falla renal; casos similares se habían reportado en trabajadores de alcantarillado (Musso y La Scola,

2013). En 1907, Arthur Stimson describió el microorganismo en túbulos renales de un paciente que murió de la denominada fiebre amarilla; él mismo llamó a la bacteria *Spiroqueta interrogans* por su forma de signo de interrogación (Levett, 2001). La bacteria fue aislada en 1915 tanto en Japón como en Canadá. En Japón, Inada et al. (1916) detectaron espiroquetas, que luego llamaron de *Spiroqueta icterohaemorrhagiae*, en la sangre de trabajadores de minas de cobre con ictericia infecciosa. En Alemania fueron Uhlenhuth y Fromme (1916) quienes describieron la bacteria *Spiroqueta icterogenes* en soldados diagnosticados de sífilis, 8 meses después de que lo fuera el grupo de Inada. El género *Leptospira* fue sugerido en 1917 por Noguchi (1917).

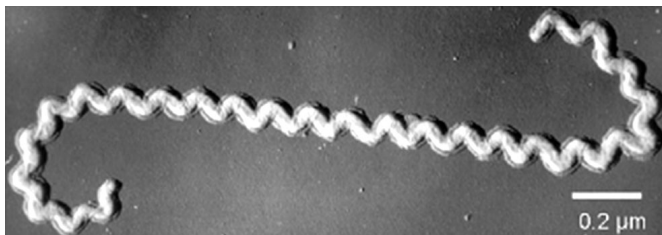
El humano y los animales se infectan por contacto directo con orina (u otros fluidos corporales, excepto saliva) de animales infectados, o por contacto indirecto con agua, suelo o alimento contaminados con orina de animales infectados. La bacteria entra al organismo a través de la piel o de las membranas mucosas (ojos, nariz o boca), especialmente por micro o macro lesiones (CDC, 2012).

La enfermedad ha recibido a lo largo de la historia diferentes denominaciones; las más conocidas son: enfermedad de los cultivadores de arroz, enfermedad de los criadores de puercos y fiebre de otoño (Levett, 2001).

## Biología de las leptospiras

El nombre de la bacteria se deriva del griego *leptos* (fino) y del latín *spira* (enroscado). El género *Leptospira* spp. está conformado por espiroquetas de doble membrana celular, finas (6-20  $\mu\text{m}$  de longitud y 0.1  $\mu\text{m}$  de diámetro), flexibles, móviles y de forma espiral (Cullen et al., 2004; Evangelista y Coburn, 2010).

Figura 1. *Leptospira* spp. bajo microscopia electrónica.



Fuente: Adler y de la Peña Moctezuma, 2010.

Entre otras características, se describe que son bacterias aerobias obligadas, y crecen a una temperatura de 28-30 °C en medios líquidos o semisólidos que poseen nutrientes como vitaminas B1 y B12, ácidos grasos, aminoácidos y sales minerales. Además, los medios requieren de la adición de albúmina bovina y/o suero de conejo para su óptimo crecimiento (Faine et al., 1999; Picardeau, 2013).

Las leptospiras patógenas no se reproducen fuera del hospedador, y son rápidamente inactivadas cuando son expuestas a calor excesivo, radiación ultravioleta, desinfectantes y temperaturas de congelación. Sin embargo, cuando las condiciones son óptimas, pueden sobrevivir en el agua y en el suelo húmedo, de semanas a meses (Faine et al., 1999; Acha y Szyfres, 2001; Adler y de la Peña Moctezuma, 2010).

## Taxonomía y clasificación

El género *Leptospira* fue inicialmente clasificado en dos especies: *Leptospira interrogans*, *sensu lato*, (especies patógenas) y *Leptospira biflexa*, *sensu lato* (especies saprófitas). Estos dos grupos diferían en su capacidad patógena,



en sus requerimientos nutricionales y en otras propiedades fenotípicas (Johnson y Rogers, 1964). Actualmente se puede encontrar la clasificación de las *Leptospiras* como genomoespecies (patógenas, intermedias y saprófitas); siendo que las características que diferenciaban a *L. interrogans sensu lato* de *L. biflexa sensu lato* no son tomadas en cuenta en las genomoespecies (Levett, 2004).

## Clasificación serológica

Mediante la prueba de absorción de aglutinación cruzada (CAAT) se consiguió la diferenciación en serovariedades que hasta hoy es considerado el sistema básico unitario para *Leptospira* spp. Las serovariedades que son antigénicamente parecidas son agrupadas en serogrupos, principalmente por conveniencia para el trabajo (Kmety y Dikken, 1993; Lehmann et al., 2014).

Hasta la fecha han sido descritas aproximadamente 250 serovariedades patógenas, lista que es actualizada periódicamente (Adler y De La Peña Moctezuma, 2010; Corney et al., 2008; Valverde et al., 2008; Sedigheh et al., 2010; Das Neves Paiva-Cardoso et al., 2013). Las últimas serovariedades adicionadas a la lista son: *L. kirschneri* serovariedad Altodouro, *L. santarosai* serovariedad Corredores y *L. santarosai* serovariedad Costa Rica (Levett y Smythe, 2014).

## Clasificación molecular

La clasificación genotípica de las *Leptospiras* está basada en electroforesis de enzimas multilocus y análisis de la secuencia 16s del rRNA (Hookey, Bryden y Gatehouse, 1993). En la reunión del Subcomité de taxonomía de *Leptospiraceae* del 2007 en Quito, Ecuador,

se agregaron 4 genomoespecies a la lista de especies de *Leptospiras* patógenas, resultando en 13: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* y *L. wolffii* (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010).

La correlación entre la clasificación serológica y la molecular es pobre, ya que un mismo serogrupo puede ser encontrado en más de una especie. Por consiguiente, los sistemas de clasificación basados en semejanzas genéticas deben ser usados en conjunto con la clasificación antigénica (Cerqueira y Picardeau, 2009).

## Patogenia

Las leptospiras pueden ingresar al organismo vía membranas mucosas o a través de piel cuya integridad haya sido comprometida por cortes, macro o micro-abrasiones y/o inmersión en agua (Adler, 2014). Posteriormente, invaden rápidamente el flujo sanguíneo, causando como lesión primaria la disrupción de la integridad de las membranas celulares endoteliales: hemorragias y fugas capilares. Las hemorragias petequiales pueden ser aparentes en todos los órganos y tejidos. (Rao et al., 2003).

El período de incubación es aproximadamente de 7 a 14 días. Luego de pasar por la corriente sanguínea, las leptospiras colonizan preferentemente el riñón y el hígado, debido a la gran cantidad de lípidos (ácidos grasos) que poseen estos órganos; y en menor frecuencia, colonizan el pulmón y el pericardio. (Janwitthayanan et al., 2013, Rao et al., 2003). La forma grave de la enfermedad en humanos (síndrome de Weil) es caracterizada por disfunción hepática, renal, respiratoria y congestión difusa, con altas tasas de mortalidad. La ictericia surge entre el tercero y el séptimo día (Acha y Szyfres, 2001; Adler y De la Peña Moctezuma, 2010; Guerra, 2013).

Estas espiroquetas son capaces de persistir en órganos inmunológica y anatómicamente privilegiados. El sitio anatómico de predilección son los túbulos renales proximales, donde pueden permanecer hasta 4 semanas después de una infección aguda en humanos, y de forma intermitente, por años, en animales (Levett y Haake, 2010).

## Factores de virulencia

Los mecanismos por los cuales estas bacterias ocasionan enfermedad no están completamente entendidos. Sin embargo, se tiene entre los potenciales mecanismos de patogenicidad la respuesta del sistema inmune, y la producción de toxinas, adhesinas, lipoproteínas y otras proteínas de membrana externa (Goncalves-de-Albuquerque et al., 2012).

El LPS leptospiral se asemeja química e inmunológicamente al LPS de las bacterias Gram negativas. Sin embargo, ha demostrado ser menos activo y/o tóxico en exámenes de actividad de endotoxina (Adler, 2014). Otras proteínas que juegan un rol muy importante en el daño endotelial son las hemolisinas, colagenasas y proteasas, encontradas específicamente en *L. interrogans* y *L. borgpetersenii* (Xue, Yan y Picardeau, 2009).

La movilidad bacteriana ocupa el mayor papel en el desarrollo de la leptospirosis. La habilidad para avanzar rápidamente en ambientes desfavorables contribuye a la entrada de estas espiroquetas a través de las células epiteliales (Charon y Goldstein, 2002). Las proteínas de membrana pueden actuar como mediadores en la adherencia a las células hospedadoras o a la invasión de los tejidos. Estas proteínas pueden ser o lipoproteínas o proteínas de membrana integrales (Cullen, Haake y Adler, 2004).

El genoma de *Leptospira* spp. contiene más de 150 genes que codifican lipoproteínas; entre estos se pueden citar los genes Lig (liga, ligB y ligC) que codifican proteínas de membrana con papel en la adhesión a los tejidos del hospedador, actuando, además, como antígenos primarios (Choy et al., 2007). La lipoproteína más importante y conocida, LipL32, está altamente conservada entre los serovares patógenos. Otras lipoproteínas conocidas son la LipL21 y la LipL41 (Xue, Jan y Picardeau, 2009). La proteína LenA, endostatina-like, se une al factor H, regulador del complemento, lo que sugiere un importante papel en la resistencia al suero (Stevenson et al., 2007).

Las proteínas integrales de membrana externa (OMPs) juegan un papel clave en la patogénesis de la leptospirosis, ya que actúan como blancos antigénicos y de adhesión para los anticuerpos bactericidas, receptores celulares y/o porinas. El primer grupo de OMPs genéticamente definido en *Leptospira* spp. fue la lipoproteína de superficie OmpA-like, Loa22 (Ristow et al., 2007). Esta lipoproteína es bastante conservada con expresión regulada en la infección aguda de la leptospirosis (Evangelista y Cobum, 2010).

Recientemente, se han identificado 4 nuevas OMPs: OmpL36, OmpL37, OmpL47 y OmpL54), aunque hasta ahora no se han descrito sus roles funcionales (Pinne y Haake, 2009). La Lsa66 es otra proteína OmpA-like actualmente descrita; la misma tiene doble actividad (adhesión e invasión), sugiriendo un papel en la patogénesis de la leptospirosis (Oliveira et al., 2011).

El hierro es esencial para la viabilidad de muchas especies bacterianas; por consiguiente, la captación del mismo por la bacteria es considerada un factor de virulencia. Las leptospirosis poseen la Heme oxigenasa, HemO, la cual facilita la adquisición de hierro del heme (mayor fuente de hierro) (Murray et al., 2008).



## Epidemiología

La leptospirosis es una zoonosis distribuida mundialmente, tanto en áreas urbanas como rurales, en climas templados y tropicales. Diferentes condiciones climáticas y sociales ayudan al incremento y distribución de la enfermedad, como lluvias intensas, alta densidad de población en condiciones de pobreza y ausencia de servicios sanitarios (Bharti et al., 2003; Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; Picardeau, 2013).

La infección ocurre tanto por contacto directo con orina u otros fluidos corporales (excepto saliva) de animales infectados como por contacto indirecto con suelo, agua y/o alimentos contaminados con orina de hospedadores de mantenimiento (agentes diseminadores de las bacterias) o con fluidos corporales de hospedadores accidentales (que desarrollan la enfermedad) (Levett, 2004; Picardeau, 2013). El riesgo de contraer la enfermedad es principalmente ocupacional (trabajadores en plantaciones de arroz, caña de azúcar, etc.), además de estar asociado a catástrofes naturales (inundaciones, ciclones, etc.). En países desarrollados la enfermedad ha alcanzado importancia adicional al estar relacionada con el turismo de aventura y actividades acuáticas, debido al contacto con agua contaminada con orina de animales infectados (Picardeau, 2013; Dupouey et al., 2014).

Los hospedadores de mantenimiento pueden ser los animales que no presentan signos clínicos de la enfermedad aguda pero en los cuales las *Leptospiras* lograron colonizar los riñones; se destaca el papel de los roedores como principal reservorio y agente diseminador, excretando leptospiras al medio ambiente vía orina. Como hospederos accidentales (que desarrollan la enfermedad) se tiene a una gama de animales mamíferos (domésticos y de producción) y al hombre. La enfermedad se manifiesta con

problemas reproductivos (bovinos, suinos, caprinos y ovinos), uveítis (caballos) o cuadros agudos sistémicos (caninos y humanos) (Picardeau, 2013; Levett y Haake, 2010).

En general, cada serovariedad está adaptada a determinados hospedadores mamíferos; sin embargo, un organismo puede infectarse con más de una serovariedad (Hartskeel, Collares-Pereira y Ellis, 2011). Existen diferentes variaciones entre los hospedadores de mantenimiento y las serovariedades que transmiten; el conocimiento de las serovariedades prevalentes y sus hospedadores de mantenimiento es esencial para entender la epidemiología de la enfermedad (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; Levett, 2004).

En América Latina esta zoonosis tiene un carácter endémico en la mayoría de países. Entre las serovariedades más prevalentes en esta región se encuentran: *L. interrogans serovariedad icterohaemorrhagiae*, *L. interrogans serovariedad canicola*, *L. interrogans serovariedad pomona*, *L. australis serovariedad bratislava*, *L. australis serovariedad australis* y *L. interrogans serovariedad pyrogenes*, aunque se ha descrito serología para un nuevo serovar –*L. varillal* (Picardeau, 2013; Matthias, 2008; Petrakovsky et al, 2014).

En Colombia, se han reportado estudios sobre leptospirosis animal en bovinos, porcinos, caninos y en roedores. Las serovariedades para leptospirosis animal con mayor prevalencia en diferentes regiones colombianas son *L. interrogans serovariedad Icterohaemorrhagiae*, *L. interrogans serovariedad Hardjo*, *L. interrogans serovariedad Pomona* y *L. interrogans serovariedad Grippotyphosa*. En humanos los serogrupos más prevalentes son *L. australis*, *L. hebdomadis* y *L. sejroe* (Bello et al., 2013).

## Inmunidad y vacunas

La respuesta inmune inicial es de tipo celular reconociendo antígenos propios de la bacteria, como son los lipopolisacáridos (LPS) de las leptospiras, por medio de receptores tipo Toll (TLR), TLR2 y TLR4, los cuales activan los factores nucleares, como NF- $\kappa$ B, que inducen la producción de citoquinas inflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) y el factor de necrosis tumoral (TNF). Esta respuesta celular es descrita en la leptospirosis a pesar de la capacidad de las leptospiras de evadir la fagocitosis y el complemento (Rao et al., 2003, Hartskeel, Collares-Pereira y Ellis, 2011).

La respuesta inmune en la leptospirosis es predominantemente humoral en humanos y en la mayoría de las especies animales. Muchos estudios demostraron que esta inmunidad puede ser transferida pasivamente por humanos convalecientes o suero animal, ya sea por antisero producido experimentalmente o por anticuerpos monoclonales (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010). El organismo consigue montar una respuesta específica contra el serovar infectante, mediante la producción de anticuerpos IgM e IgG, además de la producción de interferón gamma y la respuesta asociada a células T4 (CD4+) (Bernardi et al., 2012; Goncalves-de-Albuquerque et al., 2012).

Las vacunas para humanos y animales han sido usadas desde 1920; casi todas eran preparadas con leptospiras inactivadas por una variedad de métodos como calor, formalina, fenol, irradiación, etc. (Faine et al., 1999). En la actualidad existen diversas vacunas contra la leptospirosis. Las más conocidas son las vacunas inactivadas, las cuales son emulsiones con mínimo 3 serovares (Koizumi y Watanable, 2005).

La inmunización en los humanos no es muy practicada. Actualmente se tiene disponible solo en algunos países como China (para prevenir las epidemias en grande escala en los trabajadores

agrícolas), Francia (para trabajadores considerados de "ocupaciones de alto riesgo"), Cuba y Rusia (Martínez et al., 2004; Chen, 1985; Laurichesse et al., 2007; Levett y Haake, 2010).

Tanto en los animales como en los humanos, las vacunas son serovar específicas, y protegen por un corto período de tiempo; por ello la revacunación en distintos intervalos es necesaria para mantener los títulos de anticuerpos protectores. Estas vacunas están enfocadas en la situación local de la enfermedad y no representan la realidad de otras áreas con otros serovares endémicos (WHO, 2003; OIE, 2012).

## Leptospirosis como problema de salud animal

Los signos clínicos de la leptospirosis en los animales pueden variar desde la forma subclínica o de fiebre leve hasta enfermedad hepática, renal y pulmonar. La fase aguda de la enfermedad es caracterizada por falla renal y hepática asociada con disturbios hematológicos y bioquímicos; suele ser letal si no es tratada rápidamente (Goldstein, 2010; André-Fontaine, 2006).

La mayoría de los casos están relacionados a serovariedades adaptadas con un hospedador como *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola, en perros; *Leptospira Australis* serovariedad Bratislava, en caballos y cerdos; *Leptospira borgpetersenii* serovariedad Hardjo, en ganado, y *Leptospira interrogans* serovariedad Pomona, en cerdos. Sin embargo, otras serovariedades pueden estar involucradas en presentaciones más graves de la enfermedad (Faine et al., 1999; Dammert, 2005).

En los caninos la leptospirosis también es conocida como enfermedad de Stuttgart. Se describen en la literatura cuatro síndromes asociados a la enfermedad: icterico, hemorrágico, urémico y reproductivo. Un caso típico de leptospirosis

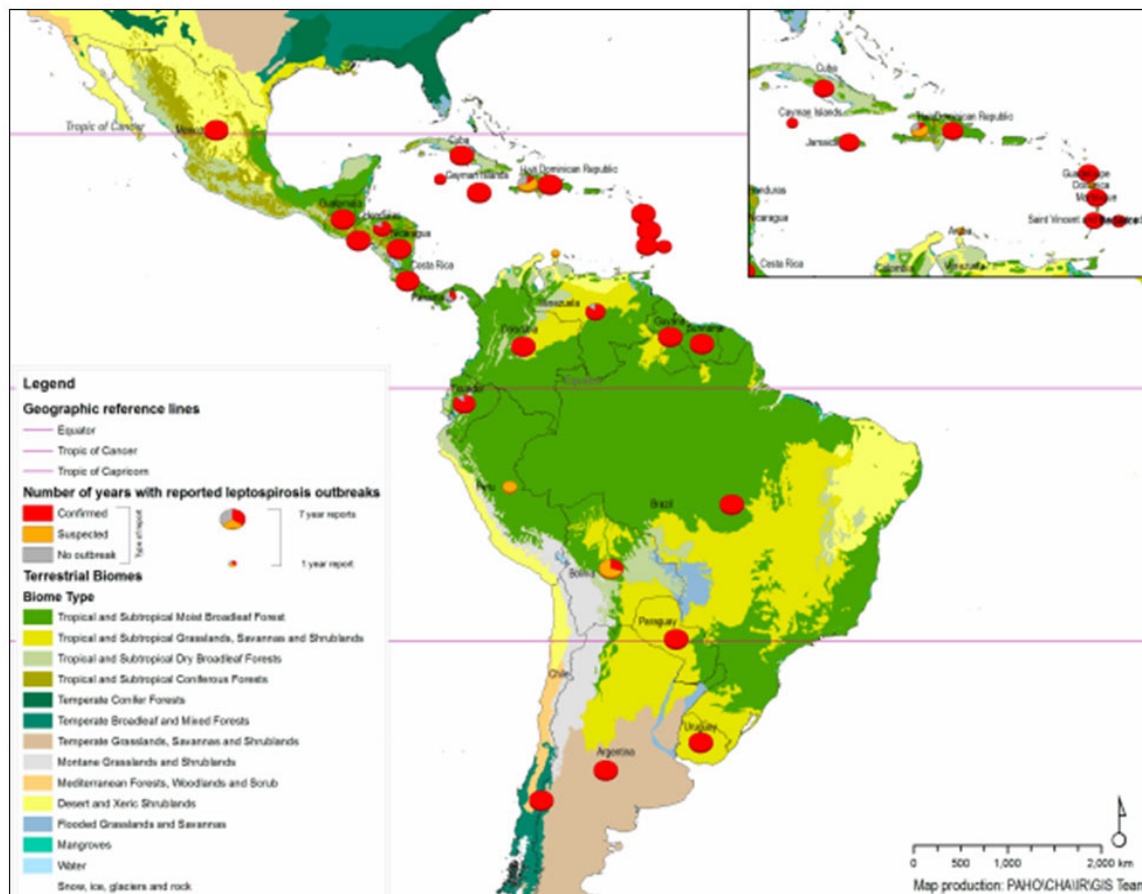


canina se presenta con fiebre, ictericia, vómitos, diarrea, coagulación intravascular diseminada, uremia, hemorragias y muerte. Los casos crónicos de leptospirosis en caninos son menos frecuentes (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; André-Fontaine, 2006). Existen pocos casos reportados de leptospirosis felina; sin embargo, ha sido demostrada la seroconversión para esta enfermedad (Markovich, Ross, McCobb, 2012; Agunloye y Nash, 1996).

En animales de producción (bovinos, ovinos, caprinos y suinos), la presentación de la enfermedad puede ser aguda o crónica, con prevalencia de la segunda. Los signos de la enfermedad incluyen fallas reproductivas, abortos, natimortos, momificación fetal, nacimiento de lechones o becerros débiles y agalactia, que representan pérdidas económicas para el sector ganadero y porcicultor (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; Lucheis y Ferreira, 2011; Petrakovsky et al., 2014).

En caballos la enfermedad es considerada una infección rara. No obstante, existe información que resalta que la incidencia de la enfermedad y los serovares infectantes están variando en diferentes regiones. Los signos clínicos generales son los mismos que los de animales de producción, aunque en la leptospirosis equina se describe la uveítis recurrente infecciosa (oftalmía periódica o ceguera lunar), la cual parece estar mediada por mecanismos autoinmunes que envuelven una reacción cruzada entre los tejidos oculares y las OMP leptospirales (Hamond et al., 2014; Verma, Stevenson y Adler, 2013).

Se tiene que tomar en cuenta que los animales en la fase de recuperación de la enfermedad pueden ser portadores asintomáticos y albergar leptospiras patógenas en los túbulos renales por períodos de tiempo prolongados, así como diseminar estas bacterias en el ambiente (Levett, 2001).



**Figura 2.** Distribución geográfica de los brotes de leptospirosis animal reportados a la OIE entre el 2005 y 2014.

Fuente: Petrakovsky et al., 2014.



En América Latina y el Caribe, la leptospirosis es una enfermedad re-emergente de carácter endémico, y se han reportado diversos brotes de esta infección a lo largo de los años (Petrakovsky et al., 2014).

## Leptospirosis como problema de salud pública

La enfermedad en el hombre puede presentarse de forma subclínica, con manifestaciones clínicas inespecíficas semejantes a las de la influenza (gripe), y en algunos casos, como una meningitis linfomonocitaria hasta un cuadro hemorrágico pulmonar (WHO, 2003).

La leptospirosis humana fue reconocida inicialmente como una enfermedad ocupacional, asociada a actividades agropecuarias y mantenimiento de redes de desagües (Guerra, 2013). En la actualidad, la misma ha cobrado importancia como una zoonosis de carácter recreacional, reportándose casos asociados a viajes y a exposición recreacional acuática (pesca, natación, buceo, kayak, entre otras). Las inundaciones también se han identificado como un factor de riesgo para esta zoonosis (Levett, 2004).

Los factores de riesgo en los humanos son los mismos que en los animales –Contacto con animales infectados, orina de animales infectados y/o redes de agua (o superficies) contaminada con orina de animales infectados–. No existe transmisión natural humano-humano que haya sido comprobada (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010; Bharti et al., 2003; Pappas et al., 2008).

En Europa el panorama de transmisión de la enfermedad involucra migración urbana, actividades ocupacionales (veterinarios y trabajadores agropecuarios) y exposición recreacional por el turismo a otros continentes.

El cambio climático es un factor potencial a tomar en cuenta al evaluar posibles locales epidémicos en este continente. Dupouey et al. (2014) encontraron una incidencia de casos de leptospirosis humana de 0.13/100,000 habitantes en Europa, en el 2010. Si bien esta incidencia puede considerarse “estable”, se tiene que tomar en cuenta que puede reflejar únicamente los casos fácilmente identificables, escondiendo los casos asintomáticos o sin signología específica.

En los Estados Unidos, de 100 a 200 casos humanos de leptospirosis humana fueron reportados en 1994, año en el cual dejó de ser considerada una enfermedad de notificación nacional. Sin embargo, la enfermedad aún se mantiene notificada en algunos estados como Hawaii, California y Texas (Guerra, 2013). El carácter actual de zoonosis recreacional en este país se vio afirmado con un brote de leptospirosis humana que afectó a practicantes de deportes de aventuras (Stern et al., 2010).

Se sabe que en América del Sur la leptospirosis humana está presente; sin embargo, no es de carácter notificable en la mayoría de los países y la información de los casos anuales es derivada en su mayoría de la OIE. En América central los países con incidencias más altas son El Salvador, Nicaragua y Cuba. En las islas del Caribe la enfermedad es de carácter endémico, de acuerdo con reportes anuales del Centro de Epidemiología del Caribe (Pappas et al., 2008).

En Colombia de acuerdo con la información del Sistema Nacional de Vigilancia en salud Pública, hasta el 2013, se notificaron al SIVIGILA 2263 casos totales de leptospirosis, y en comparación con el mismo período del año anterior, se observa un aumento del 13,94 % de la notificación para el 2013. Las cinco entidades territoriales por procedencia con mayor proporción de casos confirmados en el 2013 fueron Antioquia (33,04 %), Valle del Cauca (19,07 %), Cartagena y



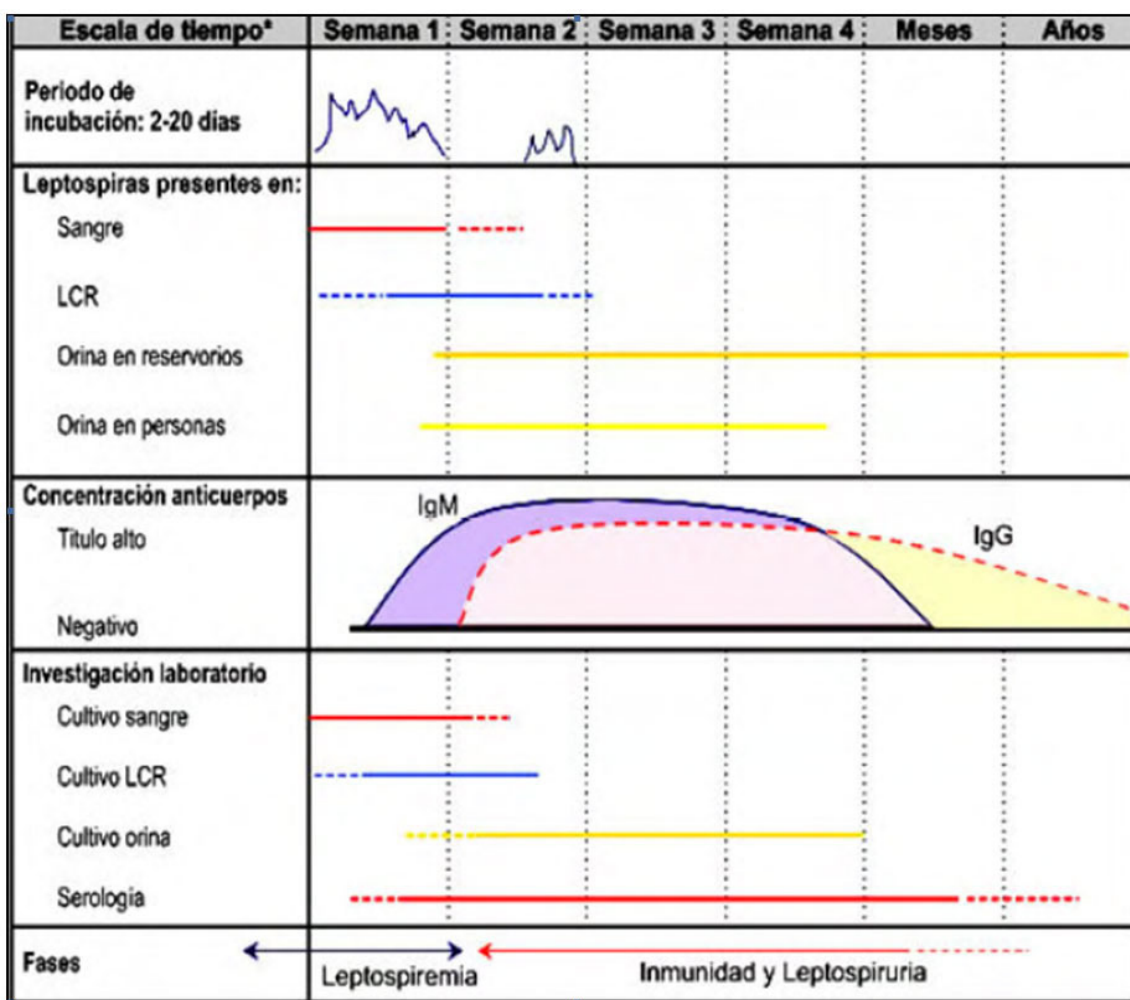
Atlántico (4,61 % cada una) y Barranquilla (3,86 %) acumulando el 65,21 % de la notificación del país (INS Colombia, 2014).

## Diagnóstico

Debido a que esta infección tiene un amplio rango de signos clínicos, el diagnóstico definitivo de la misma es dificultoso y depende de una batería de exámenes de laboratorio (Barthi et al., 2003). Además, el tiempo en el que se colecta la

muestra y el tipo de muestra son fundamentales para poder llegar a un diagnóstico definitivo de leptospirosis. Durante la fase aguda de la infección es común un cuadro de leptospiremia, que dura generalmente de 3 a 10 días; por consiguiente, una muestra de sangre para evaluar presencia de ADN leptospiral sería el examen a elección. Luego de esta fase empieza la producción de anticuerpos, que generalmente comienza en la segunda semana posinfección y puede durar algunas semanas (Picardeau, 2013).

**Figura 3.** Estadios de la enfermedad en correlación con los momentos de toma de muestra.



\*Adaptado de Levett y Haake, 2010.

## Examinación microscópica

Las leptospiras pueden ser visualizadas en el laboratorio por microscopia de campo oscuro, debido a su reducido tamaño. Para esto es necesario tener una muestra (sangre, orina o líquido cefalorraquídeo) de aproximadamente  $10^4$  leptospiras/ml por célula/campo. Lamentablemente, este examen diagnóstico tiene una sensibilidad y especificidad bajas (Ahmad y Shah, 2005; Levett, 2004).

## Aislamiento del agente

La detección de leptospiras mediante el cultivo representa un diagnóstico definitivo. Desafortunadamente, esta técnica no constituye un examen de rutina práctico para el diagnóstico por diferentes razones: período de incubación prolongado (hasta 3 meses, con exámenes semanales), requerimiento de muestras frescas de individuos que no hayan sido sometidos a tratamiento, peligro alto de contaminación del cultivo y baja especificidad (falsos negativos). El medio más usado para el cultivo es el medio semisólido Fletcher con adición de suero de conejo. En este se puede observar el crecimiento de las leptospiras macroscópicamente expresado en la formación de un halo, anillo de Dinger (Faine et al., 1999; Levett, 2001; Adler y De La Peña Moctezuma, 2010).

## Exámenes serológicos

La gran mayoría de casos de leptospirosis son diagnosticados mediante serología. Los anticuerpos IgM son detectados en la sangre a los 5-7 días después de la aparición de signos clínicos (Levett, 2004).

La prueba de aglutinación microscópica (MAT) es la prueba considerada "gold standard" para el diagnóstico de la leptospirosis. Esta tiene la

ventaja de ser la única prueba específica para serogrupos; por lo tanto, tiene gran valor para estudios epidemiológicos. Entre las desventajas se destaca que no discrimina entre anticuerpos IgM e IgG, requiere de mucho presupuesto para mantener una batería de leptospiras vivas (usadas como antígeno) y para la lectura de la prueba se requiere de personal calificado y con mucha experiencia en el área (OIE, 2012; Ahmad y Shah, 2005).

El objetivo del MAT está basado en determinar el título máximo en el cual el 50 % de leptospiras (antígeno vivo) de un campo (en el microscopio) se encuentra aglutinado. Estas aglutinaciones son directamente proporcionales a la cantidad de anticuerpos anti-leptospira en el suero evaluado. El punto de corte, titulación a partir del cual una muestra es considerada positiva, depende de diversos factores: especie animal, serovar prevalente en la región, presencia de co-aglutinaciones, vacunaciones, entre otros; usualmente es aceptada una titulación mínima de 1/400 acompañada de signos clínicos para confirmar al individuo como positivo para la enfermedad. Exámenes seriados (2 muestras con espacio de 15 días entre ellas) también son realizados para confirmar el diagnóstico (Goris y Hartskeerl, 2013; OIE, 2013).

Otros exámenes serológicos encontrados en el mercado son los ELISA. Estos exámenes tienen una alta sensibilidad, pero no tienen la especificidad de serotipo que da el MAT; sin embargo, son usados como primera línea diagnóstica de la leptospirosis humana en muchos países de América Latina (Musso y La Scola, 2013).

## Exámenes moleculares

Existen diferentes protocolos de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) usados para la detección de ADN leptospiral. A lo largo de



los años se han descrito diferentes protocolos usando primers generales, para leptospiras patógenas y no patógenas, y primers específicos para leptospiras patógenas; sin embargo, dos protocolos han sido los más usados para evaluación clínica y académica (Adler y De La Peña Moctezuma, 2010; Levett, 2004).

El protocolo desarrollado por Merien et al., (1992) amplifica un fragmento de 331 pb usando los primers LEP1/LEP2 que codifican tanto para leptospiras patógenas como para no patógenas. El protocolo desarrollado por Brown et al., (1995) que usa los primers G1/G2 no amplifica los serovares de la especie *L. kirschneri*. A pesar de las limitaciones de ambos protocolos, estos continúan siendo los de elección en el diagnóstico y la investigación.

Las muestras de las cuales se ha amplificado ADN leptospiral son: suero, orina, humor acuoso, líquido cefalorraquídeo y tejidos como riñón e hígado (Levett, 2004). El PCR en tiempo real (qPCR) es más rápido y menos sensible a contaminantes que el PCR convencional. Existe un protocolo de PCR en tiempo real usando SYBR Green como fluorocromo que fue validado para muestras de orina y suero (Levett et al., 2005).

A pesar de la alta sensibilidad de las técnicas moleculares para la detección de *Leptospira* spp., aún se tiene como limitante el hecho de que estas técnicas no son útiles en estudios epidemiológicos, p. e. para determinar orígenes de brotes de leptospirosis, lo cual viene a ser un punto a favor para las técnicas serológicas, como el MAT (Who, 2003; Goris y Hartskeerl, 2013).

## Tratamiento

Los antibióticos son de gran utilidad en el tratamiento de la enfermedad. Se recomienda el uso de penicilinas o doxiciclinas para el tratamiento inicial en humanos y caninos. Este

tratamiento debe iniciarse tan rápido como sea posible. En trabajos con animales modelo para la enfermedad, como los hamsters, la doxiciclina remueve las espiroquetas de los tejidos, incluyendo los riñones, dentro de los 3 primeros días de la infección; la ampicilina demostró ser menos efectiva para la misma función (Levett y Haake, 2010; Truccolo et al., 2002). En caninos la droga de elección para la eliminación de la bacteria de los tejidos es la doxiciclina. Ante la posibilidad de la administración de fármacos orales pueden usarse doxiciclina (5 mg/kg cada 12 horas) o amoxicilina (22 mg/kg cada 12 horas). Sin embargo, en la vía intravenosa es preferible usar ampicilina (22 mg/kg cada 12 horas) o amoxicilina (Goldstein, 2010).

Es importante realizar el tratamiento completo y con las dosis adecuadas para cada especie, debido a que, si bien el paciente puede mostrar una recuperación completa, las leptospiras pueden permanecer en los riñones, dejando a los infectados en condición de portadores y diseminadores (Sarkar et al., 2012; Miraglia et al., 2013). En el caso de los caninos, se usa la doxiciclina oral (5mg/kg cada 12 horas por 3 semanas) para eliminar las bacterias de los tejidos y librar al animal del estado de diseminador (Goldstein, 2010).

Los pacientes humanos que presentan signos de enfermedad severa (ictericia o insuficiencia renal) deben ser tratados inmediatamente (con un diagnóstico presuntivo) para recomponer el balance hidroelectrolítico. En caso de falla renal aguda, se recomienda como terapia efectiva la diálisis peritoneal o hemodiálisis (Guerrant et al., 2011). Según el Instituto Nacional de Salud de Colombia (2009), los antibióticos de primera elección en los humanos son amoxicilina (500 mg cada 8 horas) por 7 a 10 días para casos leves, y penicilina sódica (2-4 millones cada 6 horas IV) por 7 días, pudiendo remplazarse la penicilina por doxiciclina (100 mg cada 12 horas) por 7 días, en casos de alergias.

**Tabla 1.** Antibióticos recomendados para quimioprofilaxis y tratamiento de la leptospirosis humana.

Indicación	Componentes	Dosis
Quimioprofilaxis	Doxiciclina	200 mg VO semanal
Tratamiento de la leptospirosis leve	Doxiciclina	100 mg VO
	Ampicilina	500-750 mg VO c/ 6 horas
	Amoxicilina	500 mg VO c/6 horas
Tratamiento de la leptospirosis moderada a severa	Penicilina G	1.5 MU VI c/6 horas
	Ceftriaxona	1 g VI c/ 24 horas
	Ampicilina	0.5 – 1 g VI c/ 6 horas

\*Adaptado de Levett y Haake, 2010.

En casos severos de leptospirosis animal se recomiendan altas dosis de penicilina intravenosa (hasta 4 veces al día). En casos menos severos (en el comprometimiento de la función renal), antibióticos orales como amoxicilina, ampicilina, doxiciclina o eritromicina pueden ser prescritos. Las cefalosporinas de tercera generación y las quinolonas también se reportaron efectivas (WHO, 2003).

## Prevención

Los programas de prevención y control en salud pública se enfocan en diferentes factores: adoptar medidas protectoras (vestimenta), evitar actividades de alto riesgo, intervenir el reservorio para reducir la infección en poblaciones animales reservorio (caninos y/o bovinos), limitar contacto con animales infectados y silvestres, implementar campañas de desratización, inmunizar y hacer uso de quimioprofilaxis. En poblaciones consideradas en riesgo, como es el caso de agricultores en Asia y Francia, la inmunización es una estrategia adoptada y justificada (Acha y Szyfres, 2001; WHO, 2003; Levett y Haake, 2010).

En salud animal, una de las mejores estrategias de prevención es la inmunización. Actualmente se cuenta con vacunas efectivas tanto para los animales de producción como para animales domésticos. Para los primeros las principales serovariedades incluidas en la vacuna son *Leptospira interrogans* serovariedad Pomona, *Leptospira interrogans* serovariedad Grippotyphosa, *Leptospira borgpetersenii* serovariedad Hardjo, *Leptospira interrogans* serovariedad Canicola y *Leptospira interrogans* serovariedad Icterohaemorrhagiae; para los segundos, se incluyen todos los anteriores con la excepción de *Leptospira borgpetersenii* serovariedad Hardjo (Greene, 2013; Hartskeerl, Collares-Pereira y Ellis, 2011).

Debido el carácter general crónico de la enfermedad en animales de producción, lo cual convierte a estos animales en potenciales diseminadores, se recomienda el trabajo conjunto de la inmunización y adecuadas técnicas de manejo –medidas de control de roedores, indumentaria protectora para los trabajadores y adecuado sistema sanitario (WHO, 2003; Zavitsanou y Babatsikou, 2008; Levett y Haake, 2010)–.



## Consideraciones finales

Si bien la enfermedad es conocida desde hace más de 2 décadas, aún existe poca información en algunas áreas –patogenia, aspectos moleculares, serovariedades infectantes, etc.– en comparación con otras zoonosis de igual o menor impacto.

El amplio ámbito de hospedadores y vías de transmisión diversas de esta zoonosis la convierten en una amenaza latente para la salud pública. Por consiguiente, la epidemiología de la enfermedad es de importancia crucial, tanto para dirigir un mejor diagnóstico como para el tratamiento y control de la enfermedad.

Existen diversos grupos de investigación a escala mundial a cargo de profesionales renombrados en el área, interesados en profundizar sobre la leptospirosis. Existe la Sociedad Internacional de Leptospirosis (ILS), sitio web <http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/ils.html>, la cual se instaló en 1994 con el objetivo de promover el conocimiento de esta zoonosis entre el público en general y profesionales en esta línea de investigación.

## ■ Referencias

Acha, P. N. y Szyfres, B. (2001). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen I: Bacteriosis y micosis. *Revista Española de Salud Pública*; 75(3): 263-264.

Adler, B. (2014). Pathogenesis of leptospirosis: Cellular and molecular aspects. *Veterinary microbiology*; 172(3): 353-358.

Adler, B. y de la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary microbiology*; 140(3): 287-296.

Agunloye, C. A. y Nash, A. S. (1996). Investigation of possible leptospiral infection in cats in Scotland. *Journal of small animal practice*; 37(3): 126-129.

Ahmad, S. N. y Shah, S. (2005). Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Journal of postgraduate medicine*; 51(3): 195.

André-Fontaine, G. (2006). Canine leptospirosis—Do we have a problem? *Veterinary microbiology*; 117(1): 19-24.

Bello, S., Rodríguez, M., Paredes, A., Mendivelso, F. et al. (2013). Comportamiento de la vigilancia epidemiológica de la leptospirosis humana en Colombia, 2007-2011. *Biomédica*; 33(1): 153-60.

Bernardi, F. D. C., Ctenas, B., da Silva, L. F. F., Nicodemo, A. C., Saldiva, P. H. N. et al. (2012). Immune receptors and adhesion molecules in human pulmonary leptospirosis. *Human pathology*; 43(10): 1601-1610.

Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Díaz, M. M., et al. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet infectious diseases*; 3(12): 757-771.

Brown, P. D., Gravekamp, C., Carrington, D. G., Van de Kemp, H., Hartskeerl, R. A. et al (1995). Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. *Journal of medical microbiology*; 43(2): 110-114.

Centers for Disease Control and Prevention CDC, 2012. Infection. Leptospirosis. Recuperado [18/05/2015] de <http://www.cdc.gov/leptospirosis/infection/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (1994). Summary of notifiable diseases, United States, 1993. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*; 42(53).

- Cerqueira, G. M. y Picardeau, M. (2009). A century of *Leptospira* strain typing. *Infection, Genetics and Evolution*; 9(5): 760-768.
- Charon, N. W. y Goldstein, S. F. (2002). Genetics of motility and chemotaxis of a fascinating group of bacteria: the spirochetes. *Annual Review of Genetics*; 36(1): 47-73.
- Chen, T. Z. (1985). Development and situation of and techniques for production of leptospirosis vaccine in China. *Jpn J Bacteriol*; 40: 755-62.
- Choy, H. A., Kelley, M. M., Chen, T. L., Møller, A. K., Matsunaga, J. et al. (2007). Physiological osmotic induction of *Leptospira interrogans* adhesion: LigA and LigB bind extracellular matrix proteins and fibrinogen. *Infection and immunity*; 75(5): 2441-2450.
- Corney, B. G., Slack, A. T., Symonds, M. L., Dohnt, M. F., McClintock, C. S. et al. (2008). *Leptospira weilii* serovar Topaz, a new member of the Tarassovi serogroup isolated from a bovine source in Queensland, Australia. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*; 58(10): 2249-2252.
- Cullen, P. A., Haake, D. A. y Adler, B. (2004). Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes. *FEMS microbiology reviews*; 28(3): 291-318.
- Cullen, P. A., Xu, X., Matsunaga, J., Sanchez, Y., Ko, A. I., Haake, D. A. y Adler, B. (2005). Surfaceome of *Leptospira* spp. *Infection and immunity*; 73(8): 4853-4863.
- Dammert, N. 2005. Leptospirosis: una revision bibliográfica. Recuperado [20/05/2015] de [http://www.sapuvetnet.org/antigo/Pdf%20Files/Monografia\\_leptospira.pdf](http://www.sapuvetnet.org/antigo/Pdf%20Files/Monografia_leptospira.pdf)
- Das Neves Paiva-Cardoso, M., Arent, Z., Gilmore, C., Hartskeerl, R. y Ellis, W. A. (2013). Altodouro, a new *Leptospira* serovar of the Pomona serogroup isolated from rodents in northern Portugal. *Infection, Genetics and Evolution*; 13: 211-217.
- Dupouey, J., Faucher, B., Edouard, S., Richet, H., Kodjo, A. et al. (2014). Human leptospirosis: An emerging risk in Europe? *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*; 37(2): 77-83.
- Evangelista, K. V., y Coburn, J. (2010). *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future microbiology*; 5(9): 1413-1425.
- Faine, S., Adler, B., Bolin, C., Perolat, P. (1999). *Leptospira and leptospirosis*. Medisci, Melbourne.
- Goldstein, R. E. (2010). Canine leptospirosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*; 40(6): 1091-1101.
- Goncalves-de-Albuquerque, C. F., Burth, P., Silva, A. R., Younes-Ibrahim, M., Castro-Faria-Neto, H. C. et al. (2012). *Leptospira* and inflammation. *Mediators of inflammation*.
- Goris, M. G. y Hartskeerl, R. A. (2013). Leptospirosis serodiagnosis by the microscopic agglutination test. *Current protocols in microbiology*; 12(E-5).
- Greene, C. E. (2013). *Infectious diseases of the dog and cat*. Elsevier Health Sciences.
- Guerra, M. A. (2013). Leptospirosis: public health perspectives. *Biologicals*; 41(5): 295-297.
- Guerrant, R. L., Walker, D. H. y Weller, P. F. (2011). *Tropical infectious diseases: principles, pathogens and practice*. Elsevier Health Sciences.
- Hamond, C., Pinna, A. Martins, G., y Lilenbaum, W. (2014). The role of leptospirosis in reproductive



disorders in horses. *Tropical animal health and production*; 46(1): 1-10.

Hartskeerl, R. A., Collares-Pereira, M. y Ellis, W. A. (2011). Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clinical microbiology and infection*; 17(4): 494-501.

Hookey, J. V., Bryden, J. y Gatehouse, L. (1993). The use of 16S rDNA sequence analysis to investigate the phylogeny of Leptospiraceae and related spirochaetes. *Journal of general microbiology*; 139(11): 2585-2590.

Inada, R., Ido, Y., Hoki, R., Kaneko, R. y Ito, H. (1916). The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica). *The Journal of experimental medicine*; 23(3): 377-402.

Instituto Nacional de Salud (INS-Colombia). 2009. Protocolo Leptospirosis. Recuperado [19/05/2015] de <https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/PROTOCOLO%20DE%20LEPTOSPIROSIS.pdf>

Instituto Nacional de Salud Colombia. 2014. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública – Leptospirosis. Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública. Recuperado [21/05/2015] de <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Leptospirosis.pdf>

Janwitthayanan, W., Keelawat, S., Payungporn, S., Lowanitchapat, A., Suwancharoen, D. et al. (2013). In vivo gene expression and immunoreactivity of *Leptospira* collagenase. *Microbiological research*; 168(5): 268-272.

Johnson, R.C., Rogers, F.C. (1964). Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospirae with 8-azaguanine. *Journal of Bacteriology*; 88: 1618-1623.

Kmety, E., Dikken, H. (1993). Classification of the Species *Leptospira interrogans* and History of its Serovars. University Press, Groningen, Netherlands.

Koizumi, N. y Watanabe, H. (2005). Leptospirosis vaccines: past, present, and future. *Journal of postgraduate medicine*; 51(3): 210.

Laurichesse, H., Gourdon, F., Smits, H. L., Abdoe, T. H., Estavoyer, J. M., Rebika, H. et al. (2007). Safety and immunogenicity of subcutaneous or intramuscular administration of a monovalent inactivated vaccine against *Leptospira interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae in healthy volunteers. *Clinical microbiology and infection*; 13(4): 395-403.

Leptospirosis, O. I. E. (2012). Manual de la OIE sobre animales terrestres. 2008. Capítulo; 2(9): 186-190.

Lehmann, J. S., Matthias, M. A., Vinetz, J. M. y Fouts, D. E. (2014). Leptospiral pathogenomics. *Pathogens*; 3(2): 280-308.

Levett P.N. (2001). Leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology*; 14:296-326.

Levett, P. N. (2004). Leptospirosis: A forgotten zoonosis?. *Clinical and Applied Immunology Reviews*; 4(6): 435-448.

Levett, P. N. y Haake, D. A. (2010). *Leptospira* species (leptospirosis). Principles and practice of infectious diseases, Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia; 240: 3059-3065.

Levett, P.N. y Smythe, L. (2014). International Committee on Systematics of Prokaryotes, Subcommittee on the taxonomy of Leptospiraceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*; 64: 1071-1072

Levett, P. N., Morey, R. E., Galloway, R. L., Turner, D. E., Steigerwalt, A. G. et al. (2005). Detection of





pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *Journal of Medical Microbiology*; 54(1): 45-49.

Lucheis, S. B. y Ferreira Jr, R. S. (2011). Ovine leptospirosis in Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*; 17(4): 394-405.

Markovich, J. E., Ross, L. y McCobb, E. (2012). The prevalence of leptospiral antibodies in free roaming cats in Worcester County, Massachusetts. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 26(3): 688-689.

Martínez, R., Pérez, A., Quiñones, M. D. C., Cruz, R., Álvarez, Á., Armesto, M. et al. (2004). Eficacia y seguridad de una vacuna contra la leptospirosis humana en Cuba. *Rev Panam Salud Pública*; 15(4): 249-55.

Matthias, M. A., Ricaldi, J. N., Cespedes, M., Diaz, M. M., Galloway, R. L., Saito, M. et al. (2008). Human leptospirosis caused by a new, antigenically unique *Leptospira* associated with a *Rattus* species reservoir in the Peruvian Amazon. *PLoS neglected tropical diseases*; 2(4): e213.

Merien, F., Amouriaux, P., Perolat, P., Baranton, G. y Saint Girons, I. (1992). Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. *Journal of clinical microbiology*; 30(9): 2219-2224.

Miraglia, F., Matsuo, M., Morais, Z. M., Dellagostin, O. A., Seixas, F. K. et al. (2013). Molecular characterization, serotyping, and antibiotic susceptibility profile of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni isolates from Brazil. *Diagnostic microbiology and infectious disease*; 77(3): 195-199.

Murray, G. L., Ellis, K. M., Lo, M. y Adler, B. (2008). *Leptospira interrogans* requires a functional heme oxygenase to scavenge iron

from hemoglobin. *Microbes and Infection*; 10(7): 791-797.

Musso, D., y La Scola, B. (2013). Laboratory diagnosis of leptospirosis: a challenge. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*; 46(4): 245-252.

Noguchi H. (1917) *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* in American wild rats and its relation to the Japanese and European strains. *Journal of Experimental Medicine*; 25: 755-63

Oliveira, R., de Morais, Z. M., Goncales, A. P., Romero, E. C., Vasconcellos, S. A. et al. (2011). Characterization of novel OmpA-like protein of *Leptospira interrogans* that binds extracellular matrix molecules and plasminogen. *PLoS One*; 6(7): e21962.

Pappas, G., Papadimitriou, P., Siozopoulou, V., Christou, L. y Akritidis, N. (2008). The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *International Journal of Infectious Diseases*; 12(4): 351-357.

Petrakovsky, J., Bianchi, A., Fisun, H., Nájera-Aguilar, P. y Pereira, M. M. (2014). Animal Leptospirosis in Latin America and the Caribbean Countries: Reported Outbreaks and Literature Review (2002-2014). *International journal of environmental research and public health*; 11(10): 10770-10789.

Picardeau, M. (2013). Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine et maladies infectieuses*; 43(1): 1-9.

Pinne, M. y Haake, D. A. (2009). A comprehensive approach to identification of surface-exposed, outer membrane-spanning proteins of *Leptospira interrogans*. *PLoS One*; 4(6): e6071.

Rao, R. S., Gupta, N., Bhalla, P., & Agarwal, S. K. (2003). Leptospirosis in India and the rest of the



world. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*; 7(3): 178-193.

Ristow, P., Bourhy, P., da Cruz McBride, F. W., Figueira, C. P., Huerre, M. et al. (2007). The OmpA-like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence. *PLoS pathogens*; 3(7): e97.

Sarkar, J., Chopra, A., Katageri, B., Raj, H. y Goel, A. (2012). Leptospirosis: a re-emerging infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*; 5(6): 500-502.

Sedigheh, Z., Nargess, K., Zahra, F.G., Neda, S., Abdol-Ali, M. et al. (2010). *Leptospira wolffii*, a potential new pathogenic *Leptospira* species detected in human, sheep and dog. *Journal of Infectious, Genetics and Evolution*; 10: 273-277.

Stern, E. J., Galloway, R., Shadomy, S. V., Wannemuehler, K., Atrubin, D. et al. (2010). Outbreak of leptospirosis among Adventure Race participants in Florida, 2005. *Clinical Infectious Diseases*; 50(6): 843-849.

Stevenson, B., Choy, H. A., Pinne, M., Rotondi, M. L., Miller, M. C. et al. (2007). *Leptospira interrogans* endostatin-like outer membrane proteins bind host fibronectin, laminin and regulators of complement. *PLoS One*; 2(11): e1188.

Truccolo, J., Charavay, F., Merien, F. y Perolat, P. (2002). Quantitative PCR assay to evaluate ampicillin, ofloxacin, and doxycycline for treatment of experimental leptospirosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*; 46(3): 848-853.

Uhlenhuth, P., y Formme, W. (1916). Quoted in Topley and Wilson's Principles of Bacteriology. *Virology and Immunity*; 8(2): 617.

Valverde, M. D. L. A., Ramirez, J. M., de Oca, L. M., Goris, M. G., Ahmed, N. et al. (2008). Arenal, a new *Leptospira* serovar of serogroup Javanica, isolated from a patient in Costa Rica. *Infection, Genetics and Evolution*; 8(5): 529-533.

Verma, A., Stevenson, B. y Adler, B. (2013). Leptospirosis in horses. *Veterinary microbiology*; 167(1): 61-66.

Vijayachari, P., Sugunan, A. P. y Shriram, A. N. (2008). Leptospirosis: an emerging global public health problem. *Journal of biosciences*; 33(4): 557-569.

World Health Organization (WHO). (2003). Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control.

World Organization for Animal Health [OIE]. (2013). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. OIE. Leptospirosis. Recuperado [19/05/2015] de <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrialmanual/access-online/>.

Xue, F., Yan, J. y Picardeau, M. (2009). Evolution and pathogenesis of *Leptospira* spp.: lessons learned from the genomes. *Microbes and infection*; 11(3): 328-333.

Zavitsanou, A. y Babatsikou, F. (2008). Leptospirosis: epidemiology and preventive measures. *Health Sci J*; 2(2): 75-82.