

FACTIBILIDAD DE LA UTILIZACIÓN DEL ASE EN EL ENSAYO DE HAI EN EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LEPTOSPIROSIS EN LOS ANIMALES

Arencibia Arrebola, D.F.¹; Batista Santiesteban, N.¹; Rosario Fernández, L.A.²; Blain Torres, K.¹ y Solís Rodríguez, R.L.¹.
2010. Veterinaria Argentina, 27(268).

¹Instituto Finlay, Vicepresidencia de Investigaciones, Calle 17 e/ 198 y 200, Apartado Postal 16017, Reparto Siboney, Municipio Playa, Ciudad Habana, Cuba.

²Instituto de Farmacia de Alimentos (IFAL, U.H), Calle 222 e/ 25 y 27, Reparto La Coronela, Municipio La Lisa, Ciudad Habana, Cuba.
Teléfonos: (057) 072716911. darencibia@finlay.edu.cu

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)

RESUMEN

Leptospira se ubica en el orden Spirochaetales, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*. Este género comprende dos especies fenotípicas: *L. interrogans*, que agrupa a leptospiros patógenas, agente causal de la leptospirosis en el hombre y los animales y *L. biflexa*, que incluye leptospiros saprófitas de vida libre que se encuentran fundamentalmente en aguas superficiales y muy ocasionalmente en aguas marinas. A diferencia de *L. interrogans*, las cepas de *L. biflexa* raramente han estado asociadas a infecciones en humanos o animales y son avirulentas en animales de laboratorio. La leptospirosis humana y de los animales constituye para Cuba un problema de salud, ya que afecta desde el punto de vista económico y social a toda la población que se expone temporal o permanentemente al riesgo de infección. En Cuba se tiene implementada en los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología de todas las provincias del país con diferentes grados de éxito, la hemoaglutinación pasiva (HAI) como técnica diagnóstica. La misma permite detectar durante la fase aguda y la etapa de convalecencia de la enfermedad la presencia de *Leptospira* en el individuo enfermo. Esta técnica es una alternativa económicamente viable ante la dificultad para acceder a los métodos más modernos de diagnóstico desarrollados en los últimos años. El objetivo de esta revisión bibliográfica es realizar una breve reseña sobre los métodos serológicos más avanzados existentes en el diagnóstico de *Leptospira* y discutir la factibilidad del uso del Antígeno Sensibilizante de Eritrocitos (ASE) en el ensayo de Hemoaglutinación indirecta (HAI) como técnica de campo para diagnosticar la leptospirosis en animales sometidos a explotación (producción) y en animales de compañía a partir de que constituye una técnica económica y fácil de realizar.

Palabras clave: Leptospirosis, antígeno sensibilizante de eritrocitos, ensayo de hemoaglutinación indirecta, animales.

INTRODUCCIÓN

Leptospira se ubican en el orden Spirochaetales, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*. Este género comprende dos especies fenotípicas: *L. interrogans*, que agrupa a leptospiros patógenas, agente causal de la leptospirosis en el hombre y los animales y *L. biflexa*, que incluye leptospiros saprófitas de vida libre que se encuentran fundamentalmente en aguas superficiales y muy ocasionalmente en aguas marinas (1). A diferencia de *L. interrogans*, las cepas de *L. biflexa* raramente han estado asociadas a infecciones en humanos o animales y son avirulentas en animales de laboratorio (1).

Por debajo del nivel de especie, tanto *L. interrogans* como *L. biflexa*, se clasifican en serogrupos y serovares atendiendo a sus características sexuales (2). La clasificación, tipaje y caracterización de cepas mediante anticuerpos monoclonales (AcM) y técnicas de biología molecular han permitido un mayor conocimiento sobre las relaciones antigénicas y genómicas entre las cepas de *Leptospira*.

En la actualidad, además de la clasificación fenotípica, existe una clasificación genética, sin existir relación directa o correspondencia entre ambas clasificaciones (2, 3). La caracterización genética mediante la hibridación ADN-ADN ha permitido la división del género en 16 especies genómicas diferentes o genomoespecies (2). Debido a la falta de correspondencia entre las clasificaciones fenotípica y genética existen especies genómicas que incluyen serovares patógenos y no patógenos, así como serovares incluidos en más de una especie genómica. De esta forma, la especie genómica es típica de la cepa y ningún serogrupo o serovar predice la especie genómica a la cual pertenecerá una cepa en cuestión (2, 3).

En la reunión del Subcomité de Taxonomía de *Leptospira* en el 2007 desarrollada en Quito, Ecuador, se decidió dar el estatus de especies a las genomoespecies 1, 3, 4 y 5 previamente descritas, resultante en una familia que comprende 13 especies patógenas de *Leptospira*: *L. alexanderi*, *L. alstonii* (genomoespecie 1), *L. borgpeteri*

senii, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae* (genomoespecies 3), *L. weilii*, *L. wolffii*, con más de 260 serovares. La especie saprofita de *Leptospira* incluyen *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae* (genomoespecies 5), *L. kmetyi*, *L. vanthiellii* (genomoespecies 4), y *L. wolbachii*, y contiene más de 60 serovares (4).

La leptospirosis es una zoonosis de amplia distribución mundial. El espectro de la enfermedad en humanos y animales es extremadamente amplio, desde la infección subclínica hasta un síndrome severo de infección multi-orgánica con elevada mortalidad. Este síndrome, leptospirosis icterica con fallo renal, fue reportado por primera vez, por Adolfo Weil, hace más de 100 años (1886), en Heidelberg (5). Sin embargo, varios años antes se describió un síndrome aparentemente idéntico ocurrido en trabajadores del alcantarillado (6).

La leptospirosis humana y de los animales constituye para Cuba un problema de salud, ya que afecta desde el punto de vista económico y social a toda la población que se expone temporal o permanentemente al riesgo de infección. Desde la puesta en marcha del Programa de Control y Prevención de esta enfermedad en el año 1981 por las autoridades de Salud Pública del país, se ha registrado una tendencia descendente de la morbilidad como resultado de la aplicación de una vacuna cubana como medida profiláctica contra la enfermedad (7). Como parte importante de este Programa de Control y Prevención se tiene implementada en los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología de todas las provincias del país con diferentes grados de éxito (8, 9), la hemoaglutinación pasiva o indirecta (HAI) como técnica diagnóstica. La misma permite detectar durante la fase aguda y la etapa de convalecencia de la enfermedad la presencia de *Leptospira* en el hospedero enfermo. Esta técnica es una alternativa económicamente viable ante la dificultad para acceder a los métodos más modernos de diagnóstico desarrollados en los últimos años.

El objetivo de esta revisión bibliográfica es realizar una breve reseña sobre los métodos serológicos más avanzados existentes en el diagnóstico de *Leptospira* y discutir la factibilidad del uso del antígeno sensibilizante de eritrocitos (ASE) en el ensayo de HAI como técnica de campo para diagnosticar la leptospirosis en animales sometidos a explotación (producción) y de compañía a partir de que constituye una técnica económica y fácil de realizar.

DESARROLLO

1.- Características generales de las leptospirosis (taxonomía, hábitat y morfología)

La palabra leptospira procede de dos voces griegas: lepto- estrecho o delgado; espira- espiral. Las leptospirosis son microorganismos con especies patógenas y saprófitas. Estas pueden ocupar diversos ambientes, hábitat y ciclos de vida. Generalmente se reconoce que estas bacterias son virtualmente ubicuas en términos de su distribución geográfica, estando presentes en todo el planeta con excepción de la Antártica (10). La mayoría de las *Leptospira*, sin embargo, necesitan vivir en una alta humedad y pH neutro (6.9-7.4), lo cuales son esenciales para su supervivencia en reservorios naturales en aguas estancadas, pantanos, lagunas, estanques, y charcos.

Por sus determinantes antigénicos, el género *Leptospira* está constituido por dos especies: *L. biflexa* y *L. interrogans* (11). *L. biflexa* es una espiroqueta saprofita de vida libre sin capacidad patógena. El género *Leptospira* está dividido en 19 genomo-especies, basados en estudios de hibridación de ADN (12).

Los miembros de las *Leptospira* se agrupan también en serotipos, de acuerdo a sus relaciones antigénicas. La clasificación de los serovares de *Leptospira* es basada en la expresión de los epítopes de superficie expuestos en un mosaico de lipopolisacáridos antigénicos (LPS), mientras la especificidad de epítopes depende de su composición de azúcar y orientación. Hasta el momento se han codificado solo el genoma de dos de las especies patógenas *L. interrogans* serotipos Copenhageni y Lai de aproximadamente 4.6 Mb (13). Ambas con dos cromosomas que codifican a 3728 genes, dos operones del ARNm y 37 del ARNt (14).

Las leptospirosis son organismos muy delgados, por lo general todos los serotipos descritos hasta el momento tienen características similares. Su apariencia es en forma de espiral 6-20 micrómetros y 0.1 ¼ m de diámetro, con una distancia promedio entre crestas consecutivas de unos 0.5 ¼ m (15). Uno o ambos extremos del organismo están curvados en forma de gancho. Por ser tan delgadas, son bacterias que se visualizan con mayor facilidad con un microscopio de campo oscuro (16). Las *Leptospira* son organismos aerobios obligados, móviles a través de filamentos axiales llamados axostilo. Los dos flagelos conocidos como FlaA y FlaB son las proteínas de la grasa las cuales constituyen la vaina y centro flagelar respectivamente, se extienden desde la membrana citoplasmática en los extremos de la bacteria, y a través del espacio periplásmico y son necesarias para la motilidad del microorganismo (17). Además se dividen por fisión binaria. En virtud de su estructura en espiral alrededor de su eje axial, puede haber hasta 20 enrollamientos en función de su longitud total. La capacidad de invadir tejidos está también facilitada por la producción de la enzima hialuronidasa, la cual altera la permeabilidad del tejido conjuntivo al hidrolizar el ácido hialurónico (18). *Leptospira* tiene una envoltura celular similar a las bacterias Gram negativas. Sin embargo, la capa de peptidoglicano está asociada con la membrana citoplasmática en vez de la membrana externa, algo que es único de las espiroquetas.

La membrana externa contiene una variedad de lipoproteínas, proteínas periféricas y de transmembrana (19).

Como es de esperarse, la composición proteica de la membrana externa difiere al comparar las *Leptospira* que crecen en medio artificial con las que están presentes en un animal infectado (20). Se ha demostrado que varias proteínas de la membrana exterior se adhieren a la matriz extracelular y al factor H, una proteína de control del complemento. Estas proteínas pueden ser de importancia en la adhesión de la *Leptospira* a los tejidos del huésped y en la resistencia a las acciones del sistema del complemento (21, 22).

Dentro de la membrana exterior, el LPS constituye el antígeno principal para *Leptospira*. Es estructuralmente e inmunológicamente similar al LPS de los microorganismos Gram negativos. No obstante, es relativamente menos tóxico en células animales, siendo 12 veces menos letal para los ratones cuando se comparó con el LPS de *E. coli* (23).

Además de los LPS, otras proteínas estructurales y funcionales forman parte de la membrana exterior de la *Leptospira*, una proporción grande de tales proteínas lo forman la lipoproteínas con un abundancia relativa en la superficie celular: LipL32 > LipL21 > LipL41 (24), otras proteínas también se han identificado entre ellas las porinas OmpL1 (25), las proteínas (T2SS) tipo dos o de sistema de secreción y la secretina GspD (26). Todas localizadas en la membrana exterior de la *Leptospira*, y con un marcado aporte a la antigenicidad de la misma.

2.- Diagnóstico de la Leptospirosis

En Cuba el diagnóstico se basa en:

1. Grupos de riesgo: veterinarios, agricultores urbanos o rurales, trabajadores comunales, albañiles, carniceros, plomeros, y otros, tenencia de animales.
2. Manifestaciones clínicas.
3. Exámenes de laboratorio clínico, microbiológicos y serológicos (confirmatorio).
4. Estudio anatomopatológico.

2.1. Cuadro clínico

Después de un periodo de incubación entre 2-21 días, las formas de presentación son muy variables, similares a otras enfermedades como sepsis urinaria, hepatitis viral aguda y síndrome neurológico infeccioso. Se dividen en dos grandes síndromes (27):

1. Leptospirosis anictérica: 90 %.
2. Leptospirosis ictérica: 10 %.

Ambos tipos siguen un curso bifásico:

1. Fase leptospirémica o septicémica: dura aproximadamente 7 días, continúa con periodos sin fiebre de 2-3 días, se caracteriza por la presencia del microorganismo en el torrente sanguíneo, hígado, bazo, riñón, cerebro, pulmón, durante esta fase se pueden aislar las leptospirosis por cultivo directo o inoculación de animales de laboratorio (27).
2. Fase inmune: relacionada con la aparición de anticuerpos IgM, frecuentes meningitis y uveítis anterior como complicaciones (28).
3. Fase leptospirúrica: se presenta casi inmediatamente después de la anterior. Durante esta fase se pueden aislar las *Leptospiras* a partir de la orina excretada (18).

Generalmente comienza con un síndrome febril agudo, entre 38 y 40 °C y escalofríos, cuyo primer día el animal tiene fotofobia, mialgias (más intenso en los miembros inferiores principalmente en las pantorrillas), dolores lumbares y orinas oscuras que simula una sepsis urinaria, además pueden presentar tos seca, en ocasiones escasa expectoración con hemoptisis o sin ella, casi siempre de mal pronóstico, y síntomas gastrointestinales como náuseas, vómitos, diarreas y anorexia (27).

Al examen físico inicial se puede encontrar una hiperemia conjuntival, no hay disociación pulso-temperatura, hepatomegalia y, más raro, esplenomegalia, ictericia azafanada, hipersensibilidad abdominal difusa, hipersensibilidad muscular, signos meníngeos y oliguria. En las formas graves después de instalada la ictericia, aparece insuficiencia renal aguda, hemorragias, hipotensión, coma y finalmente la muerte.

Otras manifestaciones menos frecuentes son: erupciones cutáneas, linfadenopatías generalizadas, faringitis, hemorragia gastrointestinal, colecistitis acalculosa, neumonía hemorrágica y miocarditis (18).

2.2. Exámenes complementarios

Dentro de los exámenes complementarios se encuentra el hemograma el cual en ocasiones es normal o con presencia de anemia leve. Se realiza el leucograma, puede resultar normal o con leucocitosis con desviación izquierda o leucopenia. Eritrosedimentación acelerada. Bilirrubina elevada a expensa de la fracción directa. Creatinina normal o elevada. Dado el daño hepático la TGP y TGO se encontrarán elevadas el doble o triple. La CPK elevada en los primeros días. La enzima fosfatasa alcalina puede estar elevada y en las plaquetas se presenta trombocitopenia en la insuficiencia renal. En la orina se observa proteinuria, piuria, cilindros y hematuria microscópica, así como en el LCR citoquímico hay predominio de neutrófilos y después linfocitos, con glucosa

normal y las proteínas elevadas (29).

Laboratorio de microbiología:

- a) LCR Gram: negativo.
- b) Cultivos especiales:
 - ◆ Hemocultivo: medio líquido de Korthof en las dos primeras semanas de la enfermedad, los hemocultivos (en medios semisólidos) deben ser tomados inmediatamente después de la presentación del individuo presuntamente enfermo.
 - ◆ LCR: igual que el hemocultivo, la microscopía directa en campo oscuro de orina o LCR puede ser valiosa en el diagnóstico presuntivo, pero son frecuentes los artefactos (2, 23).
 - ◆ Orina: después de la 1ra o 2da semana de incubación (después del 10mo día), la viabilidad de las *Leptospira* en la orina de los animales domésticos es limitada, por lo que se debe procesar inmediatamente (23).
- c) Diagnóstico serológico:

Los métodos serológicos son los más ampliamente empleados, por ser más rápidos, de fácil ejecución, ofrecer una mayor detectabilidad, siempre que sean realizados teniendo en cuenta el curso natural de la enfermedad; aunque algunos casos resulta difícil la interpretación de los resultados fundamentalmente cuando se trata de títulos bajos (7, 9).

Los anticuerpos aglutinantes normalmente aparecen a los 10 días después de la infección; los títulos se elevan rápidamente y luego declinan a lo largo de varios meses hasta niveles moderados que pueden persistir durante semanas o años. El diagnóstico clínico se confirma por la elevación del título en muestras séricas pareadas, la primera tomada durante la etapa aguda y la segunda después de 7 a 10 días (30).

La mayoría de los casos de leptospirosis son diagnosticados por serología, siendo importante el uso de reactivos que detecten las serovariedades más comunes de la región. Los anticuerpos son detectables en sangre aproximadamente una semana después del inicio de los síntomas.

A continuación nombraremos las técnicas que más se utilizan en el diagnóstico serológico de la Leptospirosis:

- ◆ La técnica más útil y sencilla para determinar infección reciente en los casos de leptospirosis humana es la hemoaglutinación pasiva (HAI) con una sensibilidad del 92 % y una especificidad de 95 %, detectándose IgM a través de ella, lo que permite el diagnóstico de las infecciones recientes, pero su utilidad se reduce a solo dar información a género, las mismas se encuentran descentralizadas en todo nuestro país desde el año 1981 en humanos (7). En esta técnica por lo general se utiliza una sustancia sensibilizante de eritrocitos o llamado también antígeno sensibilizante, útil para sensibilizar *in vitro* a los eritrocitos de carnero con una cepa de *Leptospira* que por lo general no suele ser patógena, cuyo método es rápido y no requiere de ningún equipo especializado (31).
- ◆ La microaglutinación con antígenos vivos (MAT) se utiliza en centros de referencias, es el método de referencia para el diagnóstico serológico de leptospirosis. El suero del paciente se enfrenta con suspensiones de *Leptospira* vivas de los distintos serovares y se examina al microscopio la presencia de aglutinación. Es un método complejo de controlar, realizar e interpretar (32).

Otras pruebas serológicas son utilizadas en nuestros días como son la macroaglutinación en placa con antígeno termoresistente (TR), inmunofluorescencia indirecta (IFA), contrainmunolectroforesis, prueba de aglutinación microscópica con antígenos muertos, hemólisis pasiva, ELISA (ensayo de fase sólida ligado a enzima), reacción de fijación del complemento (RFC), aglutinación con látex, IgM dipstick, prueba de microaglutinación en cápsula (MCAT), prueba de microscopía Darkground (DGM). Aunque por lo general todos los resultados deben ser confirmados por MAT (2, 32).

2.3. Diagnóstico molecular.

Se ha detectado DNA leptospiral en materiales clínicos por dot-blot e hibridación. Se han desarrollado nuevos métodos de detección, tales como la amplificación de ADN por PCR, con elevada sensibilidad, especificidad y rapidez. Son pocos los que han sido sometidos a extensa evaluación clínica, encontrándose una positividad mayor que en el cultivo. Permiten detección rápida, aún antes de la conversión serológica. Estos métodos permiten diferenciar leptospirosis patógenas de saprofitas, así como también identificar el serovar infectante, cuando se combinan con otros métodos como el análisis con enzimas de restricción, o secuenciación directa de amplicones. Pero al ser un método de diagnóstico tan caro se reduce su utilidad, por lo general se utilizan en estudios epidemiológicos, útil en centros de referencias especializados (3).

3. POSIBLE UTILIDAD Y FACTIBILIDAD DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA DE HAI UTILIZANDO EL ANTÍGENO SENSIBILIZANTE DE ERITROCITOS (ASE) EN EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LEPTOSPIROSIS EN LOS ANIMALES

El diagnóstico de leptospira en animales se realiza solo en muy marcadas ocasiones cuando se sospecha en un foco emisor de contaminación constante hacia el hombre, pero en estos casos los especialistas indican su realización porque existen personas infectadas con síntomas clínicos. Esto significa que si el foco estuviera presente y no hubiera huéspedes susceptibles nadie llamaría la atención sobre lo sucedido. Desde el punto de vista de la salud animal existen pocos reportes detallados de cómo cursa en el animal la infección con este microorganismo. Aunque es conocido que en muchas ocasiones dicho proceso infeccioso es asintomático. El desarrollo de técnicas de alta precisión para el diagnóstico de *Leptospira* es bastante costoso, incluso para el diagnóstico en las personas, por lo que estas técnicas se utilizan muy poco o no se utilizan en los animales (33). Algunas técnicas como la HAI de menor costo pudieran ser un candidato efectivo para este fin.

La técnica HAI para ser efectiva depende de la utilización de un buen antígeno sensibilizante. Este antígeno debe ser lo más representativo posible en cuanto epítopes inmunológicos dominantes. De manera que los anticuerpos generados por el sistema inmunológico del animal reconozcan los epítopes con una alta especificidad y avidéz. Por lo general esta técnica solo puede reconocer hasta el nivel de género pero sin duda alguna esta información unida a la información clínica y epidemiológica ha sido de vital importancia para el control de la enfermedad en el hombre (7-9). Una estrategia semejante pudiera ser efectiva en animales domésticos y de explotación, lo cual tendría como objetivo además de la salud del animal el control epidemiológico de reservorios para el hombre.

En el Instituto Finlay de la Habana se trabaja con un antígeno procedente de la pared celular externa de la especie *Leptospira biflexa* patoc I. Esta es utilizada con éxito en el diagnóstico de campo de las personas con síntomas clínicos de leptospirosis a lo largo de todo el país. El uso de este antígeno se basa en las similitudes existentes entre cepas no patógenas como *L biflexa* y cepas patógenas como *L interrogans* (34). Las cuales comparten antigénicamente varios epítopes así como la estructura y composición molecular (35). Por otra parte el uso de cepas de *L biflexa* para la obtención del antígeno elimina el riesgo para el operador que labora en su obtención y además abarata los costos del producto final debido a las bondades de crecimiento que brinda esta especie en medios artificiales con respecto a las cepas patógenas (36, 37). La técnica de diagnóstico ha sido muy bien estandarizada y validada contra las técnicas de oro correspondientes por parte de un grupo de investigadores pertenecientes a un centro externo de nombrado prestigio como el Instituto Pedro Kouri (IPK) (8).

Basados en esta sustentación teórica unida a que la técnica por su factibilidad puede ser realizada por un profesional veterinario en cualquier lugar sin la presencia de personal altamente calificado ni equipos especializados su instrumentación pudiera significar un aporte importante en la lucha contra la leptospirosis. Entre los inconvenientes de la misma se encuentran la reactividad positiva por la presencia de especies no patógenas en la especie animal que se analice. Pero por lo general cuando hay presencia de leptospirosis como parte de la microbiota normal del cuerpo de ese animal cabe esperar que entre el sistema inmune del animal y el microorganismo se haya establecido un equilibrio cuya polarización esté dirigida hacia la tolerancia y aunque pueden existir niveles de anticuerpos, lo más importante es que no habrá síntomas clínicos de daños. Por el contrario en el caso de una enfermedad infecciosa el daño asociado a elevados títulos de aglutinación es indicativo de una infección por este microorganismo. El reto a nuestro entender del establecimiento de esta nueva técnica para uso en animales será establecer un valor de corte del título que sea capaz de discernir entre animales que presenten leptospirosis como parte de su microbiota normal y aquellos animales donde el microorganismo sea un patógeno independientemente de la especie de que se trate. Para ello será necesario realizar estudios *in vivo* donde se determinen los niveles de anticuerpos en ambos grupos de animales para una especie en cuestión, asociados a otras determinaciones clínicas importantes para discernir entre microbiota normal y asintomático.

En la figura 1, encontramos los resultados de un estudio comparativo mediante genómica de 2 especies patogénicas y 1 especie saprófita de *Leptospira*, donde se identificó 2052 genes comunes entre ellas, este hallazgo corrobora la teoría de un origen común entre *Leptospiras* patógenas y saprófitas (34, 35).

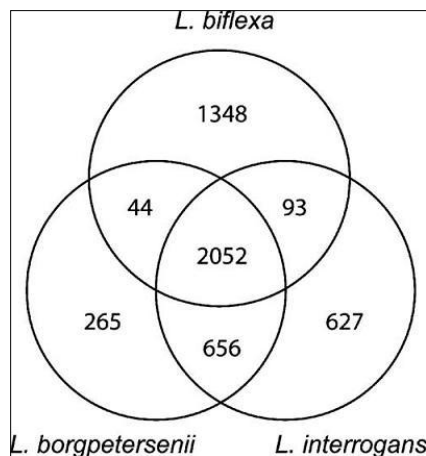


Figura 1. Estudio comparativo de 2 especies de Leptospiras patógenas y 1 especie de Leptospira saprófita.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cachay ER, Vinetz JM. A global research agenda for leptospirosis. *Journal of postgraduate medicine* 2005; 51(3):174-178.
- Levett PN. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews* 2001; 14:296-326.
- Silva EF, Medeiros MA, McBride AJ, Matsunaga J, Esteves GS, Ramos JG. The terminal portion of leptospiral immunoglobulin-like protein LigA confers protective immunity against lethal infection in the hamster model of leptospirosis. *Vaccine* 2007; 25:6277-6286.
- Sandow K, Ramírez W. Leptospirosis. *REDVET* 2005; 6(6):13-15.
- Weil A. Über eine eigenthümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende, acute Infektionskrankheit. *Deutsches Archiv für klinische Medicin, Leipzig* 1886; 39:209-232.
- Landouzy LT. Typhus hépatique. *Gazette des hôpitaux, Paris* 1883; 56: 913-914.
- MINSAP. Ministerio de Salud Pública, Cuba. Programa nacional de prevención y control de la leptospirosis humana. 1998; p.45-48.
- Boletín Epidemiológico Semanal: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" 1991; 1(52):3-4.
- MINSAP. Ministerio de Salud Pública, Cuba. Informe del Programa de Zoonosis. La Habana. 2008; p.26.32.
- Barbosa AS, Abreu PA, Neves FO, Atzingen MV, Watanabe MM, Vieira ML. "A newly identified leptospiral adhesin mediates attachment to laminin". *Infect. Immun* 2006; 74(11):6356-6364.
- Matthias MA, Ricaldi JN, Cespedes M, Diaz MM, Galloway RL, Saito M. "Human leptospirosis caused by a new, antigenically unique leptospira associated with a rattus species reservoir in the peruvian Amazon". *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2(4):213-215.
- Cameron CE, Zuerner RL, Raverty S, Colegrove KM, Norman SA, Lambourn DM, Jeffries SJ, Gulland FM. Detection of pathogenic *Leptospira* bacteria in pinniped populations via PCR and identification of a source of transmission for zoonotic leptospirosis in the marine environment. *J. Clin. Microbiol* 2008; 46:1728-1733.
- Ahmed N, Devi SM, Valverde ML, Vijayachari P, Machangu RS, Ellis WA, Hartskeerl RA. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob* 2006; 5:28-31.
- Boursaux C, Saint Girons I, Zuerner RL. *Leptospira* genomics. *Electrophoresis* 1998; 19:589-592.
- Collares-Pereira M, Korver H, Cao-Thi BV, Santos-Reis M, Bellenger E, Baranton G, Terpstra WJ. Analysis of *Leptospira* isolates from mainland Portugal and the Azores islands. *FEMS Microbiol. Lett* 2000; 185:181-187.
- Slack AT, Khairani-Bejo S, Symonds ML, Dohnt MF, Galloway RL, Steigerwalt AG, Bahaman AR. *Leptospira kmetyi* sp. nov, isolated from an environmental source in Malaysia. *Int J Syst Evol Microbiol* 2009; 59(5):1199-1203.
- Picardeau M, Brenot A, Saint-Girons I. First evidence for gene replacement in *Leptospira* spp. Inactivation of *L. biflexa* flaB results in non-motile mutants deficient in endoflagella. *Molecular Microbiology* 2001; 40:189-199.
- Bharti A, Nally J, Ricaldi J, Matthias M, Diaz M, Lovett M, Levett P, Gilman R, Willig M, Gotuzzo E, Vinetz J. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infectious Diseases* 2003; 3:757-771.
- Cullen PA, Haake DA, Adler B. Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes. *FEMS Microbiology Reviews* 2004; 28:291-318.
- Cullen PA, Cordwell SJ, Bulach DM, Haake DA, Adler B. "Global analysis of outer membrane proteins from *Leptospira interrogans* serovar Lai". *Infect. Immun* 2002; 70(5): 2311-2318.
- Verma A, Hellwage J, Artiushin S, Zipfel PF, Kraiczky P, Timoney JF, Stevenson B. "LfhA, a novel factor H-binding protein of *Leptospira interrogans*". *Infect. Immun* 2006; 74(5):2659-2666.
- Nally JE, Whitelegge JP, Bassilian S, Blanco DR, Lovett MA "Characterization of the outer membrane proteome of *Leptospira interrogans* expressed during acute lethal infection". *Infect. Immun* 2007; 75(2):766-773.
- Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis. *Medisci, Melbourne* 1999; 43:23-24.
- Adler B, de la Pen̄a Moctezuma A. *Leptospira* and Leptospirosis. *Vet Microbiol* 2009; 30:1010-1016.
- Shang ES, Exner MM, Summers TA, Martinich C, Champion CI, Hancock RE, Haake DA. The rare outer membrane protein, OmpL1, of pathogenic *Leptospira* species is a heat-modifiable porin. *Infection and Immunity* 1995; 63:3174-

3181.

26. Rodríguez E, Cullen P, Bulach D, Adler B, Haake D, De la Peña Moctezuma A. Expresión en *Escherichia coli* del gen gspD del sistema de secreción tipo II de *Leptospira borgpetersenii* serovariedad Hardjo. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 2005; 57:45-46.
27. Truccolo J, Serais O, Merien F, Perolat P. Following the course of human leptospirosis: evidence of a critical threshold for the vital prognosis using a quantitative PCR assay. *FEMS Microbiol. Lett* 2001; 204:317-321.
28. Segura ER, Ganoza CA, Campos K, Ricaldi JN, Torres S, Silva H, Céspedes MJ, Matthias MA, Swancutt MA, López R. Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with quantification of leptospiral burden. *Clin. Infect. Dis* 2005;40:343-351.
29. Llop A, Valdés-Dapena MM, Zuazo J. *Microbiología y Patologías Médicas*, Tomo I. Capítulo 37 “Microorganismos espirilares”, *Leptospiras*. Editorial Abril, Ciencias Médicas. 2001; p.405-414.
30. Mendrinou E, Goudas P, Regli A. Correlation between clinico-laboratory findings and a positive IgM ELISA test for leptospira: a retrospective study. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Ponencia presentada en la 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, France. 2006; p.1873-1889.*
31. Levett PN, Whittington CU. Evaluation of the Indirect Hemmagglutination Assay for Diagnosis of Acute Leptospirosis. *J Clin Microbiol* 1998; 36:11-14.
32. Levett PN, Branch S, Whittington C, Edwards CH, Paxton H. Two methods for rapid serological diagnosis of acute leptospirosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2001; 8:349-351.
33. Obregón A, Fernández M, Rodríguez I, Balbi Y, Martínez B, Rodríguez J. **Sistema de aglutinación con látex para el diagnóstico rápido de la leptospirosis en Cuba.** *Rev Panamericana de salud* 2004; 16(4):259-265.
34. Picardeau M, Bulach DM, Bouchier C, Zuerner RL, Zidane N, Wilson PJ, Creno S, Kuczek ES, Bommezzadri S, Davis JC, McGrath A, Johnson MJ, Boursaux-Eude C, Seemann T, Rouy Z, Coppel RL, Rood JI, Lajus AI, Davies JK, Médigue C, Adler B. Genome sequence of the saprophyte *Leptospira biflexa* provides insights into the evolution of *Leptospira* and the pathogenesis of leptospirosis. *PLoS ONE* 2008; 3:1607-1608.
35. Bulach DM, Zuerner RL, Wilson P, Seemann T, McGrath A, Cullen PA, Davis J, Johnson M, Kuczek E, Alt DP, Peterson-Burch B, Coppel RL, Rood JI, Davies JK, Adler B. Genome reduction in *Leptospira borgpetersenii* reflects limited transmission potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2006; 103:14560-14565.
36. Perni S, Andrew PW, Shama G. Estimating the maximum growth rate from microbial growth curves: definition is everything. *Food Microbiology* 2005; 22:491-495.
37. Cattaneo C, Larcher L, Togo S, Chaillou L. Aplicación de método de Monte Carlo para el estudio de crecimiento de bacterias y levaduras. *Mecánica Computacional* 2007; 25:3380-3393.

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)