



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LEPTOSPIROSIS EN PERROS Y GATOS”

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA

SHEIDA HARUMI MARTINEZ MIRANDA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR: MVZ. ESP. IGNACIO N. BARAJAS LÓPEZ

MORELIA, MICHUACÁN, JUNIO DE 2007





UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LEPTOSPIROSIS EN PERROS Y GATOS”

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA

SHEIDA HARUMI MARTINEZ MIRANDA

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

MORELIA, MICHUACÁN, JUNIO DE 2007



AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme concluir esta carrera la cual me ha dado satisfacciones tanto para mí como para mi familia.

A mis PADRES, Elvira Miranda Paulín y Raúl Martínez Ávila las personas que han sido pieza clave para mi desarrollo tanto personal como profesional, que con su amor y apoyo incondicional, han sabido impulsarme para concluir todos mis proyectos.

A mi esposo y a mi hija, quienes con paciencia y comprensión me han acompañado a lo largo de la realización de este trabajo, ya que representan el principal motivo para mi superación.

A mis hermanos, quienes siempre han creído en mí y me han acompañado, compartiendo mis logros y tropiezos.

.A familiares y amigos los cuales de alguna manera han contribuido, brindándome su apoyo para realizar esta meta, le doy gracias a la vida por la oportunidad de haberlos conocido.

A mi asesor y amigo: M.V.Esp. Ignacio Barajas López, por su paciencia, consejos y por todas las atenciones que tuvo de manera especial conmigo en el transcurso de la realización de este trabajo. Gracias.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES HISTÓRICOS.....	4
Etiología.....	6
Morfología.....	7
Epidemiología.....	10
Patogenia.....	12
RESULTADOS CLÍNICOS.....	17
Perros.....	17
Gatos.....	19
DIAGNÓSTICO.....	20
Hallazgos de laboratorio clínico.....	20
Resultados radiográficos y ultrasonograficos.....	20
HALLÁZGOS SEROLÓGICOS.....	23
Aglutinación microscópica.....	23
Análisis Inmunsorbente de unión de enzimas.....	25
Hemoaglutinación indirecta.....	26
IDENTIFICACIÓN DEL ORGANISMO.....	27
Cultivo Bacteriano.....	27
Evaluación microscópica.....	28
Inmunodetección.....	30
Detección genética.....	30
Aislamiento.....	31

RESULTADOS PATOLÓGICOS.....	32
TERAPIA.....	36
PREVENCIÓN.....	38
CONSIDERACIONES DE SALUD PÚBLICA.....	40
CONCLUSIONES.....	41
REFERENCIAS.....	43

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1.....	8
Imagen 2.....	29
Imagen 3.....	33
Imagen 4.....	34
Imagen 5.....	35



INTRODUCCIÓN

El presente trabajo hace referencia sobre Leptospirosis, la cual es una enfermedad infecto-contagiosa de distribución mundial que afecta a los animales y al hombre; es causada por la infección de varios microorganismos leptospirales que se agrupan en serovariantes inmunológicamente distintas de las cuales cuando menos 6 son de gran importancia en perros y gatos. Las infecciones pueden ser subclínicas o pueden resultar en una variedad de trastornos incluyendo fiebre, ictericia, hemoglobinuria, uremia, infertilidad, aborto y muerte (Greene y cols., 2000).

Los animales recuperados quedan en estado de portador diseminando la bacteria a través de la orina durante meses o años, representando un factor de riesgo y un importante eslabón en la cadena epidemiológica de la leptospirosis humana (Alexander, 1976; Blood and Henderson, 1986; Low, 1981; Barlough, 1988; Faine, 1994). Las leptospiras son microorganismos que permanecen en las aguas de ríos, lagos, lagunas y aguas negras, se dividen en dos especies *Leptospira biflexa*, que es saprofita y *Leptospira interrogans* que es patógena (Gillespie, 1981).

Varias serovariedades infectan a los perros y a los gatos, pero la enfermedad clínica ocurre sólo en perros (Sherding, 1996). La leptospirosis en el perro específicamente es causada por *Leptospira canicola* o *Leptospira icterohaemorrhagiae*, ambas serovariedades son consideradas a nivel internacional como las de mayor importancia, a pesar de haberse aislado otras serovariedades en diversas partes del mundo asociadas a trastornos renales y hepáticos en el perro como: *grippityphosa*, *pomona* (E.E.U.U.), *bratislava*, *ballum*, *australis*, *hardjo* y *bataviae* entre otras (Nielse, 1991; Rentko, 1992; Quinn, 1994; Wohl, 1996).



Esta enfermedad clínicamente puede presentar curso sobreagudo, agudo o crónico, es de difícil diagnóstico por sus múltiples aspectos clínicos que no involucran necesariamente la ictericia, se manifiesta principalmente en forma subclínica, por lo que son más frecuentes los hallazgos serológicos positivos que la manifestación de la enfermedad, cuando se presenta, es capaz de ocasionar la muerte por insuficiencia renal y hepática (Hartman, 1984; Chandler, 1994).

En el hombre se conoce desde hace más de un siglo, pero no es hasta los trabajos realizados en 1913 por Inada e Ida que se demuestra que la leptospirosis humana en su forma grave, conocida como síndrome de Weil ocurre como resultado de la infección por *L. icterohaemorrhagiae* transmitida por ratas; posteriormente se incrimina al perro como la especie doméstica más importante en la transmisión de la leptospirosis al hombre (Merchant, 1975; Hartman, 1984; Venkataraman, 1992; Duque, 1988).

Debido a la presencia de ictericia generalizada provocada por *L. icterohaemorrhagiae* podemos deducir que el estudio de la leptospirosis tuvo sus orígenes en la signología clínica provocada por esta serovariedad seguida en orden de importancia por la serovariedad *canicola*, así como que el conocimiento de la enfermedad en el perro ha tenido gran importancia en la investigación de esta zoonosis en el hombre (Prescott, 1993).

La epizootiología de la leptospirosis es compleja. La supervivencia en el ambiente es mala, siendo las condiciones óptimas humedad, temperatura moderada y suelo ligeramente alcalino. Estas condiciones ocurren habitualmente en otoño y en menor grado en primavera. Siendo los países tropicales y subtropicales los más afectados (Thiermann, 1984; Prescott, 1993).



El presente trabajo tiene como finalidad reunir y revisar información buscando avances o actualizaciones sobre el diagnóstico oportuno y el tratamiento adecuado para la presentación de leptospirosis en perros y gatos, los cuales la transmiten al hombre, por lo que pretende constituirse como un medio de consulta que pueda servir para los estudiantes y docentes interesados en el tema.



ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE LEPTOSPIROSIS

Se tienen antecedentes desde el año de 1800 donde Larrea, observó una enfermedad del hombre caracterizada por fiebre, ictericia y hemorragias petequiales. En 1850, Hofer describe una enfermedad canina similar en el perro. En 1886, el Dr. Adolf Weil en Alemania describe los hallazgos clínicos observados en cuatro pacientes de una enfermedad febril con trastornos renales e inflamación hepático esplénica con ictericia generalizada que consideró como la misma enfermedad (Everard, 1996; Levet, 2001).

En 1887, Goldschmid utiliza el término de enfermedad de Weil asociándola con la leptospirosis. En 1898, se propagó epizooticamente en perros en Alemania, en donde se le llamó enfermedad de Stuttgart (Van der Hoeden, 1958). En 1907, Stimson describe la morfología de leptospira en cortes de riñón de un paciente que creyó había muerto de fiebre amarilla en Nuevo Orleans, creyendo así, haber descubierto el agente etiológico de la enfermedad y lo denominó *Spirochaeta interrogans* (Levet, 2001). En 1916, Inada y cols., determinaron el origen de la enfermedad de Weil, un organismo que denominaron *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, confundiendo esta enfermedad con la fiebre amarilla (Everard, 1996).

En 1917, Courmont y Durand vieron que los cachorros podían ser infectados con las espiroquetas que producían la ictericia típica en humanos (Merchant, 1975). Lukes, en 1924; y Krivacek, en el mismo año, observaron en los tejidos de perros muertos de la enfermedad de Stuttgart microorganismos idénticos morfológicamente a *L. icterohaemorrhagiae*.



En 1925 Okell, Dalling y Pugh en Inglaterra, reportan 10 casos clínicos con ictericia y trastornos hemorrágicos graves típicos de la infección en perros de cacería y de los cuales se logró realizar el aislamiento bacteriano, tres de estos aislamientos correspondieron a *L. icterohaemorrhagiae* logrando reproducir la enfermedad clásica caracterizada por ictericia en cobayos, de los otros aislamientos los cuadros clínicos fueron considerados como atípicos al no poder reproducir la ictericia, probablemente debido a que se trataba de *L. canicola* (Everard, 1996).

En 1928, el Dr. Hideyo Noguchi diferencia la etiología viral de la fiebre amarilla de la bacteriana del síndrome de Weil, denominando a la espiroqueta *Spirochaeta icteroides*. En el mismo año, Krumblein y Freiling sospechan que la enfermedad de Weil puede ocurrir en perros y lo refieren como posible fuente de infección al relacionar la enfermedad en dos pacientes humanos que habían estado en contacto con un perro icterico, surgiendo así el primer reporte que resalta la importancia que tiene la leptospirosis canina en salud pública (Van der Hoeden, 1958; Michna, 1970; Amatredjo y Campbell 1975).

En 1933 Klarenbeek y Schüfner en Holanda realizan estudios de una cepa canina que morfológicamente era igual a *L. icterohaemorrhagiae* pero serológicamente diferente y poco virulenta para cobayos; que no pudo ser aislada de ratas, esta cepa posteriormente se conoció como *L. canicola*, describen la sintomatología y patología de la leptospirosis canina causada por la nueva especie descubierta, a la cual fundamentaron como el agente etiológico de la enfermedad de Stuttgart (EEUU). En 1937, Meyers y cols., aislan esta serovariedad de cánidos en San Francisco, posteriormente descrita a nivel internacional (Mills, 1948; Ministerio de Guerra, 1965; Merchant, 1975; Myers, 1985; Faine, 1994).



En México, los primeros casos de leptospirosis fueron reportados por Noguchi y Klieger en 1920, en estudios efectuados en Yucatán. En 1921, en la ciudad de Veracruz, Pérez Grovas aisló leptospiras en pacientes considerados como casos de fiebre amarilla. En 1931, en Mazatlán, Gastélum refirió la existencia de leptospirosis en los litorales mexicanos. Seis años después, Bustamante describió tres casos de enfermedad de Weil, uno de ellos confirmado serológicamente por Bauer (Colin, 2000).

Etiología

La leptospirosis es una enfermedad causada por una variedad de espiroquetas pequeñas, móviles, aerobias, que pertenecen al género *Leptospira interrogans sensu lato*, morfológicamente similares, pero antigénica y genéticamente distintas, de las cuales por lo menos 6 tienen una gran importancia en perros y gatos. La taxonomía de las leptospiras ha atravesado un período de cambio, hasta hace poco, se reconocía un solo género leptospira dentro de la familia Leptospiraceae (Smith y Jones, 1992; Straw y cols, 1999; Greene y cols., 2006).

Dentro del género se reconocían dos agrupaciones: las encontradas en especies animales (las cepas parasitarias) y las encontradas en agua (las cepas saprofitas). Estas dos agrupaciones, que se denominaban complejos *interrogans* y *biflexa*, respectivamente, pueden ser diferenciadas por sus requisitos de crecimiento y reacciones bioquímicas (Straw y cols., 1999; Levet, 2001; Brooks y cols., 2002).



Desde entonces, el género se ha clasificado en por lo menos 16 nuevas especies en base de los relatos genéticos. Los serovares patógenos y no patógenos ocurren dentro de la misma especie en esta nueva clasificación genética. Sobre 200 serovares de Leptospirosis han descrito y se han clasificado más lejos a *Interrogans* en serogrupos antigenicamente relacionados. Los serogrupos no tienen actualmente ninguna base taxonómica; sin embargo, han sido útiles para seguir y entender el curso epidemiológico de la enfermedad (Faine, 1991; Levet, 2001).

Los serovares se conservan en la naturaleza por múltiples huéspedes reservorios animales silvestres y domésticos con infección subclínica que son fuente posible de infección y enfermedad para el hombre y otros huéspedes animales accidentales (Blood and Henderson, 1986; Smith y Jones, 1992). Cuando estos últimos se infectan, presentan una enfermedad clínica más grave y eliminan microorganismos durante periodos más cortos. Estudios epidemiológicos demostraron que las preferencias del huésped pueden cambiar con el tiempo y la región geográfica del mundo (Greene, 2000).

Morfología

Las leptospiras son bacterias filamentosas (0.1 a 0.2 μm de ancho x 6 a 12 μm de largo) delgadas, flexibles, constituidas por espirales finas con extremos en forma de gancho (Straw y cols., 1999; Brooks y cols., 2002; Greene y cols., 2006), que le da una forma de “S” o “C” que le sirve como hélice de propulsión. Giran alrededor de su eje mayor. Poseen 2 flagelos periplásmicos conocidos como filamentos y axiales. Están compuestas por un cilindro protoplásmico enredado en un filamento axial central recto. Lipopolisacárido y mucopéptido antigénico forman la envoltura externa. Las leptospiras se desplazan con movimientos de estiramiento y flexión en tanto giran alrededor de su eje largo (Ellis, 1994; Faine, 1994; Institut Pasteur, 2000).

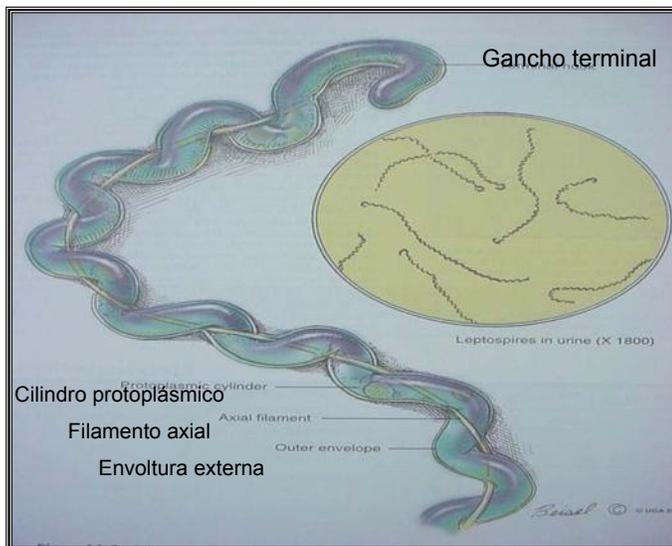


Imagen 1.- Ultraestructura de una leptospira patógena (Greene, 2006).

Los serovares que se relacionan con más frecuencia con la leptospirosis canina han sido *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa*, *pomona*, y *bratislava*, que pertenecen a los serogrupos *canicola*, *icterohemorrhagiae*, *grippotyphosa*, *pomona* y *australis*, respectivamente. Las vacunas bivalentes caninas actuales de leptospira, que son específicas de serovar, protegen contra la enfermedad clínica que se vincula con los serovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae* (Ross y Rentko, 2001).

En Estados Unidos la incidencia de la enfermedad atribuida a estos serovares disminuyó, en tanto que se incrementó la prueba serológica de infecciones más comunes con los serovares *grippotyphosa*, *pomona* y *bratislava*. La prominencia de estos últimos serovares se debe tanto a la vacunación como a la mayor exposición de huéspedes no naturales, como los perros, a huéspedes reservorios silvestres en ambientes rurales o suburbanos (Merck, 2000).



Las teorías sugieren que desde la introducción de las vacunas que contienen los serovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae* desde hace 30 años, ha habido un cambio epidemiológico evidente en la leptospirosis canina ocurrida en los perros que se vacunan rutinariamente, según con los informes se disminuyen la incidencia de la enfermedad causados por los serogrupos *canicola* e *icterohaemorrhagiae* y aumentan los informes de la enfermedad causados por otros serogrupos, en lo que puede intervenir varios factores, incluyendo el uso de la vacunación y de la mayor exposición de huéspedes artificiales tales como huéspedes del depósito de la fauna de los perros en ambientes rurales o suburbanos. El tiempo que persiste la eliminación y la posible diseminación de estos serovares a otros perros o personas no se conocen con certeza (Greene y cols., 2006).

En encuestas serológicas la prevalencia de serorreactividad es mayor que la de enfermedad clínica, lo que sugiere que ocurren infecciones subclínicas. En otras áreas la prevalencia de serorreactividad es baja. A pesar de la presencia de títulos de anticuerpo leptospiral en la población felina, los informes clínicos de leptospirosis en gatos son raros. Aunque estos animales se seroconvierten después de exponerse a leptospirosis, al parecer son menos susceptibles que los perros tanto a infecciones espontáneas como experimentales (Greene y cols., 2006).



EPIDEMIOLOGÍA

Los organismos del género *Leptospira* son agentes de gran variedad de procesos infecciosos en el hombre y en los animales; por ejemplo: *Leptospira icterohemorrhagiae* se alberga en las ratas salvajes y puede causar la enfermedad de Weil en el hombre o la leptospirosis (enfermedad de Stuttgart) en los perros; *L. canicola* produce infecciones aguda o crónicas en perros y la fiebre canicola en el hombre (Smith y Jones, 1985).

La infección con *Leptospira canicola* en el perro se considera como la más común, siendo la transmisión a través de la orina de perros infectados. Por otro lado, la leptospirosis canina debido al serovar *icterohemorrhagiae* se presenta en un porcentaje más pequeño (Chandler, 1984; Smith y Jones, 1992).

La leptospirosis es esencialmente una infección de animales; la infección en humanos es accidental, después de tener contacto con agua y otros materiales contaminados con excretas de los animales huésped (Brooks y cols., 2002).

Las leptospiras son transmitidas entre los animales por contacto directo o indirecto. La transmisión directa ocurre a través del contacto con orina infectada, transferencia venérea y placentaria, heridas por mordedura, o ingestión de tejidos infectados. El amontonamiento de animales, como puede ocurrir en perreras, aumenta la infección directa. Los perros que se recuperan excretan organismos en orina intermitentemente por meses después de la infección. La cantidad de leptospiras eliminada por la micción es mayor durante las primeras semanas post-infección y puede durar hasta 4 años, siendo así posible la transmisión de animal a animal y de animal a humano (Ross y Rentko, 1994; Greene y cols., 2006).



Una vez fuera del huésped, las leptospiras no se replican. La transmisión indirecta ocurre con la exposición de animales susceptibles a las fuentes de agua contaminadas, al suelo, al alimento, o a la cama. La transmisión indirecta de leptospiras puede aumentar cuando los factores ambientales que favorecen la supervivencia de leptospiras son óptimos (Bombinbre y López, 1998; Ginebra, 2001).

La espiroqueta puede seguir siendo viable por varios meses en el suelo húmedo que se ha saturado con orina (Michna, 1970). La supervivencia óptima en suelo es favorecida por un pH neutro o ligeramente alcalino. La espiroqueta sobrevive solamente de manera temporal en la orina ácida no diluida (pH 5.0 a 5.5), mientras que las condiciones opuestas proporcionan un hábitat más adecuada. La temperatura ambiental entre 0°C y 25°C favorecen la supervivencia y la replicación de leptospiras, mientras que el congelamiento disminuye la supervivencia (Timoney y cols., 1988; Prescott, 1993; Ross y Rentko, 1994; Greene y cols., 2006).

En suelo con todas estas condiciones, puede sobrevivir hasta 183 días y en suelo seco 30 minutos (Hellstrom y Marshall, 1978; Blood, 1992). La temperatura y los requisitos del pH para la supervivencia leptospiral máxima pueden explicar la evidente incidencia estacional creciente de leptospirosis canino a finales del verano y principio del otoño. Debido al requerimiento de agua, los brotes han ocurrido asociados con la alta precipitación o de una humedad más alta, especialmente en regiones tropicales y áreas pantanosas de climas templados (Covaleda y cols., 1953; Prescott, 1993; Greene y cols., 2006).



Debido a que el microorganismo sobrevive en aguas superficiales durante largos períodos de tiempo, la enfermedad es a menudo transmitida por el agua (Van der Hoeden, 1958; Merck, 2000). Aunque existe evidencia de que las espiroquetas sobreviven en insectos y otros anfitriones invertebrados, la significación de esto se desconoce con respecto a la transmisión de la enfermedad (Bombinbre y López, 1998; Ginebra, 2001).

El tiempo de supervivencia de las leptospiras en los tejidos es dependiente del pH postmortem y el efecto antagónico que supone la contaminación con otras bacterias. Lo que avala la capacidad infectante de los tejidos del animal principalmente en los mataderos y al parto (van der Hoeden, 1958; Michna, 1970; Timoney y cols., 1988). Ellis (1994) demostró que las descargas pospartos pueden mantener sus capacidades infectantes pasados 8 días de éste, mientras Prescott, (1993), Guijarro y Calvo (1999) diagnosticaron la posibilidad de infección por contacto con las descargas uterinas posparto y post-abortos.

PATOGENIA

Dentro de la patogenia de la leptospirosis esta el poder ocasionar la muerte por insuficiencia renal y hepática en el perro, se relacionan comúnmente a *L. canicola* como causante de daño renal, con consecuente azotemia y uremia final y a *L. icterohaemorrhagiae* con lesiones hepáticas, ictericia y hemorragias. Ambas serovariedades están íntimamente relacionadas, puesto que la serovariedad *L. canicola* puede relacionarse con ictericia y la serovariedad *L. icterohaemorrhagiae* con lesiones renales (Hartman, 1984; Jones, 1993; Chandler, 1994).



La infección normalmente es adquirida por contacto de la piel o de las membranas mucosas con orina infectada y en menor grado, por ingestión de alimentos o agua contaminados por orina. Las infecciones se establecen fácilmente por las rutas de la mucosa conjuntival o vaginal y a través de piel con laceraciones o reblandecidas por la humedad (Blood, 1992; Ross y Rentko, 1994; Sherding, 1996; Nelson y Couto, 2000; Levet, 2001).

El período desde la incubación hasta que aparecen los signos clínicos es de aproximadamente 7 días pero puede variar según la virulencia del microorganismo y la susceptibilidad del huésped (Hartman, 1984; Jones, 1993; Nelson y Couto, 2000).

Inicialmente, las leptospiras penetran las membranas mucosas o piel intacta o raspada. Luego, posterior a la penetración, la multiplicación se da rápidamente después de incorporarse al espacio vascular de la sangre, se separan y tienden a replicarse en muchos órganos parenquimatosos, incluyendo el riñón, el hígado, el bazo, y en ocasiones el sistema nervioso central, los ojos, zona genital y útero donde la actividad de anticuerpos es mínima (Faine; 1994; Pumarola, 1994; Castro y cols., 2001); durante los 4 a 11 días próximos, los organismos rápidamente invaden el torrente sanguíneo, creando una leptospiremia (Blood y Henderson, 1986; Ellis, 1994).

La leptospiremia temprana se asocia con los signos clínicos de fiebre, anemia transitoria debida a la hemólisis, leucocitosis, hemoglobinuria y albuminuria. En perros susceptibles, las leptospiras usualmente establecen una septicemia y se esparcen sistemáticamente a los órganos internos, incluyendo el hígado y riñones, o a la placenta y feto. El desarrollo extensivo de lesiones específicas depende del serovar particular y su virulencia, así como también del estado inmune del perro. Si un perro ha sido vacunado, probablemente aun tenga anticuerpos en su suero, o



puede mostrar una respuesta anamnésica ante la ausencia de anticuerpos (Greene y cols., 2006).

Los signos de la enfermedad aguda generalmente coinciden con la fase de leptospiremia (Ellis, 1994; Heath y Jonson, 1994), donde estos pueden atribuirse a la existencia de determinados factores de patogenicidad bacteriana, como la hemolisina y las lipasas (Timoney y cols., 1988; Health y Johnson, 1994) siendo la primera causa de la anemia (Timoney y cols., 1988; Prescott, 1993).

Estos factores son más frecuentes en determinados serovares como: pomona o grippotyphosa (Timoney y cols., 1988). Más tarde, se le suma la acción de los anticuerpos situados en la superficie eritrocitaria que sensibilizan al eritrocito, causando su rotura -anemia- (Timoney y cols., 1988; Prescott, 1993). Durante esta fase (leptospiremia) ocurre una reacción inflamatoria en la mama (mastitis). La hemólisis producida por la hemolisina y por el daño hepatocelular se le atribuye a las causas isquémicas y tóxicas -ictericia- (Prescott, 1993).

Los incrementos de los anticuerpos séricos eliminan después las espiroquetas de la mayor parte de los órganos, pero es posible que persistan en los riñones y se excreten por la orina durante semanas a meses (Ellis, 1994; Brooks, 2002). El grado de daño a los órganos internos varía según la virulencia del microorganismo y la susceptibilidad del huésped. Algunos serovares tienen la propensión a causar afección aguda hemorrágica, hepática o con mayor frecuencia renal. Muchos animales desarrollan más de uno de estas manifestaciones clínicas, y la expresión de la enfermedad puede variar entre brotes y áreas geográficas con un serovar determinado (Greene y cols., 2006).



El edema y la vasculitis del tejido pueden ocurrir en infecciones rápidas y severas como resultado de lesión endotelial aguda y manifestaciones hemorrágicas (Smith y Jones, 1992). Los lipopolisacáridos (LPS) de leptospira estimulan adherencia del neutrófilos y la activación plaquetaria, que puede contribuir a las anomalías inflamatorias y coagulatorias que ocurren (Greene y cols., 2006).

Generalmente, las infecciones de perros con *canicola*, *bratislava*, y *grippityphosa* de los serovares se han asociado a la disfunción predominante renal y a la implicación mínima del hígado, mientras que los *icterohaemorrhagiae* y la pomona de los serovares producen una enfermedad más hepática. Perros más jóvenes (menor a 6 meses) parecen desarrollar más muestras de la disfunción hepática en cualquier brote de la enfermedad (Greene y cols., 2006).

La colonización renal ocurre en la mayoría de los animales infectados porque el microorganismo se replica y persiste en el epitelio del túbulo renal y puede causar daño agudo e insuficiencia renal (en especial *L. canicola*), incluso en presencia de anticuerpos neutralizantes séricos. El organismo penetra los tubos capilares renales y entra en el intersticio; y por 2 semanas después de la infección, las leptospiras se pueden ver dentro de las células tubulares próximas y del lumen tubular, que coincide con el inicio de la eliminación. La colonización renal y la eliminación por la orina son prolongados, aun por meses después de la recuperación (Rodríguez-Torres, 1994; Sherding, 1996; Greene y cols., 2006).



El deterioro agudo de la disminución de la función renal que puede resultar de la filtración glomerular disminuida causada por la inflamación del riñón que deteriora la perfusión renal de la sangre. Además, varios factores leptospirales tienen un efecto tóxico en las células situadas dentro del parénquima renal. El daño renal significativo resulta probablemente de los LPS leptospirales y de otros componentes externos de la membrana. Los LPS leptospirales son un activador potente de macrófagos, y estimulan la secreción del interleucina 1 (IL-1) e interferón por estas células, además de aumentar su capacidad de eliminación (Greene y cols., 2006).

La capacidad invasora de leptospiras se puede relacionar con su patogenicidad y a la producción de enzimas o a factores mecánicos, como la motilidad por excavación y a su tropismo orgánico. Ambas causas se han sugerido como mecanismos por los que éstas alcanzan sitios normalmente protegidos del organismo, como el líquido cefalorraquídeo (LCR) y el ojo (Pumarola, 1994; Rodríguez y Torres, 1994; Ginebra, 2001).

La recuperación eventual depende del anticuerpo específico creciente en la circulación en un plazo de 7 a 8 días después de la infección. Los pacientes con el tejido renal funcional adecuado se recuperarán. Los cambios patológicos persistirán en el tejido renal seriamente afectado del riñón a pesar de la mejora clínica. En huéspedes reservorios que sobreviven, la colonización renal será prolongada, con eliminación bacteriana en la orina por meses a años. Aunque se sabe que los perros son portadores renales persistentes del serovar *canicola*, la duración de la eliminación de otros serovares no se ha determinado (Rodríguez y Torres, 1994; Greene y cols., 2006).



El hígado es el segundo órgano parenquimatoso mas dañado durante leptospiremia (sobre todo *L. icterohaemorrhagiae*). La disfunción hepática profunda puede ocurrir sin cambios histológicos importantes debido al daño subcelular producido por las toxinas leptospirales. El grado de ictericia en la leptospirosis canina y humana corresponde generalmente a la severidad de la necrosis hepática. En contraste, la ictericia, la hemoglobinemia, y la hemoglobinuria que se presenta en el paciente resultan de una toxina hemolítica específica de serovar que el serovar pomona produce (Ross y Rentko, 1994; Greene y cols., 2006).

La lesión aguda del pulmón ocurre como resultado de los efectos de las toxinas del organismo en tejido pulmonar. La exudación dentro del pulmón puede resultar de vasculitis, y la debilitación pulmonar severa o aguda es a menudo reversible en el pronóstico para la recuperación. Otros sistemas del cuerpo se dañan durante la fase aguda de la infección. Se produce una meningitis benigna cuando las leptospiras invaden el sistema nervioso. En ocasiones hay uveitis en la leptospirosis natural y experimental (Greene y cols., 2006).

RESULTADOS CLÍNICOS

Perros

Los signos clínicos en leptospirosis canina dependen de edad y de la inmunidad del huésped, de los factores ambientales que afectan los organismos, y de la virulencia de la infección del serovar, pero pueden presentarse en pacientes de cualquier edad, raza o sexo si no hay inmunidad previa. La mayor parte de los perros cursan infección subclínica (Ross y Rentko, 1994; Sherding, 1996; Nelson y Couto, 2000).



Las infecciones leptospirales muy agudas pueden manifestarse por leptospiremia masiva y muerte con pocos signos premonitorios. En infecciones agudas, los primeros signos clínicos son pirexia (39.5°C a 40°C), e hipersensibilidad muscular generalizada. Enseguida ocurren vómitos, deshidratación rápida y colapso vascular periférico (Chamizo, 1998). Se observa taquipnea, pulso rápido e irregular, y riego capilar deficiente (Ross y Rentko, 1994; Low, 1981). Los defectos de la coagulación y la lesión vascular se manifiestan con hematemesis, hematoquezia, melena, epistaxis y petequias diseminadas (Smith y Jones, 1992). Los perros con afección terminal se tornan deprimidos e hipotérmicos y no hay tiempo para que se presenten insuficiencia renal y hepática (Greene y cols, 2006).

Las infecciones subagudas se caracterizan por fiebre, anorexia, vómitos, deshidratación e incremento de la sed. La renuencia de los pacientes a moverse y la hiperestesia paraspinal pueden deberse a inflamación muscular, meníngea o renal (Ross y Rentko, 1994). Las mucosas se ven congestionadas y hay hemorragias petequiales y equimóticas diseminadas. La conjuntivitis, la rinitis y la amigdalitis suelen acompañarse de tos y disnea. El deterioro progresivo de la función renal se manifiesta por oliguria o anuria. En algunos perros que sobreviven a infecciones subagudas es posible que la función renal se normalice en el transcurso de dos a tres semanas o tal vez se presente insuficiencia renal poliúrica compensada crónica (Blood y Henderson 1986; Sherding, 1996).

La ictericia es más común en los que padecen la forma aguda de la enfermedad. La colestasis intrahepática por inflamación del hígado puede ser tan completa que el color de las heces cambia de pardo a gris. Los perros con hepatitis crónica activa o fibrosis hepática crónica como secuelas de leptospirosis pueden mostrar por último signos francos de insuficiencia hepática, incluso inapetencia crónica, pérdida de peso, ascitis, ictericia o hepatoencefalopatía (Greene y cols., 2006).



Los perros con infecciones agudas sufren con cierta frecuencia intususcepciones intestinales que quizá se relacionen con inflamación gastrointestinal (GI). En los que presentan vómitos persistentes y diarrea, debe palparse el abdomen con cuidado. En estos casos las heces son escasas y hay hematoquezia o melena obvias (Greene y cols., 2006).

Las manifestaciones pulmonares incluyen respiración difícil y tos. Una gran parte de las infecciones leptospirales en perros corresponde a crónicas o subclínicas. Los pacientes con fiebre de origen desconocido, afección renal hepática inexplicable o uveítis anterior deben someterse a valoración serológica y microbiológica para leptospirosis, lo mismo que los animales sanos de perreras, casas con múltiples perros, vecindarios u otros ambientes en los que la infección se comprobó en otros miembros (Greene y cols., 2006).

Gatos

Se han presentado informes ocasionales de leptospirosis en gatos, aunque las pruebas no han sido convincentes. La leptospirosis felina no tiene signos clínicos aparentes o éstos suelen ser leves a pesar de la presencia de leptospiremia y leptospiruria, y de pruebas histológicas de inflamación renal y hepática. La mayoría de las investigaciones serológicas han proporcionado resultados negativos. En consecuencia, la leptospirosis parece tener escasa importancia clínica en los gatos, si es que tiene alguna (Chandler y cols., 1986).



DIAGNÓSTICO

La leptospirosis es una zoonosis raramente diagnosticada, probablemente por falta de conocimiento de la enfermedad o ausencia de métodos de diagnósticos de la enfermedad por leptospira (Nájera y cols., 2005). Puede considerarse leptospirosis en todos los perros que presenten insuficiencia renal aguda, con pruebas concurrentes de enfermedad hepática o sin ella. Con el fin de facilitar el diagnóstico es necesario obtener muestras apropiadas de suero, orina o tejidos para pruebas diagnósticas, o una combinación de los tres, tan pronto sea posible en el curso de la enfermedad (Ross y Rentko, 2001).

Hallazgos de laboratorio clínico

La leptospirosis es una enfermedad de urgencia clínica en la cual es necesario realizar análisis complementarios a los estudios serológicos para poder diferenciarla de otros trastornos graves que pudieran provocar ictericia o una signología similar (neoplasias, traumatismos, trastornos bacterianos, virales o procesos autoinmunes). Los resultados de laboratorio podrán variar dependiendo de la serovariedad involucrada y el curso de la enfermedad (Greene y cols., 2006).



Los datos hematológicos en casos característicos de leptospirosis canina incluyen leucocitosis y trombocitopenia (Coffin, 1981; Merck, 2000). Las cuentas de leucocitos fluctúan según la etapa y gravedad de la infección. La leucopenia, que es común en la fase leptospirémica, evoluciona a leucocitosis con desviación a la izquierda (Nelson y Couto, 2000). En las etapas tardías las cuentas de leucocitos suelen variar de 16,500 a 45,000 células/ μ l. una gran parte de perros con leptospirosis manifiesta insuficiencia renal en el examen inicial (Coffin, 1981; Greene y cols., 2006).

La urea y la creatinina séricas están elevadas en perros con insuficiencia renal de gravedad variable (Coffin, 1981). Las alteraciones electrolíticas suelen ser paralelas al grado de disfunción renal y gastrointestinal. En la mayor parte de los casos se observa hiponatremia, hipocloremia, hipopotasemia e hiperfosfatemia, en tanto que los que presentan insuficiencia renal terminal padecen hiperpotasemia e hiperglucemia (Merck, 2000). La hipocalcemia leve se relaciona con hipoalbuminemia y disminución de la concentración de la fracción de calcio unida a proteínas. En pacientes con afección grave están reducidos el pH sanguíneo y la concentración sérica de bicarbonato, lo que indica acidosis metabólica (Greene y cols., 2006).

En ocasiones hay hipoglucemia con insuficiencia hepática obvia pero suele ser menos notable que la insuficiencia renal o acompañarse de esta última. El daño hepático se demuestra por un incremento de las actividades séricas de aminotransferasa de alanina (ALT), aminotransferasa de aspartato, deshidrogenasa de lactato y fosfatasa alcalina (ALP), y la concentración de bilirrubina (Sherding, 1996).



Con frecuencia el aumento de la actividad sérica de ALP es proporcionalmente mayor que el de ALT. Antes de la hiperbilirrubinemia suele haber bilirrubinuria notable. La bilirrubina sérica llega al máximo a los seis a ocho días del inicio de la enfermedad. En la leptospirosis aguda puede encontrarse un incremento de la retención de sulfobromoftaleína (mayor a 5%) antes del inicio de la ictericia y asimismo en perros que después presentan hepatitis crónica activa. El aumento de las actividades séricas de amilasa y lipasa puede deberse a su liberación de los tejidos hepático y de intestino delgado inflamados y a una disminución de la excreción renal (Greene y cols., 2006).

Los perros con intususcepción tienen las concentraciones séricas más altas de amilasa. La actividad sérica de cinasa de creatina aumenta cuando ocurre inflamación de músculos esqueléticos. El análisis de orina puede caracterizarse por glucosuria, proteinuria tubular, bilirrubinuria y mayor cantidad de cilindros granulosos, leucocitos y eritrocitos en el sedimento, debido a una nefritis intersticial aguda que conduce a una falla renal grave. Las leptospiras no se observan sin tinción especial o microscopia (Barlough, 1988; Quinn, 1994; Wohl, 1996; Bimbaum, 1988).

Otros parámetros de la coagulación son normales en una gran parte de los pacientes, lo que sugiere mecanismos hemostáticos compensatorios. Los perros con afección grave suelen tener lesión del endotelio vascular con hipofibrinogenemia y trombocitopenia que resultan de coagulación intravascular diseminada (CID). El análisis del LCR permite detectar un incremento de la concentración de proteínas con predominancia de neutrófilos cuando ocurre meningitis (Greene y cols., 2006).



Resultados radiográficos y ultrasonograficos

La renomegalia, hepatomegalia e infiltrados pulmonares intersticiales o alveolares son anomalías radiológicas comunes (Nelson y Couto, 2000). Aunque el toser y la disnea no son características constantes de leptospirosis canina, son asociados probablemente a hemorragia pulmonar por daño endotelial y de la vasculitis, es el hallazgo en las radiografías torácicas de algunos perros. Las lesiones son detectadas más constantemente en el campo caudodorsal del pulmón. Un aclaramiento completo de las lesiones ocurre en perros recuperados (Greene y cols., 2006).

En el orden en que disminuye el predominio, las anomalías ultrasonograficas del sistema urinario han incluido renomegalia, pielectasia y una banda medular de ecogenicidad creciente. Las bandas ecogénicas medulares no son específicas para la leptospirosis en perros y no corresponden a una región de necrosis renal y de la hemorragia vistas histológicamente (Greene y cols., 2006).

HALLAZGOS SEROLÓGICOS

Aglutinación Microscópica

Como la prueba de aglutinación microscópica (PAM), aún es el medio serológico estándar para el diagnóstico de leptospirosis (Timoney, 1988; Ellis, 1994; Ross y Rentko, 1994; Levett, 2001) y valora la presencia de anticuerpos séricos a antígenos leptospirales, por requerir microscopia de campo oscuro, es necesario



enviar las muestras a laboratorios especializados (Coffin, 1981; Ross y Rentko, 2001; Greene y cols., 2006).

Es poco específica de serovar, de manera que deben utilizarse muchos antígenos para identificar el serovar que causa la afección. Los sueros suelen seleccionarse a una dilución inicial de 1:100 se hacen más diluciones dobles contra antígenos de reacción positiva a fin de determinar el anticuerpo que se encuentra en la concentración más alta (Ellis, 1996; Greene y cols., 2006). El informe al veterinario indicará los diversos serovares estudiados y los títulos respectivos. Los perros con títulos positivos por lo general tienen sueros que reaccionan en forma cruzada a diversos serovares; se considera que el de título más alto es el que ocasiona la infección y los más bajos representan reactividad cruzada de anticuerpo entre los serovares (Ross y Rentko, 2001; Greene y cols., 2006).

Clásicamente es necesario demostrar un aumento de cuatro veces el título de PAM para la confirmación serológica de una enfermedad aguda, que quizá cura de manera espontánea, como la leptospirosis. Muchos perros con infección natural tienen títulos de 800 o mayores, que en una muestra aislada suponen leptospirosis cuando se observa una enfermedad clínica compatible sin vacunaciones recientes. Ya que los títulos pueden ser negativos durante la primera semana hasta 10 días de la enfermedad aguda, debe obtenerse una segunda muestra sérica, y en ocasiones tres, con intervalos de dos a cuatro semanas (Ross y Rentko, 2001).



Otros perros afectados muestran títulos altos (≥ 1600 a 12800) cuando se hospitalizan, sin que se observen incrementos adicionales. La magnitud del aumento del título no siempre es paralela a la gravedad de la infección clínica. La infección a la vacunación previa suele acompañarse de un título menor de 300 , aunque en ocasiones se observan títulos altos. Si se desarrollan títulos más altos en la vacunación (≥ 800) a los serovares *canícola* e *icterohaemorrhagiae*, por lo general no persisten más de tres meses (Greene y cols., 2006).

Los perros infectados con el serovar *canicola*, al cual se han adaptado bien, pueden estar infectados en forma activa y excretar microorganismos con títulos menores de 100 . La terapéutica antimicrobiana muy temprana en el curso de la enfermedad puede disminuir la magnitud del aumento del título. Con frecuencia los títulos de anticuerpos se reducen cuatro veces durante semanas a meses después del tratamiento antimicrobiano satisfactorio de infecciones establecidas. Los anticuerpos a los antígenos leptospirales utilizados en la prueba de PAM pueden indicar cierta exposición a una infección con espiroquetas no leptospirales (Greene y cols., 2006).

Análisis inmunosorbente de unión de enzimas

Se utiliza el análisis inmunosorbente de unión de enzimas (ELISA) en perros para detectar anticuerpo IgG o IgM a leptospiras. Al parecer el título de PAM es paralelo al de IgM más que el de IgG, aunque los dos tipos de anticuerpos pueden causar aglutinación. La prueba ELISA de IgM aumenta en el transcurso de una semana de la infección inicial y el título máximo se desarrolla en cerca de 14 días, con una disminución subsecuente más tarde (Greene y cols., 2006).



Al parecer ELISA de IgM es más sensible para detectar anticuerpo y más específica de serovar que la prueba de PAM (Winslow y cols., 1997; Guijarro y Calvo, 1999) para determinar la infección muy temprana en perros; los que murieron en el transcurso de la primera semana de la enfermedad tuvieron títulos de IgM altos, en tanto que no hubo tiempo para que el título de PAM aumentara (Greene y cols., 2006).

En perros se observan títulos mayores de IgG en la prueba ELISA dos a tres semanas después de la infección, con un título máximo en alrededor de un mes. Los títulos de IgG en ELISA son más paralelos a la protección contra la infección que los de PAM. Mediante el uso combinado de las mediciones de IgG e IgM, la prueba de ELISA es más adecuada para diferenciar entre infección natural e inmunidad inducida por la vacuna que la prueba de PAM. Las pruebas ELISA en perros que recibieron más de una vacunación muestran un título alto de IgG con título bajo, o negativo, de IgM, incluso en el transcurso de las primeras semanas después de la vacunación. ELISA no está disponible con amplitud para aplicación clínica (Greene y cols., 2006).

Hemoaglutinación Indirecta

Esta técnica detecta principalmente los anticuerpos IgM, y por eso es excelente para descubrir brotes recientes, así como para distinguir entre animales infectados y vacunados (Faine, 1982; Ellis, 1994; Tizard, 1998). Una prueba de aglutinación microscópica, desarrollada para el diagnóstico de leptospirosis humana, detecta los anticuerpos tan temprano en el curso de la infección como lo hace ELISA de IgM (Nelson y Couto, 2000).



La ventaja de este análisis es que puede ser utilizada como prueba en campo porque puede ser hecha sin microscopio. La aglutinación de la diapositiva y los análisis indirectos de la hemoaglutinación, disponibles como kits comerciales, también se han utilizado para detectar infecciones recientes o activas en la gente y perros (Ross y Rentko, 1994; Greene y cols., 2006).

IDENTIFICACIÓN DEL ORGANISMO

Cultivo Bacteriano

Para recuperar leptospiras son esenciales el tiempo y una técnica apropiados a causa de sus requerimientos de crecimiento caprichosos y susceptibilidad a condiciones ambientales adversos, y aunque complicado, es valioso como prueba directa (Coffin, 1981). Las muestras deben tomarse antes de iniciar la antibioticoterapia (Straw y cols, 1999; Greene y cols., 2006).

Los perros son leptospirémicos durante la primera semana de la infección, pero la cifra de microorganismos circulantes disminuye después conforme los títulos séricos de anticuerpo aumentan. La presencia de leptospiras en LCR es paralela a la de la sangre. Tiempo después la orina es el líquido ideal para cultivo. Sin embargo, se requieren múltiples muestras a causa de la eliminación intermitente de los microorganismos (Greene y cols., 2006).



Las leptospiras suelen perder su virulencia cuando se cultivan en medios artificiales. El cultivo de espiroquetas de tejidos o líquidos corporales no es diagnóstico por sí mismo de la enfermedad clínica porque pueden recuperarse leptospiras de ambos en perros sanos (Greene y cols., 2006).

Evaluación Microscópica

La examinación de campo oscuro en microscopio (Darkfield) es necesaria para la identificación rápida de leptospiras viables porque no pueden ser manchados por métodos simples con los colorantes azoicos (Tvedten, 1999). Las fibrillas o las protuberancias y los filamentos celulares de fibrina se pueden confundir desde organismos (Ellis, 1994; Winslow y cols., 1997). La microscopia de Darkfiel puede también no poder detectar infecciones activas porque se requieren aproximadamente 10 organismos/ml (Timoney, 1988; Ellis, 1994). La centrifugación se puede utilizar para concentrar especimenes (Greene y cols., 2006).

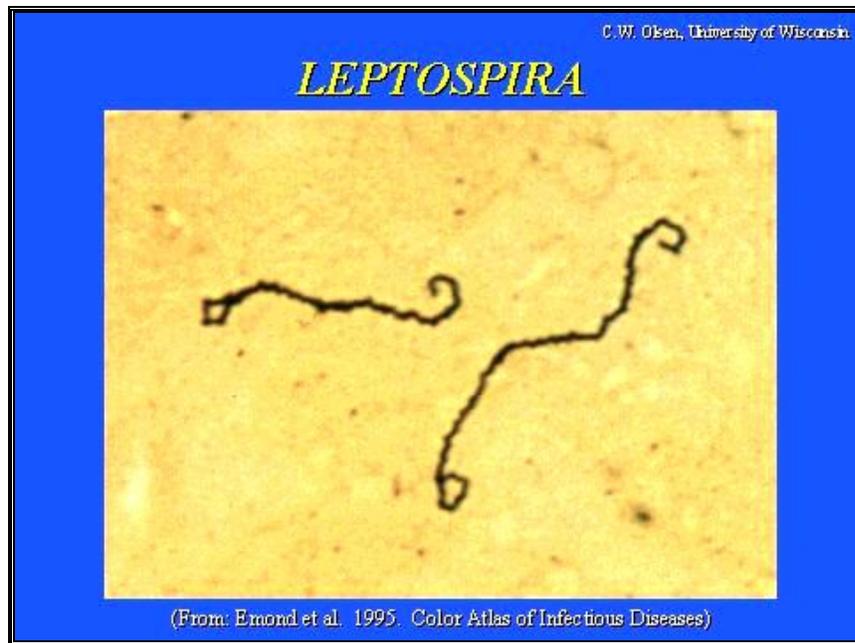


Imagen 2.- Imagen de microscópica donde se observan dos bacilos de *Leptospira sp* (Emond y col., 1995).

Las leptospiras pueden observarse en el examen en campo oscuro mediante microscopia de luz en cortes de tejido o en frotis secados al aire con tinción de Giemsa o impregnación argéntica (Brooks y cols., 2002). No obstante, esta técnica tiene una sensibilidad y especificidad bajas (Ross y Rentko, 2001). Debido a las inexactitudes de la examinación de darkfiel, debe ser seguida siempre por procedimientos cultivales o serológicos. Por consecuencia, la examinación de darkfiel carece de valor práctico y no es recomendada (Coffin, 1981; Ross y Rentko, 2001).



Inmunodetección

Las técnicas de la Aglutinación-absorción que usaban los anticuerpos monoclonales se han empleado en laboratorios especializados para suerotipar aislantes. La captura del antígeno que usaba los anticuerpos similares en ELISA del punto se ha desarrollado para detectar el antígeno del leptospira en la orina de la gente infectada. Aunque no extensamente está disponible, este método es altamente sensible y específico y se puede utilizar a bajo costo sin el equipo especializado (Greene y cols., 2006).

Detección Genética

Las leptospiras han sido detectadas en líquidos biológicos por la prueba en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR es muy sensible y se puede utilizar para distinguir rápidamente el patógeno del aislante no patógeno. Los métodos genéticos permiten una determinación más específica del origen de la infección, que no es posible con la medida de los títulos del anticuerpo del suero. Las pruebas genéticas se han utilizado para detectar leptospiras en sangre, en el factor estimulante de colonias (CSF), el humor acuoso, y la orina. La PCR se ha utilizado para detectar leptospiras en el humor acuoso de la gente y de caballos con uveítis (Greene y cols., 2006).

Debido a una concentración más alta de leptospiras en orina, probando que el líquido es esencial para asegurar la exactitud de los métodos de detección genéticos. El análisis de endonucleasa de la restricción de DNA amplificado usando PCR ha permitido la diferenciación entre muchos serovares y tiene el potencial de ser utilizado en DNA obtenida directamente de muestras clínicas (Greene y cols., 2006).



Desafortunadamente, algunos de estos métodos no han podido detectar ciertos serovares, y otros no permitieron la diferenciación de los serovares que infectaban a los perros. El PCR da lugar al haber sido la orina más sensible en dar resultados positivos que los de la prueba de PAM de sueros en perros de evaluación con la infección leptospiral sospechada. Como con el cultivo, la desventaja es que pueden ocurrir resultados falso positivos por contaminación si no se lleva a cabo con un control de calidad estricto (Ross y Rentko, 2001; Greene y cols., 2006).

Por lo tanto los resultados positivos se deben interpretar siempre en la luz de las muestras clínicas. Además, las secuencias genómicas de la leptospira no viable se pueden detectar en perros recuperados o tratados. Otros estudios son necesarios para determinar la sensibilidad y la confiabilidad de este método para el diagnóstico (Greene y cols., 2006).

Aislamiento

Para muchos autores es la técnica más sensible para el diagnóstico de leptospirosis, además es el que confirma la presencia de la espiroqueta, tanto en casos agudos como crónicos (Timoney y cols., 1988; Ellis, 1994) a pesar de que requiere mucho tiempo y de laboratorios especializados (Ellis, 1994).



RESULTADOS PATOLÓGICOS

Las lesiones a simple vista varían en forma notable según la gravedad de la enfermedad y pueden incluir mucosas inyectadas e ictéricas con petequias difusas. Es posible observar ulceraciones focales en la lengua y la cavidad bucal, y tal vez sean secundarias a uremia. Puede haber crecimiento amigdalítico o de tejido linfoide (Smith y Jones, 1992; Chandler, 1994).

En animales que mueren por infección aguda los riñones están aumentados. Son pálidos y de color amarillo grisáceo y abultan en la superficie de corte. La cápsula renal puede estar adherida a la superficie de los riñones y son comunes las hemorragias subcapsulares. En casos menos agudos los cortes quizá permitan observar manchado blanco, focal, en la corteza renal, que es más prominente a lo largo de la unión corticomédular. Pueden cultivarse leptospiras de tejido renal macerado (Smith y Jones, 1992).

En la infección por el serovar icterohaemorrhagiae las vías respiratorias pueden estar edematosas con congestión pulmonar y puede haber infiltrados neumónicos difusos, en placas. Es común encontrar hemorragias petequiales y equimóticas en la superficie pleural. En la afección hepática el hígado está crecido y friable, con contornos interlobulares pronunciados y coloración amarilloparda (Pérez y cols., 1982).

En la totalidad de las leptomeninges se identifican petequias y equimosis. Los animales urémicos con frecuencia padecen gastritis ulcerosa y hemorrágica. En algunos casos se observa necrosis y hemorragia en el intestino con intususcepciones del mismo. Puede encontrarse sangre libre o heces acólicas en el colon y recto de algunos animales. El bazo puede estar pálido y encogido (Smith y Jones, 1992; Greene y cols., 2006).

El estudio histológico muestra un infiltrado inflamatorio intersticial difuso, que es más intenso en las uniones corticomedulares. El infiltrado está compuesto sobre todo por células plasmáticas, con menor cantidad de linfocitos y macrófagos. A menudo se encuentran neutrófilos y células epiteliales necróticas dispersos en la luz tubular. Los riñones de pacientes con afección crónica tienen infiltración linfocítica leve a difusa, con macrófagos diseminados al azar. Se requieren tinciones especiales para observar leptospiras en los tejidos (Smith y Jones, 1992; Greene y cols., 2006).

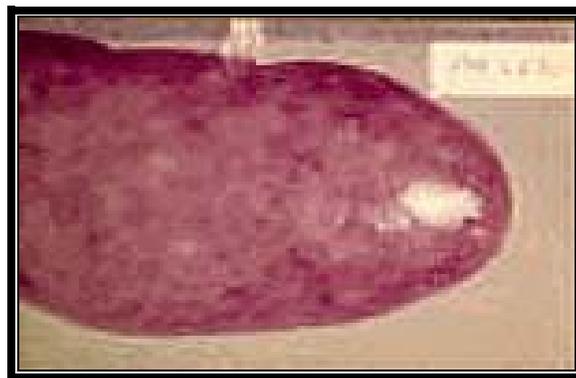


Imagen 3.- Riñón post mortem de un perro que falleció por insuficiencia renal por leptospirosis (Ruiz, 1998).

La tinción argéntica permite detectar desechos globulares y espiroquetas intactas en los túbulos renales. Las tinciones inmunohistoquímicas también facilitan su observación. Por desgracia, esta técnica se torna insensible, a pesar de su especificidad alta, por las cantidades tan bajas de microorganismos. Las alteraciones histológicas pulmonares consisten en necrosis fibrinoide de vasos sanguíneos y hemorragias perivasculares, intraalveolares y subpleurales (Pérez y cols., 1982; Thiesmann, 1984).

FALLA RENAL AGUDA EN PERROS



Imagen 5.- Cortes longitudinales de especímenes renales post mortem. A la izquierda se observa un riñón normal. La imagen de la derecha muestra un riñón con insuficiencia renal aguda por leptospirosis (Forrest y cols., 1998)

Los vasos pulmonares trombosados están rodeados por infiltrados de células mononucleares. Es posible que se presente necrosis focal del parénquima hepático. Los hepatocitos son redondeados, con núcleos picnóticos y contienen un citoplasma granuloso eosinofílico. En animales ictericos suele observarse estasis biliar intrahepática y lesión hepatocelular grave. La gravedad clínica de la afección hepática es paralela a la de las alteraciones histológicas en el hígado (Smith y Jones, 1992).

Los casos subclínicos suelen presentar alteraciones adiposas leves en los hepatocitos, en tanto que los perros moderadamente enfermos tienen cordones hepáticos fragmentados, con infiltrados linfocíticos en áreas de necrosis, y los pacientes con afección grave presentan necrosis diseminada del parénquima hepático y desintegración de núcleos. Los perros con infección crónica padecen hepatitis crónica activa y fibrosis hepática. Los microorganismos pueden demostrarse en sitios intercelulares dentro de cordones hepáticos (Smith y Jones, 1992; Greene y cols., 2006).

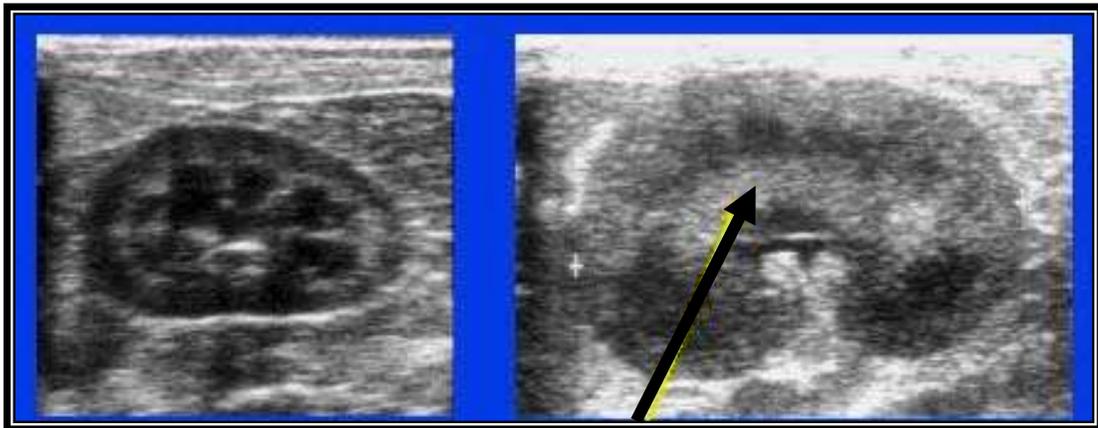


Imagen 4.- Ultrasonido modo B de un riñón sano de perro (imagen de la izquierda), y un riñón con insuficiencia renal aguda por leptospirosis, obsérvese una banda hiperecoica en la región medular (Forrest y cols., 1998).

El daño neurológico incluye hemorragia perivascular (rara en el gato), infiltrado de células mononucleares y en ocasiones trombosis vascular. La aplicación de una tinción argéntica tal vez ayude a encontrar leptospiras en áreas pericapilares. Aunque no existen lesiones macroscópicas en corazón, es obvia una miocarditis linfocítica focal en el examen histológico (Greene y cols., 2006)



TERAPIA

El tratamiento de los animales con leptospirosis depende de la severidad y la duración de los síntomas (Levett, 2001), así como de la presencia de disfunción renal o hepática, así como de otros factores que ocasionan complicaciones. Ocurren deshidratación y choque en pacientes con la afección grave. La pérdida de líquidos resulta de vómitos y diarrea, por lo que la fluidoterapia es necesaria en la mayoría de los perros para contrarrestar la deshidratación. La alimentación oral se suspende en los pacientes con vómito (Ross y Rentko, 1994; Greene, 2006).

Las hemorragias petequiales y equimóticas indican trombocitopenia por vasculitis o CID en pacientes con afección grave. Deben administrarse transfusiones de plasma o sangre entera fresca, con cautela y sólo con dosis bajas concurrentes de heparina, para CID en curso o la hipoalbuminemia grave (Greene y cols., 2006).

La oliguria (producción de orina menor de 1 ml/kg/h) y la anuria se tratan al principio mediante rehidratación y posteriormente es necesario administrar IV diuréticos osmóticos, como glucosa a 10% (5 ml/kg) o manitol, cuando el deterioro de la función renal persiste después de la rehidratación. Si la terapéutica con estos diuréticos fracasa, se administra dopamina (5µg/kg/min) por venoclisis. Deben utilizarse diuréticos tubulares, como la furosemida (2.5-5 mg/kg cada 6 a 12 hrs), aunados a la dopamina para aumentar el flujo urinario; sin embargo, se discute su efecto en la mejoría de la filtración glomerular (Ross y Rentko, 1994; Greene y cols., 2006).



La terapéutica con líquidos se ajusta a la diuresis de los diferentes pacientes. Puede considerarse diálisis peritoneal si la oliguria persiste porque la disfunción renal aguda es potencialmente reversible. No siempre es posible predecir qué perros responderán a la diuresis con líquidos con base en los valores del laboratorio (Greene y cols., 2006; Plumb, 2002).

Es necesario iniciar de inmediato antibioticoterapia leptospiricida en cualquier paciente en que el cuadro clínico es indicativo de leptospirosis, después de obtener muestras diagnósticas apropiadas (Blood, 1992; Ross y Rentko, 2001). Los antibióticos suelen reducir la fiebre y la bacteriemia en el transcurso de unas cuantas horas de administrarlos. Inhiben de inmediato la multiplicación del microorganismo y reducen con rapidez las complicaciones mortales de la infección, como las insuficiencias hepática y renal. Los antibióticos de elección para suprimir la leptospiremia aún son las penicilinas y sus derivados, pero no eliminan el estado de portador (Blood, 1992; Ross y Rentko, 2001, Greene y cols., 2006).

Al inicio puede administrarse por vía parenteral penicilina o ampicilina en pacientes con vómitos, urémicos o con alteraciones hepáticas. Una vez que la alimentación oral se inicia, se recomienda la terapéutica con amoxicilina por esta vía porque se absorbe mucho mejor. Después del tratamiento con penicilinas se administran otros medicamentos, como tetraciclinas, aminoglucósidos, eritromicinas o fluoroquinolonas, para eliminar el estado de portador (Greene y cols., 2006).

Puede utilizarse doxiciclina para la terapéutica inicial o con el fin de eliminar el estado de portador, y administrarse IV o PO según la alimentación del paciente. No es necesario ajustar la dosis en los que tienen insuficiencia renal, debido a que la doxiciclina no se excreta por los riñones, porque se excreta sobre todo por las heces (Ross y Rentko, 2001, Greene y cols., 2006).



Nunca deben administrarse aminoglucósidos para eliminar el estado de portador a menos que las pruebas de función renal hayan regresado a los límites de referencia. En estudios experimentales en animales la ampicilina y las cefalosporinas no fueron eficaces para eliminar microorganismos de tejidos y líquidos corporales, en tanto que las tetraciclinas y los macrólidos, como eritromicina y sus derivados, proporcionaron buenos resultados (Greene y cols., 2006).

Los medicamentos ineficaces incluyen cefalosporinas, cloranfenicol y sulfonamidas (Van der Hoeden, 1958; Greene y cols., 2006). La ciprofloxacina es eficaz in vitro e in vivo contra cepas virulentas de leptospirosas, pero su aplicación clínica es limitada. En el tratamiento de un perro la orbifloxacina no fue eficaz a la dosis recomendada en comparación con la amoxicilina oral (Greene y cols., 2006).

PREVENCIÓN

La prevención de la leptospirosis incluye eliminar el estado de portador. Por desgracia los reservorios animales silvestres y los animales domésticos con afección subclínica continúan alojando y eliminando microorganismos. Por estas razones, el control de roedores en perreras, la conservación de condiciones ambientales que no fomenten la supervivencia bacteriana y el aislamiento de animales infectados son importantes para evitar que la enfermedad se disemine. Con fines profilácticos se administra doxiciclina a dosis bajas (200 mg una vez a la semana) a personas en áreas endémicas cuando no se dispone de vacunación con serovares apropiados. Esta terapéutica puede ocasionar el surgimiento de resistencia bacteriana y no se recomienda (Greene y cols., 2006).



Se cuenta con bacterinas bivalentes para perros que contienen dos serovares principales, *canicola* e *icterohaemorrhagiae* (Ross y Rentko, 1994; Greene y cols., 2006). Las vacunas actuales no protegen en forma cruzada contra otros serovares importantes que causan afección, como *grippotyphosa*, *pomona*, *hardjo* y *bratislava*. Como resultado, las pruebas serológicas de infección con estos serovares han mostrado cierto aumento. Las vacunas actuales son cultivos totales inactivados por medios químicos, que las tornan relativamente alergénicas en comparación con las líneas de cultivo de tejido de las vacunas virales (Greene y cols., 2006).

La inmunización resulta eficaz para reducir la prevalencia y gravedad de la leptospirosis canina, pero no impide el estado de portador, que se acompaña de posible riesgo zoonótico. La inmunización inicial adecuada con muchos de los productos disponibles requiere dos a cuatro inyecciones con dos a tres semanas de diferencia para proporcionar inmunidad a la infección por reto que durará seis a ocho meses. A los perros se les pueden administrar vacunas contra moquillo -hepatitis-leptospirosis (Brooks y cols., 2002).

Se elaboran vacunas experimentales a partir de la fracción de envoltura externa de leptospiras, que es el sitio de actividad leptospiricida del anticuerpo y el complemento. El material antigénico se reduce mediante cultivo en medios sin proteínas, se eliminan coadyuvantes y se incluyen hasta cinco serovares de leptospira en estas vacunas (Greene y cols., 2006).

Los títulos de IgG, que son los principales responsables de la protección, se elaboran cuando menos durante un año después de la tercera vacunación en perros. Como se logran títulos más altos mediante inyecciones múltiples, los perros en áreas endémicas deben vacunarse anualmente (y en ocasiones dos veces al año) y todos



han de recibir cuando menos tres inyecciones en su primera serie de vacunación (Greene y cols., 2006).

CONSIDERACIONES DE SALUD PÚBLICA

La mayor parte de las infecciones en personas ocurre en quienes realizan actividades deportivas en el agua o se exponen ocupacionalmente a huéspedes silvestres o animales domésticos. En algunos brotes puede ocurrir la exposición simultánea de personas y perros. Los animales con sospecha de enfermedad deben aislarse. La orina contaminada es muy infecciosa para personas y especies animales susceptibles; por tanto debe evitarse su contacto con mucosas o abrasiones en la piel. El dueño del paciente, deberá ser informado del riesgo que supone para la salud humana (Ross y Rentko, 1994; Greene y cols., 2006).

Es necesario utilizar guantes de látex cuando se manipula orina o artículos contaminados con la misma y mascarillas faciales y anteojos grandes cuando se lavan áreas contaminadas en perreras. Puede encontrarse infección y leptospirosis en perros sanos vacunados, con la ocurrencia consiguiente de la enfermedad en personas. Todos los animales que se sabe, o sospecha, que eliminan microorganismos deben tratarse con aminoglucósidos o tetraciclinas. Las áreas contaminadas con orina infectada se lavan con detergente y a continuación se tratan con soluciones a base de yodo a las que es muy susceptible el microorganismo (Ross y Rentko, 2001; Greene y cols., 2006).



CONCLUSIONES

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de gran importancia mundial producida por serovariedades de *Leptospira interrogans*, la cual afecta a la mayor parte de animales salvajes y domésticos, que sirven como fuente de infección para el hombre significando un importante riesgo profesional para veterinarios.

Anteriormente se pensaba que el perro sólo era afectado por los serovares *icterohaemorrhagiae* y *canicola*, pero en la actualidad también se han aislado *I. pomona*, *I. Bratislava*, *I. hardjo*, *I. bataviae*, entre otras.

La leptospirosis puede presentarse en pacientes de cualquier edad, raza o sexo si no hay inmunidad previa. Las leptospiras se transmiten por contacto directo o indirecto; la orina es la principal fuente de contaminación. La infección es típicamente subclínica en perros adultos y en todos los gatos. Los signos clínicos incluyen: fiebre, depresión, hipersensibilidad muscular generalizada, melena, vómito, etc. El diagnóstico se basa en la signología clínica y en los estudios de laboratorio; las pruebas serológicas nos proporcionan un diagnóstico en corto tiempo y son las pruebas de laboratorio más utilizadas; la PAM, es el método serológico estándar para la identificación de la bacteria, la cual es poco específica, pero es fácil de realizar.



Entre otras pruebas se encuentra la de ELISA que es más sensible y específica que PAM; pero no está disponible para su aplicación; el cultivo bacteriano requiere de tiempo y de una técnica estricta de recolección para que pueda ser confiable. La prueba de campo oscuro es rápida pero su sensibilidad y especificidad son bajas, por lo que no se recomienda. El aislamiento es la prueba más sensible y confiable, pero la demostración por medio de esta prueba requiere tiempo y de laboratorios especializados.

El tratamiento de los animales infectados dependerá de la gravedad de la enfermedad y del grado de insuficiencia renal y hepática presentes en el paciente. La instauración de una terapia de líquidos es necesaria para contrarrestar la deshidratación, en la mayoría de los pacientes. El protocolo terapéutico para suprimir la infección se basa en la administración de antibióticos como las penicilinas y sus derivados. Cuando hay recuperación del paciente, es importante implementar un tratamiento para erradicar la fase de portador renal.



REFERENCIAS

1. Alexander, AD. 1976. Immunity in Leptospirosis. In: The Biology of Parasitic Spirochetes. Editor Johnson Russell C. Ed. Academic Press. New York.
2. Amatredjo, A and Campbell, R.S.F. 1975. Bovine leptospirosis. Vet. Bull 43:875-891.
3. Barlough, J.N. 1988. Manual of Small Animal Infectious Diseases Ed. Churchill Livingstone. New York.
4. Sherding R.G. 1996. Leptospirosis, Brucelosis y otras Enfermedades Infecciosas Bacterianas. En: Manual clínico de pequeñas especies. Vol1. 2ª ed. Ed McGraw-Hill-Interamericana. DF México. pp151-155.
5. Birnbaum N, Barr SC, Center, SA, Schermerhorn T, Randolph JF and Simpson KW. 1988. Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs: serological and clinicopathological features. Journal of Small Animal Practice (1988) 39:231-236, may 1988.
6. Blood DC, Henderson JA and Radostis O.M. 1986 Medicina Veterinaria. Ed. Interamericana 5a. Edición México D.F.
7. Bombinbre, T.R. y López, R.T. 1998. Leptospirosis en unidades intermedias. Rev. Higiene y Epidemiología 36(2):105-112
8. Brooks, G.F; Butel, J.S.; Morse, S.A. 2002. Leptospira y Leptospirosis En: Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. Ed. Manual Moderno. 17ª edición p. 357-360.
9. Castro MJ, Zamora EL y Valladares BC. 2001. Discusión de un caso diagnóstico. Nueva Época, Boletín Informativo de la Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Año 5 No. 3 Dic. 2001.
10. Chamizo, E. 1997. Patología Orgánica y Enfermedades de los Animales Domésticos. Ed. Félix Varela. 52.
11. Chandler EA, Sutton JB y Thompson DJ. 1994. Medicina y Terapéutica Caninas. Ed. Acribia, Zaragoza, España.



12. Coffin, D.L. 1981. Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. La Prensa Medica Mexicana, S.A. México, D.F. 245- 253.
13. Colin y cols. 2000. Seroprevalencia a Leptospirosis en los trabajadores de un rastro de la ciudad de Colima. [En línea]. <http://www.ipk.sld.cu/lepto2004/reunion/orales/colinpt>. [Consulta: 18 marzo, 2007].
14. Covaleda, J., Fumarola, A. y Cantarell, I. 1953. Leptospirosis por *L. ballum* en los trabajadores de arrozal de la región de Camarales (Delta del Ebro). Rev. Iber. Parasitol. XIII, 289-299.
15. Duque BM, Moreno MJ y Gómez MEZ. 1988. Leptospirosis en edad pediátrica Infectología Practica, México (DF), 1998; Nov-Dic.
16. Ellis, WA. 1994. The diagnosis of leptospirosis in farm animals. In: The present state of leptospirosis diagnosis and control. Martinus Nijhoff Publishers. Brussels (Luxembourg).
17. Everard, J.D. 1996. Leptospirosis. 111-119. In: F.E.G. Cox (Ed). The welcome trust illustrated history of tropical diseases. The welcome trust London. U.K. 416-418.
18. Emond y cols. 1995. Color Atlas of Infectious Diseases. [En línea]. <http://www.vetmed.wic.edu/pubs/zoonoses/Leptospira/leptoindex.html>. [Consulta: 16 marzo, 2007].
19. Faine, S. 1982. Guidelines for the control of leptospirosis. Edit. Word Health Organization offset publication No. 67 Geneva (Switzerland): WHO.
20. Faine, S. 1991. The genus leptospira. In: Barlows A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. (Eds). The Prokaryotes. Springer-Verlag. 2a. Edition. 3568-3582.
21. Faine, S. 1994. Leptospira y leptospirosis. Edit. Library of Congreso Cataloging. (CRC. Press, Inc.) USA.
22. Forrest, L.J y cols. 1998. Sonographic renal findings in 20 dogs. With leptospirosis. [En línea]. Vet. Radio. Ultrasound 39: 337-340. <http://www.vetmed.wic.edu/pubs/zoonoses/leptospira/leptoindex.html>. [Consulta: 16 marzo, 2007].



23. Guijarro, R. y Calvo, E. 1999. Tratamiento y control de leptospirosis bovina. *Producción Animal*, 146:27-36.
24. Gillespie, JH. And Timoney, JF. 1981. El Género *Leptospira*. En: Hagan y Bruner, *Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos*. Ed. La Prensa Médica Mexicana. 4ª edición, México, D.F.
25. Ginebra, G. A. Olga. 2001. Microorganismos Espirales. En: Llop H. Alina, Valdés-Dapena V. M., Zuazo, S.J. *Microbiología y Parasitología Médicas Tomo 1*. Ed. Ciencia Médica Ciudad de La Habana. 37:388-415.
26. Greene, C.G, Millar, M.A. y Brown, C.A. 2000. *Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos*. 2ª ed. ed McGraw-Hill. D.F. México. p. 302-311.
27. Greene, C.G.; Sykes, J.E.; Brown, C.A. and Hartmann, K. 2006. Bacterial diseases. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Vol 1. 5ª ed. Ed Saunders Company. USA. p. 390-398.
28. Hartman, EG. 1984. Epidemiological aspects of canine leptospirosis in the Netherlands. *Zbl. Bakt. Hig.a*. 258:350-359.
29. Heath, S.E. and Johnson, R. 1994. Leptospirosis. *JAVMA* 205, 1518-1523.
30. Hellstrom, J.S. and Marshall, R.B. 1978. Survival of *Leptospira interrogans* serovar pomonain an acid soil under simulated New Zealand field conditions *Rev. Vet. Sci.*, 25, 29-33.
31. Tizard, I.R. 1998. Resistencia a las Bacterias. En: *Inmunología Veterinaria*. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. 5ª edición. p. 319-321.
32. Institut Pasteur. 2000. *Biological Diagnosis Leptospirosis-Lime Borreliosis*. París, Francia. Institut Pasteur.
33. Jones, TC and Hunt, RD. 1983. *Veterinary Pathology*. 5th Ed. Lea y Febiger, Philadelphia.
34. Low, DG. 1981. Leptospirosis Canina En: *Terapéutica Veterinaria*. 3ª edición. Ed. Continental. México.
35. Levett, P.N. 2001. Leptospirosis. In: *Clinical Microbiology Reviews*. 14(2):296-226.
36. Merchant, IA and Packer, RA. 1975. *Bacteriología y Virologia veterinarias*. 3ª edición. Edit. Acribia, Zaragoza, España.



37. Merck, Manual de Veterinaria, El. 2000. 5ta edición. Barcelona, España.
Ed. Océano Grupo, 532-533.
38. Michna, S.W. 1970. Leptospirosis. Veterinary Record. 86, 484- 496.
39. Mills, S. 1948. Clinical aspects of canine leptospirosis: Veterinary Record. 60 p.p. 267-272.
40. Ministerio de guerra. 1965. Leptospirosis. Control de Zoonosis, pp. 68-71 Lima, Perú, 1965.
41. Myers, MD. 1985. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de leptospirosis. O.P.S. Nota técnica No. 30:pp. 9-14, 1985.
42. Nájera, S.; Alvis, N.; Babilonia, D.; Álvarez, L. y Mattar, S. 2005. Leptospirosis ocupacional en una región del caribe colombiano. En: Salud Pública de México. 47(3):240-244.
43. Nelson, R.W. y Couto G.C. 2000. Medicina Interna de Animales Pequeños 2ª ed, Ed Inter-medica, Argentina. p. 1359-1361.
44. Nielse, JN, Cochran, GK, Casells, JA and Hanson, LE. 1991. *Leptospira interrogans* serovar *bratislava* infection in two dogs. J.A.V.M.A. 199(3):351-352.
45. Pérez, Q., Dorado, E. y Borralló, L. 1982. Estudio de un foco de leptospirosis bovina en España. 10ª Conferencia de la Comisión regional de la O.I.E. para Europa. O.I.E. Londres.
46. Plumb, D.C. 2002. Veterinary Drug Handbook. 4ª ed. Ed. Iowa State Press. USA. p. 42-779.
47. Prescott, J.F. 1993. Leptospirosis, In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (Eds.) Pathology of domestic animals. Academic Press, Inc, 4th edition. 503-511.
48. Pumarola, A. 1994. Leptospirosis. En: Pumarola A. Et al. Microbiología y Parasitología. Cap. 49. España, 544-0.
49. Quinn, PJ, Carter, ME, Markey, B and Carter, GR. 1994. Clinical Veterinary Microbiology. Edit. Wolfe, Philadelphia USA.
50. Regalado, Daisy, López, C. y Saltanen, A. 1992. Identificación de cepas de distintas procedencias. Rev. Med Trop., 44(2):129-133.
51. Rodríguez, RA y Suárez, GF. 1994. Análisis retrospectivo de los casos de leptospirosis en perros remitidos al laboratorio de bacteriología de la Facultad



- de Medicina Veterinaria y Zootecnia- UNAM. en el período de enero 1993 a junio de 1994. memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, 1994 octubre 9-15; Acapulco (Guerrero) México. Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias, AC, 1994:115.
52. Ross, L.A. y Rentko, VT. 2001. Leptospirosis En: Kirk XIII Terapéutica Veterinaria. 13a ed. Ed McGraw-Hill-Interamericana. México. p. 308-309.
 53. Ruiz, D. 1998. Zoonosis transmitidas por animales de experimentación. [En línea] www.patologíaveterinaria.cl/.../image028.jpg. [Consulta 28 marzo 2007].
 54. Smith, Jones. 1992. Enfermedades causadas por bacterias, hongos y espiroquetas. En: Patología Veterinaria. 1a. edición. Edit. Uteha.
 55. Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L. y Taylor D.J. 1999. Enfermedades del Cerdo. Ed. Inter-Médica. 8a. Edición. Tomo I.
 56. Tvedten, W.T. 1999. Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. Ed. W.B. Saunders Company. 3a. Edition. USA.
 57. Thiermann, A.B. 1984. Leptospirosis: current developments and trends. JAVMA 184, 722-725.
 58. Timoney, J.F., Gillespie, J.H., Scott, F.W. and Barlough, J.E. 1988.
 59. The Spirochetes, In: Hagan & Bruner's Microbiology and infectious diseases of domestic animals. Comstock Publishing Associates, Ithaca, USA, 8th edition, 45-46.
 60. Van der Hoeden, J. 1958. Epizootiology of Leptospirosis. Adv. Vet. Sci. 4, 278-339.
 61. Venkataraman, KS and Nedunchellian, S. 1992. Epidemiology of an Outbreak of Leptospirosis in Man and Dog. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. Vol. 15(4) p.p. 243-247.
 62. Winslow, W.E., Merry, D.J., Pirc, M.L. 1997. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. In: Journal of Clinical Microbiology. 35(8):1938-1942.
 63. Wohl, JS. 1966. Canine Leptospirosis. The Compendium Small Animal. Vol. 18, No. 11, November 1966.