

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
“UNIDAD LAGUNA”**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Leptospirosis canina, situación actual”

POR

FRANCISCO ALTAMIRANO SÁNCHEZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR

MVZ. FRANCISCO J CARRILLO MORALES

Co-Asesor

MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO

TORREÓN, COAHUILA.

Junio 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
“UNIDAD LAGUNA”**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Leptospirosis canina, situación actual”

POR

FRANCISCO ALTAMIRANO SÁNCHEZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Leptospirosis canina, situación actual”

POR

FRANCISCO ALTAMIRANO SÁNCHEZ

MONOGRAFÍA

Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO


MVZ. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**


MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA

junio 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

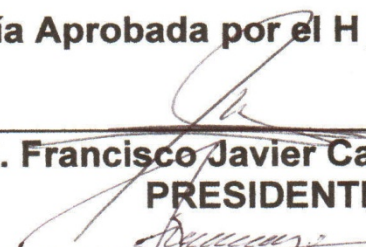
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

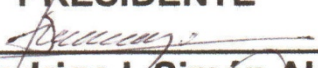


“Leptospirosis canina, situación actual”

Monografía Aprobada por el H jurado examinador



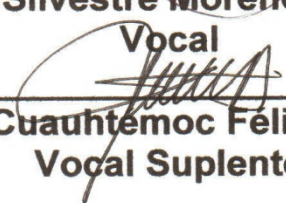
MVZ. Francisco Javier Carrillo Morales
PRESIDENTE



MVZ. Rodrigo I. Simón Alonso
Vocal



MVZ. Silvestre Moreno Ávalos
Vocal



MVZ. Cuauhtémoc Félix Zorrilla
Vocal Suplente

Índice	Pág.
Dedicatoria.....	I
Agradecimientos.....	II
Resumen.....	III
Introducción.....	1
Antecedentes epidemiológicos.....	2
Cararcterísticas bilologicas.....	12
La fuente de infección.....	13
Etiología.....	14
Serovares.....	14
Clasificación.....	15
Epizootiología.....	16
Poder patógeno de los serogrupos de leptospiras de mayor importancia.....	16
Leptospira pomona.....	17
Transmisión.....	21
Patogenesis.....	21
Signos clínicos.....	23
Inmunidad hacia la infección.....	28
Diagnóstico.....	30
Diagnostico de la enfermedad.....	30
Diagnóstico epidemiológico.....	30
Diagnostico clínico-sintomatológico.....	30
Diagnóstico bacteriológico.....	30
Diagnostico serológico.....	31
Otros diagnósticos.....	32
Diagnóstico mediante otra pruebas complementarias.....	33
Hematológicas.....	33
Diagnóstico anatomopatológico.....	34
Diagnostico diferencial.....	34
Serología.....	35
Análisis de orina por microscopio de campo oscuro y anticuerpos fluorescentes.....	36
Cultivo.....	37
Prueba de (FA) Anticuerpos fluorescentes.....	37
Reacción en cadena de polimerasa (PCR).....	37
Histopatología.....	37
Tratamiento y control.....	37
Tratamientos medicamentosos.....	39
Prevención (vías de vacunación).....	39
Conclusiones.....	43
Literatura citada.....	44

Índice de figuras y cuadros

Figura 1.....	15
Figura 2.....	25
Figura 3.....	25
Figura 4.....	27
Figura 5.....	27
Cuadro 1.....	42

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

Paulino Altamirano Yañez

Amalia Sánchez espino

A MI HERMANA:

Diana Elizabeth Altamirano Sánchez

A toda mi familia por el cariño y confianza que me brindaron para mi superación.

A mi ALMA TERRA MATER por abrirme sus puertas para darme la oportunidad de superarme.

AGRADECIMIENTOS

A dios doy gracias por guiarme siempre por buen camino y escuchar mis oraciones en los momentos más difíciles.

A mi madre: Amalia Sánchez Espino por darme la vida, por todo su amor y cariño, la confianza que tuvo en mi en vida y todo el apoyo que me ha brindado desde el cielo. (q.e.d).

A mi padre: Paulino Altamirano Yáñez por su ejemplo, orientaciones y todo el apoyo incondicional para mi superación.

A mi hermana: Diana Elizabeth Altamirano Sánchez por haber confiado en mí en todo momento por su apoyo y cariño incondicional.

A mi cuñado: Jabín Muñoz González por su apoyo y amistad que siempre me ha brindado.

A mis sobrinas: Evelyn Paulina, Janithza Melina, Gissel Diana, Abigaith Jadiaa.

A mis tíos: Irma González, Tereso Altamirano, Irene Sánchez, Juan cortés.

A mis primos: Efren, Miguel, Alberto, Gerardo, Wendy, Azahel, Laura.

Al M.V.Z Francisco Javier Carrillo Morales por haberme asesorado para la realización del presente trabajo.

Al M.V.Z Rodrigo Isidro Simón Alonso, M.V.Z Cuauhtémoc Félix Zorrilla, M.V.Z Silvestre Moreno Ávalos por su apoyo y amistad.

A mis amigos: Araceli Sánchez, Alejandro Medina, Jobo González, Luis Miguel Gómez, Marisol, Alberto Acevedo, Juan jerónimo, Héctor Colín, David Esparza, Zayra Argentina, Sergio Soriano, Gerardo López, Ignacio Miranda, Azalia García, Cristóbal Marquéz, Mauricio Rojo, Julio Escalera, Edna Carolina, Enrique Basilio, Aurelio Alvarez, Armando Pliego, Fermín Cortes, Juan serrano, Jorge Díaz, Emilio Castellanos, Omar Ibarra.

A todos aquellos amigos (as) que por el momento no vienen a mi mente pero no por eso dejan de ser buenos amigos, gracias.

RESUMEN

La Leptospirosis afecta a diversas especies de mamíferos, incluido el perro. La misma puede tener un curso agudo, subagudo o crónico. En algunos casos evoluciona en forma subclínica. Es producida por diferentes serogrupos de *Leptospira*. Se caracteriza por la presencia de anemia, ictericia, trastornos digestivos, fiebre alta, insuficiencia renal crónica, miosis, iritis y otros, que pueden ocasionar hasta la muerte del animal. Se han referido además la deshidratación y los temblores musculares.

El diagnóstico está basado en la sintomatología y los cambios pato morfológicos, la demostración histológica de leptospiras en el riñón o el hígado, la serología; así como la evaluación de la situación epizootica. El tratamiento sintomático rápido y adecuado con antibióticos puede reducir la mortalidad. La terapia de sostén comprende la corrección de la deshidratación y el desequilibrio electrolítico.

La leptospirosis ha sido señalada como un problema económico-social, haciéndose imprescindible extender la lucha sistemática contra ésta zoonosis. Las medidas de control deben dirigirse hacia las campañas de eliminación de los animales de vida libre que pueden ser posibles portadores y diseminadores de la enfermedad y la vacunación de los animales susceptibles. Existen vacunas para el control de la enfermedad, estas muestran buena eficacia y efectividad . La información acerca de la leptospirosis es aun más complicada debido a grandes cambios en la clasificación taxonómica del Género *Leptospira*. Para poder comprender patrones cambiantes de la enfermedad en los perros, es necesario reconocer que esta infección re-emergente está influenciada por los ciclos de infección en animales salvajes, desde donde la infección podría diseminarse hacia poblaciones de animales domésticos. Otros factores que afectan el patrón de enfermedad en perros son la historia de vacunación y el uso de antibióticos. Esta monografía sobre la leptospirosis en caninos da importancia a los hallazgos recientes de la enfermedad en perros.

Palabras claves: Leptospirosis canina, epizootiología, diagnóstico, control, tratamiento.

INTRODUCCION

La Leptospirosis es una enfermedad bacteriana, causada por especies patógenas del Género *Leptospira*. La enfermedad ocurre mundialmente en numerosos huéspedes animales, incluyendo al perro. La enfermedad en el canino se presenta como una infección aguda de riñón e hígado y, a veces, como una septicemia. La enfermedad crónica renal es una secuela común de infección y los abortos pueden ocurrir en hembras preñadas, debido a que varios aspectos de la infección no se entienden bien. Existe la posibilidad que la enfermedad en perros no sea diagnosticada. Eventos recientes en el Noreste de USA han colocado a la leptospirosis a la cabeza de la lista de diagnósticos diferenciales para perros que se presentan con signos de enfermedad aguda de hígado y/o riñón. Brown CA, Roberts AW, Miller MA, et al., 1996.

Mientras que los métodos diagnósticos se han perfeccionado a lo largo de los años, la mayoría son relativamente insensibles. La información acerca de la leptospirosis es aun más complicada debido a grandes cambios en la clasificación taxonómica del Género *Leptospira*. Para poder comprender patrones cambiantes de la enfermedad en los perros, es necesario reconocer que esta infección re-emergente está influenciada por los ciclos de infección en animales salvajes, desde donde la infección podría diseminarse hacia poblaciones de animales domésticos. Otros factores que afectan el patrón de enfermedad en perros son la historia de vacunación y el uso de antibióticos. Esta monografía sobre la leptospirosis en caninos da importancia a los hallazgos recientes de la enfermedad en perros, y desafía a los veterinarios a que aprendan más sobre esta seria enfermedad la cual afecta a ambos, animales y hombres. Adin CA and Cowgill LD., 1990

Etimológicamente la palabra *leptospira* procede de dos voces griegas: *lepto*-estrecho o delgado y *spira*-espiral. Son microorganismos filiformes de aproximadamente 0.1 micras de diámetro y de 6-15 micras de longitud, aunque pueden llegar hasta 30 ó 40 micras (24, 42, 48). Están enrollados en forma de espirales apretados que por lo general presentan uno o ambos extremos doblados en forma de gancho. Poseen una extraordinaria movilidad, que les

asegura un alto poder invasivo. Son bacterias que dan lugar a la formación de aglutinas y anticuerpos protectores.

Antecedentes epidemiológicos.

Ortega Pacheco A, et al., del Departamento de Medicina Interna y Cirugía, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, en el año 2008, realizaron un estudio para determinar la frecuencia y tipo de lesiones renales asociadas con títulos positivos contra *Leptospira* sp. En una población de perros callejeros. Trescientos cincuenta pares de riñones y un número igual de las muestras de suero fueron colectadas de los perros capturados por la perrera de Mérida, Yucatán, Las muestras de suero fueron evaluados con la prueba de aglutinación microscópica, y muestras de tejidos fueron procesados y fijados en parafina. Después de la tinción con hematoxilina y eosina, la frecuencia de las lesiones renales se determinó y clasificados. Como una evaluación adicional, las muestras con nefritis intersticial fueron teñidos por el método de Warthin-Starry, a fin de observar la presencia de formas espiroqueta que puede ser morfológicamente compatibles con *Leptospira* spp. Se encontró que el 98% de los casos presentaron al menos un tipo de lesión.

Las principales lesiones histológicas encontradas fueron glomerulonefritis proliferativa mesangial (GNMP) en 63,7% (n = 223), glomerulonefritis proliferativa mesangial y la nefritis intersticial (GNMP + IN) en 34% (n = 119), nefroesclerosis en el 0,57% (n = 2), glomerulonefritis mesangial en el 0,28% (n = 1), y la nefritis intersticial (EN) en el 0,28% (n = 1). Treinta y cuatro por ciento (n = 122) de los perros eran seropositivos a *Leptospira* sp., Principalmente contra la serovariedad canicola. Entre los perros con IN (sola o asociada con GNMP) (n = 120), el 49,1% eran seropositivos a *Leptospira* sp., Pero sólo el 17% de ellos mostraron formas espiroqueta compatible con la bacteria. Una asociación estadística entre los perros seropositivos y la presencia de GNMP + IN se determinó (P <0,0001; odds-ratio de 2,7, intervalo de confianza de 1,7-4,5). Llegamos a la conclusión de que la frecuencia de las

lesiones renales encontradas en este estudio es alta y *L. canicola* es probablemente el serotipo circulante más frecuente en los perros de esta zona. Los perros que han estado en contacto con *Leptospira* spp. tienen un mayor riesgo de desarrollar lesiones renales de la GNMP tipo + IN.

Ann N Y Acad Sci. 2008 Dec; 1149:270-4.

Minke JM, y Bey R, y demás colaboradores del laboratorio Merial SAS, en Lyon, Francia., evaluaron una vacuna comercial para determinar el inicio y la duración de la inmunidad protectora contra la enfermedad clínica y renal en perros de transporte inducida por una bi-valente vacuna contra la leptospirosis inactivada. La protección contra la enfermedad clínica y la prevención del estado de portador renal siguen siendo los principales objetivos de la vacunación contra la leptospirosis en el perro.

En el presente trabajo, los grupos de perros fueron vacunados dos veces con una bacterina comercial (Eurican L) con *Leptospira interrogans* serovares icterohaemorrhagiae, y *canicola* y retó a los representantes de los dos serotipos heterólogos a las 2 semanas (inicio de la inmunidad) o 14 meses (duración de la inmunidad) después de la segunda vacunación.

Los perros de control no fueron vacunados contra la leptospirosis y la mantuvo con los perros vacunados. Los retos, independientemente de la serovariedad, fiable produjo signos clínicos compatibles con la infección por leptospirosis en las crías de control con hasta un 60% de mortalidad. Como era de esperar la enfermedad clínica en los controles de adultos fue menos grave, pero hemos sido capaces de inducir la morbilidad y la mortalidad también.

En estas condiciones de desafío extremo, los signos clínicos en los perros vacunados eran raros, y cuando se observan, leves y transitorios en la naturaleza. Tras la infección experimental, el 100% de las crías de control y 83% de los controles de adultos se convirtieron portadores renal. A pesar de los serios retos, ninguno de los 18 cachorros vacunados y sólo 2 de los 16 perros adultos vacunados desarrollaron un estado de portador renal. Estos

resultados positivos proporcionan un inicio rápido y la protección a largo plazo tanto contra la leptospirosis clínica y la etapa renal. Esta vacuna proporciona una poderosa herramienta para prevenir la enfermedad clínica en perros y la transmisión zoonótica de la leptospirosis a los seres humanos Vet Microbiol. 2009 Mayo 28, 137 (1-2) :137-45.

Vashi NA, P Reddy, Wayne DB, B. Sabin del Departamento de Medicina, Northwestern University Feinberg School of Medicine, en Chicago, IL 60611, EE.UU. dan a conocer en su artículo Murciélagos asociados a la leptospirosis que es una enfermedad prevalente a nivel mundial que afecta a los seres humanos, causando una enfermedad sistémica que puede dar lugar a la participación de múltiples órganos. La enfermedad es causada por bacterias patógenas incluyendo más de 200 variantes serológicas.

La mayoría de las variantes serológicas han reservorios primarios en los mamíferos silvestres, que continuamente infectar y colonizar los animales domésticos.

El organismo se ha recuperado de las ratas, cerdos, perros, ganado y otros animales, en especial los murciélagos. La mayoría de estudios se han centrado en los animales domésticos como reservorios, sin embargo, debido a su abundancia, distribución espacial, y la interrelación con los animales domésticos, los murciélagos se están convirtiendo en una fuente epidemiológicamente importantes de leptospiras. Presentamos un caso de leptospirosis confirmados serológicamente después de la exposición de murciélagos para añadir a la literatura cada vez mayor de los murciélagos como una posible fuente de transmisión.

Reconocimiento de la presentación común de la leptospirosis y la enfermedad de Weil, y la identificación de los vectores animales, como los murciélagos, permite la selección de la gestión adecuada de antibióticos para ayudar en la resolución de la sintomatología. J Gen Intern Med. 2010 Feb;25(2):162-4.

Zakeri S, et al., del Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Pasteur de Irán, Teherán, Irán. En el 2009 realizan un estudio de orina, la presencia y prevalencia de las especies de leptospiras en las muestras de humanos infectados (n = 369), ovejas (n = 75) y sueros de los perros (n = 150), recogidos en cuatro provincias de Irán, se investigaron mediante ensayo nested-PCR/RFLP seguida de secuenciación. Nested-PCR, se detectó que 98/369 (26,5%) humanos, 13/75 (17,33%) de los sueros de oveja y 33/150 (22%) muestras de los perros de orina fueron positivas para *Leptospira* ADN. RFLP, el ensayo detectó que todos los casos positivos habían patógenos de especies de *Leptospira*.

Mediante el análisis de secuencias, *Leptospira interrogans* fue la especie más prevalente entre las muestras examinadas de humanos (53/82, 64,6%) y ovino (11/13, 84,6%). Sin embargo, en las muestras de perro, *Leptospira Wolff* (27/29, 93,1%) se detectó por primera vez y fue la especie dominante. La presencia de *L. Wolff* con 100% de identidad en muestras clínicas humanas y de animales sospechosos con *Leptospira* puede proporcionar pruebas a la circulación de *L. Wolff* y su papel en el ciclo de transmisión dentro de un huésped humano y animal. Además, esta especie puede ser potencialmente patógenas para el huésped humano y probablemente de los animales. Un estudio epidemiológico a gran escala sería necesario para definir la presencia y la prevalencia de esta especie en el panorama mundial. *J Vet Med Sci.* 2009 Sep;71(9):1191-9.

Alton GD, et al., en el Departamento de Población de Medicina, del Laboratorio de Sanidad Animal, de la Universidad de Guelph, Guelph, Ontario, Canadá. En el 2009, Dan a conocer en su artículo el aumento de la seroprevalencia de leptospirosis canina y sus factores de riesgo, en Ontario Canadá de 1998-a 2006. La leptospirosis canina ha sido descrita como reemergente en América del Norte en torno a mediados de la década de 1990, con un cambio en la epidemiología de la infección en serotipos responsables de la aparición de la enfermedad. Un estudio retrospectivo de casos de control se llevó a cabo para examinar la reaparición de casos seroprevalentes de la

leptospirosis canina en Ontario, Canadá con serología de 1.406 perros de enero 1998-diciembre 31, 2006.

Con la prueba de aglutinación microscópica (MAT), los resultados se analizaron mediante regresión logística multivariable, generalizada modelos lineales mixtos, y la prueba de Cochran-Armitage para las tendencias en proporciones. Los resultados indicaron que la leptospirosis canina en Ontario es una enfermedad de todas las razas y edades, independientemente del género. No se observó la agrupación geográfica, pero la agrupación de los casos por la clínica dentro de las áreas geográficas sugiere diferencias en el conocimiento o en el diagnóstico de los veterinarios. Un patrón estacional característico de la leptospirosis, con más casos ocurridos durante el verano y el otoño fue presentado. El análisis de tendencia temporal fue consistente con una proporción cada vez mayor o reaparición de casos seroprevalentes de la leptospirosis canina desde 1998, lo que sugiere que el aumento de la leptospirosis canina es genuino. Can J Vet Res. 2009 Jul; 73 (3):167-75.

Whitney EA, et al., del Centro de Preparación en Salud Pública e Investigación y el Depto. de Epidemiología de la Escuela Rollins de Salud Pública, Universidad de Emory, Atlanta, GA, EE.UU en su estudio de Prevalencia y factores de riesgo de los anticuerpos séricos contra los serovares de *Leptospira* en veterinarios de los Estados Unidos de América, su objetivo fue determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra serovares de *leptospira* entre los veterinarios y de identificar los factores de riesgo de seropositividad en ámbitos de atención veterinaria. Paraíso se diseño una encuesta seroepidemiológicos.

Tomando muestras de sangre de 511 veterinarios, y el suero fue extraído de una prueba de aglutinación de microcápsulas (mat) para detectar anticuerpos contra 6 serotipos de *leptospira*. los datos de análisis se realizaron para determinar la proporción de las probabilidades de una determinada exposición (por ejemplo, los tipos de animales tratados o prácticas de seguridad de la biotecnología) en las personas seropositivas a las probabilidades en individuos seronegativos la evidencia de la infección por

leptospiras fue detectado en 2,5% de los veterinarios. La mayoría de los veterinarios reportaron múltiples exposiciones potenciales a leptospira spp y otros patógenos en los últimos 12 meses, incluidas las lesiones por pinchazo accidental (379/511 [74,2%]), mordeduras de animales (345/511 [67,5%]), y los arañazos de los animales (451 / 511 [88,3%]). El tratamiento de un perro con un síndrome gripal en el último año se asoció con la seropositividad de anticuerpos contra leptospira spp. Los veterinarios que están en riesgo de leptospirosis deben tomar medidas para reducir la exposición a agentes infecciosos en general. Las pruebas de diagnóstico de la leptospirosis deben ser consideradas cuando los veterinarios tienen enfermedades febriles de origen desconocido. Am Vet Med Assoc. 2009 Apr 1; 234 (7):938-44.

Iwamoto S, Wada Y, Fujisaki Y, Umeki S, Jones MI, Mizuno T, Itamoto K, Maeda K, Iwata H, Okuda M. Del Laboratorio de Medicina Interna Veterinaria, Facultad de Agronomía, Universidad de Yamaguchi, Yoshida, Japón. En el 2009, realizaron una encuesta nacional de anticuerpos contra leptospira en los perros en Japón, con la prueba de aglutinación microscópica y la prueba de ELISA. En el estudio, las muestras de suero fueron colectadas de 801 perros a través de las 47 prefecturas de Japón, y se evaluó con una prueba de aglutinación microscópica (MAT), con 5 grandes L. interrogans serovares (icterohaemorrhagiae, canicola, Autumnalis, Hebdomadis y Australis) como antígenos, y un ligado a enzimas (ELISA) usando la proteína OmpL1 recombinante como antígeno. En todos los perros a prueba, 217 (27,0%) y 29 (3,6%) fueron MAT-y ELISA-positivos, respectivamente. Sin embargo, la evidencia sugiere fuertemente que la MAT también detecta los anticuerpos producidos por la vacunación. De 243 perros nunca inoculadas con cualquier vacuna canina, 41 (16,9%) de 23 prefecturas se MAT y / o ELISA positivo. El serotipo más frecuentemente detectado fue Icterohaemorrhagiae (22 perros, 19 prefecturas).

Nuestros resultados sugieren que hay perros con infección por Leptospira subclínica en todo Japón. A lo mejor de nuestro conocimiento, el presente estudio es la primera encuesta nacional de la infección por leptospiras

en los perros, y los resultados son relevantes no sólo para la medicina veterinaria clínica, sino también para la salud pública.

J Vet Med Sci. 2009 Sep; 71 (9) :1191-9.

Millán J, Candela MG., et al., Del Departamento de Biología de la Conservación, Estación Biológica de Doñana (CSIC), Pabellón del Perú, Sevilla, España. Realizaron un estudio serológico de leptospirosis en los carnívoros salvajes y domésticos en los espacios naturales de Andalucía, España. De junio 2004 a abril de 2007, en donde analizaron por evidencias de contacto con 14 serovares de *Leptospira interrogans* Lato Senu en suero (analizadas por prueba de aglutinación microscópica indirecta) y en la orina o las muestras de riñón (analizados por la observación microscópica, inmunotinción y el cultivo, tomados a partir de 201 silvestres y carnívoros domésticos, incluidos los 26 de vida libre de lince ibérico (*Lynx pardinus*), 33 zorros (*Vulpes vulpes*), 33 egipcios mangostas (*Herpestes ichneumon*), 25 gineta común (*Genetta genetta*), dos tejones de Eurasia (*Meles meles*) y una nutria euroasiática (*Lutra lutra*), y 53 de libre itinerancia gatos y 28 perros de las zonas rurales en las áreas protegidas en Andalucía, España. Veintitrés por ciento de los animales presentaron evidencias de contacto, siendo la prevalencia similar entre los salvajes (23,5%) y las especies domésticas (22,2%).

El contacto con *Leptospira* se detectó en todas las especies, pero la nutria. La prevalencia fue: *Lynx* (11% en la detección bacteriológica, el 32% por serología), el zorro (0%, 47%), mangostas (5%, 20%), gineta (0%, 12%), el tejón (0%, 50 %), gato (20%, 14%), (perro serología sólo: 36%). Serovar *Icterohemorrhagiae* representaron 2 / 3 de los casos. Serovariedad *canicola* fue detectado en la mitad de los perros positivos y un lince. Otros serotipos detectados fueron *Ballum*, *Sejroe*, y *Australis*. No se observaron lesiones macroscópicas en la autopsia a los animales que mostraron evidencias de contacto con el agente, aunque la nefritis intersticial crónica en lesiones histopatológicas se observó en 7 de las 11 personas analizadas microscópicamente. Así, *L. interrogans* puede causar enfermedades no

registradas anteriormente en los carnívoros silvestres en España. El perro puede actuar como reservorio de la serovariedad canicola. Los carnívoros son aparentemente buenos centinelas para la monitorización epidemiológica de la leptospirosis. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009 Oct;9(5):549-54.

En Cali, y en Colombia en general, se desconoce la epidemiología de la leptospirosis en ambientes urbanos. Además, el papel del perro en el ciclo de transmisión en dichos ambientes no es claro. Para explorar esta situación, en Cali se realizó un estudio serológico a 197 sueros de perros callejeros durante el 2001 y el 2003, utilizando la prueba de micro aglutinación *Gryppotyphosa*, Hardjo cepa Hardjo bovis, Pomona, Hardjo cepa Hardjo prajitno y Bratislava aportados por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) de Tuluá. La prueba se interpretó como positiva por la presencia de una aglutinación $\geq 50\%$ de las leptospiras, con uno o más serovares, en una dilución del suero $\geq 1:100$.

Se encontró evidencia de infección en el 41,1% de los perros con, al menos, uno de los serovares.

En Buenos Aires, Argentina. 1992. Se determinó la seroprevalencia de leptospirosis en una población canina suburbana con el objeto de analizar la asociación entre distintas variables individuales y ambientales y la seropositividad a leptospirosis.

El estudio, de diseño transversal, se llevó a cabo durante julio de 1992 en un barrio del Gran Buenos Aires en el que viven unos 9 500 habitantes y una población canina de unos 2 000 animales.

Se estudió una muestra aleatoria de 223 perros, de cada uno de los cuales se obtuvo una muestra de sangre.

La ficha epidemiológica del animal se obtuvo por encuesta al ama de casa. Las determinaciones serológicas se realizaron por microaglutinación frente a 10 serotipos de *Leptospira interrogans*. Se halló seropositividad en 57% de los 223 perros examinados; 82% de los sueros positivos coaglutinaron con dos o más serotipos. Los serotipos detectados con mayor frecuencia fueron canicola y pyrogenes.

La seroprevalencia en hembras fue menor que en machos ($P < 0,05$) y entre los cachorros de menos de 1 año de edad, menor que en los animales de mayor edad ($P < 0,01$).

El perro callejero y la presencia de agua estancada frente a la vivienda del propietario fueron los factores de riesgo más importantes entre las asociaciones estadísticamente significativas que se estudiaron de la seropositividad con el contacto con un basural. Se discuten distintas medidas de control, Con el comportamiento de caza del perro y con la presencia de roedores en la vivienda no fueron estadísticamente significativas. Se discuten distintas medidas de control. Rubel D, Seijo A, et al., 1992.

EN el 2002. Se realizó un estudio de prevalencia de leptospirosis canina en el municipio de Mérida Yucatán. Los estudios descriptivos realizados en Yucatán demuestran que existen factores (biológicos, sociales y climáticos) que condicionan la permanencia de *Leptospira* de manera endémica. Objetivo: Estimar la seroprevalencia de leptospirosis y determinar los serovares presentes en una población canina de la ciudad de Mérida Yucatán. Para esto se muestrearon 400 perros de la ciudad de Mérida durante los meses de octubre a diciembre de 2002. Se utilizó la técnica de referencia recomendada por la OMS, micro aglutinación (MAT) con un punto de corte de 1:100. Se emplearon como antígenos 10 serovares de *Leptospira interrogans*: canicola, pomona, wolffi, hardjo, tarassovi, panama, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, bratislava y pyrogenes.

Se obtuvo una seroprevalencia de 35% (140/400). Los serovares más frecuentes fueron canicola 63% (89/140), icterohaemorrhagiae 10% (14/140) panama 8% (11/140).

Estos resultados contrastan con la prevalencia reportada en 1999 de 6.5% (26/400). El aumento de seropositividad se relacionó con el incremento de la precipitación pluvial e inundaciones ocasionadas en Septiembre

Estas aguas propiciaron condiciones de sobre vivencia y diseminacion de *Leptospira* de un ambiente contaminado con orina de perros infectados a uno no contaminado. En este estudio sugerimos que la transmision al perro pudiera ser por *L. canicola* a través de los mismos perros y por *icterohaemorrhagiae* a través de roedores., Cárdenas-Marrufo María F, et al., 2003.

Rossetti CA, Liem M, Samartino LE, Hartskeerl RA. 2005. Ponen en evidencia una nueva *Leptospira* serovar Buenos Aires, de serogrupo Djasiman, aislado de un feto abortado de un perro en Argentina. *Vet Microbiol.* May 20; 107(3-4):241-8.

Ochoa J, Sánchez A, et al., 2000. Realizaron un estudio de Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Rev Panam Salud Pública*; 7:325-31.

Katz A, Ansdell V, Efler P, Middleton C, Sasaki D. En el 2002.

Realizaron un estudio de Leptospirosis en Hawái: el análisis epidemiológico de 353 l casos confirmados en laboratorio. *Am J Trop Med Hyg*; 66:61-70.

Rubel D, Seijo A, Cernigoi B, Viale A, Wisnivesky- Colli C. en 1997, realizaron un estudio de *Leptospira interrogans* en una población canina en Buenos Aires Argentina con variables asociadas con la seropositividad. *Rev Panam Salud Pública*; 2:102-.

Barcellos C, Chagastelles P. 2000.Socio-environmental determinants of the leptospirosis outbreak of 1996 in the western Rio de Janeiro: a geographical approach. *Int J Environ Health Res*;10:301-13.

Murhekar M, Sugunan A, Vijayachari P, Sharma S, Sehgal S. Realizaron un estudio para determinar los factores de riesgo en la transmision de infecciones de leptospirosis Risk factors in the transmission of leptospiral infection. *Indian J Med Res* 1998; 107:218-22.

Navarrete M, Sejin R, Vélez P. Realizaron un estudio preliminar de leptospirosis en caninos en la ciudad de Montería. Chile. Revista, ICA, 1981.16:165-72.

Weekes C, Everard C, Levett P.1997 Realizaron un estudio de Seroepidemiología de leptospirosis canina en la isla de Barbados. Microbiol; 57:215-22.

Brown C, Roberts W, Miller M, Davis D, Brown S, Bolin C, et al. 1996; Realizaron un estudio *Leptospira interrogans* serovar Grippothyposa infection in dogs. J Am Vet Med Assoc 209:1265-7.

Scanziani E, Origgi F, Giusti A, Iacchia G, Vasino A, Pirovano G, et al. 2000 Realizaron un estudio Serological survey of leptospiral infection in kennelled dogs in Italy. J Small Anim Pract; 43:154-7.

Ribotta M, et al., 2000. Realizaron un estudio de Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs. Can J Vet Res; 64:32-7.

Características biológicas.

La *Leptospira* no se multiplica fuera del huésped y su supervivencia depende de las condiciones medioambientales en las cuales las temperaturas > 34 - 36°C (93 - 96°F) son nocivas.

Los organismos de *Leptospiras* se encuentran, por ejemplo, condiciones del suelo y agua. La *Leptospira* es altamente susceptible a la desecación y a los cambios de pH - pH<6 y pH>8 son inhibidores; temperaturas < 7 - 10°C (44.6 - 50°F) y sobreviven hasta 180 días en suelos húmedos, por varios meses en superficies acuosas y sobreviven aun mejor en agua estancada que en movimiento.

Para sobrevivir requieren de un alto grado de humedad ambiental, así como un pH entre 6 y 8 y una temperatura de 30°C. Sin humedad no sobreviven mucho tiempo, se desactivan con solución caliente de sosa cáustica al 2%, solución de formaldehído al 2%, solución de cal clorada al 3% de cloro activo y la emulsión caliente de Creolina al 5%. También el uso de desinfectantes de Yodo como Betadine (4).

Pueden vivir fuera del huésped en el agua, el fango, los terrenos húmedos y bajos, con ciertos requisitos de temperatura, pH, sales minerales y aún reproducirse por días bajo éstas condiciones. El agua es absolutamente esencial para la sobrevivencia de estos microorganismos (5, 33, 49, 52, 64, 66, 69, 71, 72). Debido a esto los brotes ocurren según el grado de humedad del medio. Puede observarse así un incremento de los brotes en las estaciones de mayor precipitación pluvial.

La fuente de infección.

La fuente de infección para animales es ya sea por contacto directo con orina infectada, material o fluidos fetales y placentarios, descargas uterinas, o por contacto indirecto con el ambiente contaminado.

Una mayor incidencia de la enfermedad ocurre en suelos con pH alcalino, durante las estaciones húmedas (áreas de alta precipitación), en áreas bajas donde es susceptible que la lluvia corra, climas cálidos y húmedos, áreas con abundante superficie de agua generando campo pantanosos y áreas barrosas. Además, perros en patios cercados pueden exponerse a orina de animales salvajes, incluyendo roedores; perros que son ejercitados mediante caminatas en parques y aquellos que vagan en el campo o nadan en estanques o lagunas y en arroyos con poco y lento caudal están en un mayor riesgo a la exposición de la leptospirosis. Los perros como razas de caza, animales de exhibición, y todo perro con acceso a estanques o lagunas o arroyos con poco y lento caudal se encuentran en mayor riesgo que mascotas caseras. Adin C.A and Cowgill L.D., 2000.

Etiología

Posición taxonómica

- **Dominio: Bacteria**
- **Phylum: Spirochaetes**
- **Clase: Spirochaetes**
- **Orden: Spirochaetales**
- **Familia: Leptospiraceae**
- **Género: Leptospira**
- **Especie: Leptospira interrogans**

Serovares.

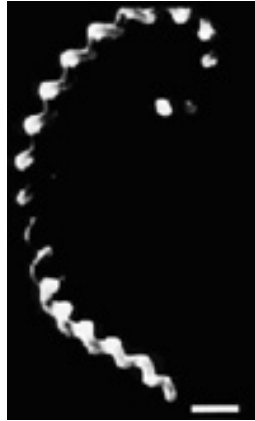
Las Leptospiras son bacterias aeróbicas o microaerofílicas Gram negativas y miembros del Orden Spirochaetales. La Leptospira no se tiñe bien con la tinción convencional de Gram, pero son fácilmente visibles con tinciones de anticuerpos fluorescentes (FA) de preparados tisulares o sedimento urinario, la tinción de plata de Warthin-Starry o tinción de tejidos fijados por inmunohistoquímica. Su morfología microscópica es un espiral a menudo con ganchos visibles en cada extremo de la célula bacteriana. Baldwin C, Jet al., 1987.

Se conocen 23 serogrupos con más de 220 serotipos. Varios son los serogrupos de la especie *Leptospira interrogans* que causan esta entidad, a estos pertenecen un gran número de tipos serológicos denominados serovares que no son más que las unidades taxonómicas principales sobre la base de las propiedades aglutinógenas de la leptospira (35). Existen más de 175 serovares patógenos, 7 de los cuales han sido aislados en animales domésticos en los EEUU. Los serogrupos muestran una íntima relación antigénica.

La infección se debe usualmente a los serovares canicola o copenhageni, un miembro del serogrupo *L. icterohaemorrhagiae*, (27, 41, 50, 59, 62, 68), aunque la *L. pomona*, *L. grippotyphosa* y *L. ballum* han sido aislados en perros en los EEUU (19). Las infecciones con *L. canicola* o *L. copenhageni* son prevalentes en algunas poblaciones de perros.

Este último ha sido frecuentemente la causa de las leptospirosis de tipo icterico y hemorrágica.

Figura 1. Morfología típica de leptospiras. Microfotografía electrónica. *L. pomona*.



La temperatura óptima de crecimiento es 30°C y el tiempo para obtener una nueva generación es de 7 a 10 días para nuevas colonias aisladas. Pero, son difíciles de recuperar mediante cultivos *in Vitro*.

Clasificación.

El método tradicional de clasificación dividió a las leptospiras en aproximadamente 200 serovares basados en las diferencias antigénicas (serológicas) y todas las *Leptospira* patógenas fueron clasificadas como una especie, *L. Interrogans*; los serovares de vida libre no patógenos fueron incluidas en la especie *L. Biflexa*. Sin embargo, la nueva clasificación del Género *Leptospira* se inclina sobre las relaciones genéticas del organismo por ejemplo, análisis de endonucleasa de restricción de ADN cromosomal. Hay actualmente 7 genespecies, 28 serogrupos y numerosos serovares y genotipos. Tres especies de *Leptospira* saprofitas han sido descritas. André FG, Ruvoen CN and Ganière JP., 1994.

Epizootiología.

La Leptospirosis ocurre mundialmente; sin embargo, no es poco común encontrarla de forma endémica en una región geográfica particular causada por infección con solo uno, o varios, serovares. La *Leptospira* se adaptó a "huéspedes reservorios primarios", los cuales comúnmente son animales salvajes.

Estas mismas especies de *Leptospira* también ocurren en casi cualquier otro huésped mamífero como "huéspedes incidentales o accidentales".

El perro es el "huésped reservorio primario" para la *L. canicola* (*L. canicola* se encuentra en los huéspedes accidentales como ratas, mapaches, erizos, ratones de campo y zorrillos) y la *L. bataviae* (*L. bataviae* ocurre en los huéspedes accidentales como son los erizos y campañoles o ratón de campo).

Se conocen 23 serogrupos con más de 220 serotipos. Varios son los serogrupos de la especie *Leptospira interrogans* que causan esta entidad, a estos pertenecen un gran número de tipos serológicos denominados **serovares** que no son más que las unidades taxonómicas principales sobre la base de las propiedades aglutinógenas de la leptospira (35). Existen más de 175 serovares patógenos, 7 de los cuales han sido aislados en animales domésticos en los EEUU. Los serogrupos muestran una íntima relación antigénica.

Poder patógeno de los serogrupos de Leptospiras de mayor importancia.

Leptospiras icterohemorrhagiae y *L. canicola*:

El perro es susceptible a *L. icterohemorrhagiae* y *L. canicola*, las que producen la enfermedad natural (6, 9, 14, 17, 22, 25, 27, 34). *L. canicola* es el serogrupo más reportado. Produce uremia pero poca o ninguna ictericia. Se han descrito infecciones crónicas de leptospirosis canina con abundante eliminación de microorganismos en la orina. Estos dos serogrupos se han reportado en infecciones graves de gatos y zorras plateadas. Es de señalar que

ninguna de estos dos serogrupos produce infecciones graves en cerdos, bovinos y caballos.

Leptospira Pomona.

Se han observado infecciones naturales en el hombre, el ganado vacuno, el cerdo, la oveja y el perro, y se ha reproducido experimentalmente en los animales de laboratorio. Se observan signos clínicos bastantes evidentes pero son más frecuentes las infecciones inaparentes o subclínicas.

La Leptospirosis canina ha sido señalada en muchos países europeos, particularmente en Holanda, España y Alemania además en Indonesia, Malasia, Norteamérica y Gran Bretaña. Es una enfermedad extendida en los Estados Unidos. La incidencia varía con el ambiente y es menos común en grandes crianzas de esta especie. *L. canicola* es el serotipo más común; *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, y *L. grippotyphosas* también son responsables de algunas infecciones extendidas.

La enfermedad se asocia principalmente con degeneración crónica del riñón. Hay derramamiento de leptospiras en la orina que puede continuar hasta después de un año. La enfermedad aguda en el perro es más frecuente en edades de 1 a 3 años. Los perros portadores de infecciones residuales de *L. canicola*, en los riñones pueden continuar eliminando los microorganismos en la orina durante 3 años (42). La localización en los riñones puede ser una secuela de un curso subclínico benigno, así como el de uno agudo.

En un estudio de 150 caninos en Argentina por el método de Aglutinación Microscópica (MAT), el 62 % presentó infección por Leptospiras: 57 % fue positivo a *L. castellosis*, 51 % a *L. canicola*, 14 % a *L. icterohemorrhagiae* y un 9 % a *L. pyogenes*, de los cuales hay un 32 % de leptospirosis recientes: 17 % de coaglutinaciones y 15 % de altos títulos en por lo menos 2 serovares, predominado la *L. canicola* (27). Esta alta prevalencia de infección al serovar *canicola* proporciona una importante fuente de éstas bacterias patógenas en los humanos expuestos, principalmente por motivos ocupacionales: los veterinarios, productores y en los propios animales convivientes.

En los Estados Unidos, sobre los años 1980 se planteó el predominio de *L. icterohemorrhagiae* y *L. canicola* como serovares predominantes en la Leptospirosis canina, sin embargo sobre los años 1990 aumentó la incidencia de *L. grippotyphosa* y *L. pomona* lo que nos da la idea de un resurgimiento de la enfermedad en algunas poblaciones de perros. Existe la explicación de que al vacunar preventivamente con los serovares predominantes en los años 80 la enfermedad queda controlada, sin embargo comienzan a aparecer los otros 2 serovares por la migración de la fauna desde de las zonas suburbanas donde son éstos los predominantes (19).

En estudios realizados por especialistas clínicos y patólogos han determinado que es muy difícil separar sobre las bases de pruebas clínicas las infecciones causadas por los serogrupos *L. icterohaemorrhagiae*, y *L. canicola* (5, 24, 42, 45). Ambos microorganismos son responsables de graves efectos sobre el hígado y los riñones, pero por regla general la primera ejerce sus efectos más específicamente en el hígado y la otra en los riñones. Por medio de esta regla, cuando la ictericia es marcada el microorganismo probablemente es *L. icterohaemorrhagiae* y cuando predominan los daños renales la que predomina es *L. canicola*. Sin embargo los cachorros infectados por esta pueden manifestar ictericia y morir de forma aguda y, en perros con infecciones subagudas causadas por *L. icterohaemorrhagiae*, pueden producirse significativas nefritis.

La infección de tipo sobreagudo, que se ha dado en cachorros causada por *L. icterohaemorrhagiae*, es aguda al comienzo con el curso de una septicemia fulminante. Las muertes pueden ocurrir en unas pocas horas o hasta 2 ó 3 días. Hay fiebre, hipersensibilidad y notable tendencia a las hemorragias, traducida en hematemesis, epistaxis y petequias en las mucosas.

En la enfermedad de tipo agudo, en la que la ictericia constituye una característica destacada, el comienzo puede ser súbito con un desarrollo diferido de la ictericia o bien insidioso, con ictericia como primera anormalidad observada. También caracterizan este síndrome tendencias hemorrágicas, particularmente destacadas en los pulmones y el tracto gastrointestinal. La anemia es moderada, existe leucocitosis, la tasa de sedimentación está muy

aumentada, y la orina contiene albúmina, cilindros, hematíes, y leucocitos. Es frecuente la necrosis focal en el hígado, pero puede estar ausente.

Las lesiones microscópicas hepáticas más importantes son la disociación de las células de las trabéculas parenquimatosas, las células disociadas se hacen independientes y redondeadas, el citoplasma se vuelve eosinófilo y groseramente granuloso y los núcleos se encogen y oscurecen. La regeneración es a veces destacada y puesta de manifiesto por citomegalia, binucleación y mitosis. Las células de Kupffer contienen hemosiderina en exceso y muchos canalículos biliares están obstruidos. Los microorganismos pueden evidenciarse por medio de técnicas especiales en los sinusoides y las células epiteliales hepáticas. El comienzo de la alteración renal se inicia por los túbulos contorneados, cuyo epitelio manifiesta cambios que van desde una degeneración hidrópica hasta una necrosis. Esta va acompañada de un edema intersticial y una difusa pero escasa infiltración de leucocitos, principalmente linfocitos y células plasmáticas (42).

En los perros que sobreviven a la septicemia aguda, tipo icterico de la enfermedad, o que dejan de manifestar de cualquier manera una fase septicémica, el énfasis clínico y patológico pasa del hígado a los riñones. El síndrome resultante es la forma común en la que se manifiestan las infecciones de *L. canicola*. Los signos son los de insuficiencia renal, variando en su gravedad y rapidez de progresión. La muerte puede sobrevenir rápidamente por fallo renal debido a una nefritis difusa aguda, pero parece también que las infecciones inicialmente inaparentes pueden ponerse en marcha en los riñones, después de largo tiempo, posiblemente varios años, desembocando en el fallo renal por nefritis intersticial crónica. Las otras alteraciones encontradas en el cadáver son las del síndrome urémico (24, 42).

La infección se debe usualmente a los serovares *canicola* o *copenhageni*, un miembro del serogrupo *L. icterohaemorrhagiae*, (27, 41, 50, 59, 62, 68), aunque la *L. pomona*, *L. grippotyphosa* y *L. ballum* han sido aislados en perros en los EEUU (19). Las infecciones con *L. canicola* o *L. copenhageni* son prevalentes en algunas poblaciones de perros. Este último ha sido frecuentemente la causa de las leptospirosis de tipo icterico y hemorrágica.

Los perros además pueden infectarse con varios serovares más y servir como "huéspedes accidentales o incidentales". Históricamente, los serovares asociados con la enfermedad clínica en el perro incluían a *L. canicola* y *L. Icterohaemorrhagiae* (el huésped reservorio primario es la rata; los huéspedes incidentales son ratones, mapaches, zarigüeyas, puercoespines, zorros, marmotas, zorrillos, y ratón almizclero). Sin embargo, la idea que se tenía de la enfermedad en el Noreste de USA cambio cuando cientos de casos de leptospirosis fueron reportados en Long Island, Nueva York (USA) en 1996.

Desde entonces, ambos *L. Grippotyphosa* (el huésped reservorio primario es el ratón de campo; huéspedes incidentales son ratones, ratas, mapaches, zarigüeyas, zorros, ardillas, zorrillos, puercoespines, rata almizclera, topo) y *L. pomona* (los huéspedes reservorios primarios son bovinos y porcinos; los huéspedes incidentales son ciervo, ratón, mapache, zarigüeya, puercoespín, zorro, marmota, ratón de campo) se han convertido en más prevalente en esa región. La *L. Bratislava* (reservorio primario en cerdos y caballos) emergió en el 2000 como un problema adicional. André FG, Ruvoen CN and Ganière JP., 1994.

La prevalencia/incidencia reportada de leptospirosis en perros podría estar subestimada, porque aparentemente la enfermedad canina es subdiagnosticada ya que muchas infecciones son asintomáticas. Además, muchos veterinarios no han incluido leptospirosis en el diagnostico diferencial de enfermedad renal aguda, o los dueños no han buscado ayuda veterinaria. Debería reconocerse que la seroconversión no siempre se correlaciona con la enfermedad clínica declarada en el perro.

Las leptospiras no se multiplican fuera de la especie animal huésped, pero sobreviven bien en un ambiente con optimas condiciones, como se dijo anteriormente. Con respecto a la ocurrencia de infección directa, los perros deben estar expuestos a leptospiras por orinas infectadas, vía transplacentaria y ruta venérea, heridas por mordedura, o ingesta de carne contaminada. La fuente más común de leptospirosis en perros es el agua contaminada. La transmisión indirecta además ocurre desde vegetación, suelo, o comida contaminada por orina infectada. Birnbaum N, Barr SC, Center SA, et al.1998.

Transmisión

La transmisión puede ser:

Indirecta: a través de aguas de los suelos contaminados por la orina de los huéspedes convalecientes o crónicos y reservorios.

Directa: por manipulación de animales o fetos contaminados, por vía venérea cuando los genitales están contaminados, con restos de orina infectados, contacto hocico-rabo.

Transplacentaria: el pase de las leptospiras está condicionado por los cambios degenerativos que ocurren en la placenta al final de la gestación.

Otros: Se ha descrito también la infección por medio de vectores: garrapatas, mosquitos chupadores de sangre.

Los roedores constituyen el reservorio más importante, y muchos científicos consideran que sirve universalmente de fuente originaria de la infección. La infección con *Leptospiras* se produce generalmente por contacto indirecto con el agua, el suelo o alimentos contaminados con la orina infectada de los animales portadores silvestres y domésticos. Estos excretan en sus orinas hasta 100 millones de leptospiras por mililitro (17).

La enfermedad también se transmite en forma directa por contacto con la orina o tejidos de animales infectados. La enfermedad es una antropozoonosis en la que el microorganismo se mantiene en la naturaleza, (20, 29, 33), transmitiéndose de un animal a otro, constituyendo el hombre, salvo raras excepciones, un extremo muerto de la cadena de transmisión (24). El contagio interhumano prácticamente no existe.

Patogénesis

El entendimiento de la patogénesis de la leptospirosis es incompleto, las formas clínicas de la enfermedad se ven influenciadas por diversos factores, incluyendo el huésped, el cual puede ser el huésped reservorio primario o un huésped incidental. La enfermedad en huéspedes reservorios primarios tiende

a ser más crónica, o sintomática con una débil respuesta de anticuerpos. En contraste, la enfermedad en un huésped incidental tiende a ser aguda y severa con marcada respuesta de anticuerpos. El aspecto de la enfermedad en el perro va desde subclínico, a subagudo, agudo (severo), o crónico; puede además haber aborto con o sin placentitis.

Las leptospiras patógenas penetran en el organismo por heridas o abrasiones en la piel, a través de las membranas mucosas y de la conjuntiva, o por inhalación de gotas o aerosoles que las contengan (52). Adicionalmente puede ocurrir la transmisión transplacentaria, venérea, y por las lesiones causadas por mordeduras (5, 36, 71). Se difunden a partir del punto de penetración sin producir lesiones, invadiendo inmediatamente la corriente sanguínea en la que se multiplican, dando origen a la fase de leptospiremia que ocurre entre los 4 y los 12 días post-infección. En esta primera fase clínica hay presencia de leptospiras en sangre y líquido cefalorraquídeo.

A continuación se presenta lo que se ha denominado fase de formación de anticuerpos (IgM) que se inicia aproximadamente al final de la primera semana y se extiende hasta el final de la segunda semana cuando la fase septicémica remite. Los microorganismos desaparecen de la sangre y del líquido cefalorraquídeo; se localizan muy particularmente en los riñones, lo que da lugar a la tercera fase o de eliminación, (fase de leptospiruria), que puede tener carácter continuo o intermitente (5). Su eliminación es prolongada; dura hasta meses después de la recuperación del perro.

Las leptospiras se multiplican en el epitelio de los tubos renales causando daño e insuficiencia renal, especialmente *L. canicola*. Por otra parte su localización se produce en el hígado lo que sin dudas complica el cuadro y el desenvolvimiento clínico. Resulta en una necrosis hepática aguda (especialmente *L. icterohaemorrhagiae*), fibrosis hepática y ocasionalmente hepatitis crónica activa (reportado con *L. grippotyphosa*). Típicamente la infección es subclínica en perros vacunados (inmunes) y perros adultos (4).

Signos clínicos

La severidad de los signos clínicos se ve influenciada por la edad del perro, estado de vacunación, la virulencia inherente de un serovar de leptospira en particular, como así también la ruta y el grado de exposición.

Tiene un período de incubación que varía entre 5 y 15 días. Comienza con una fase sanguínea y febril para localizarse finalmente en los riñones. Afecta con más frecuencia a los machos

En la enfermedad peraguda a subaguda, los perros pueden morir sin la presencia de signos clínicos. Estos perros comúnmente se presentan con pérdida de apetito, fiebre 103 - 104°F (38.5 - 40°C), severa mialgia y rehúsan moverse, rigidez, temblores, debilidad progresiva y depresión. Los perros probablemente vomiten y/o tengan diarrea lo cual resulta en una rápida deshidratación y sed excesiva. La inyección de membranas mucosas es típica, a menudo con petequias y hemorragias equimóticas extensas; la ictericia no es común, y ocurre con mayor frecuencia en perros infectados con *L. icterohaemorrhagiae*.

Sus síntomas son: Hipertermia, vómitos continuos, diarrea sanguinolenta, salivación, dolores musculares fundamentalmente en la zona lumbar, falta de apetito, dificultad para tragar, color icterico en las mucosas aparentes, hipertrofia del hígado, síntomas neurológicos (parálisis, temblores musculares, convulsiones tónico clónicas).

La enfermedad puede ser latente o aguda, los signos clínicos están relacionados con desordenes del hígado, riñón y vasculares (22, 24, 25, 36). A menudo las primeras manifestaciones observadas son: anorexia, vómito, fiebre, hiperemia de las mucosas, debilidad, depresión, adinamia, anuria, oliguria, ictericia, diarreas, convulsiones, glositis, estomatitis, dolor a la palpación renal y apatía. Posteriormente el proceso promueve una gastroenteritis hemorrágica, mialgia, poliuria, polidipsia, hipotermia, estomatitis necrótica e ictericia marcada.

Las infecciones por *L. icterohaemorrhagiae* cursan con una ictericia marcada, mientras en las que son provocadas por *L. canicola* no se presenta ictericia. La enfermedad puede desarrollar el síndrome de coagulación intravascular diseminada (CID) causada por el síndrome urémico-hemolítico. Los signos de CID incluyen hemorragias petequiales o equimóticas, hematemesis y epístasis. Existen las manifestaciones ocasionadas como el aborto, crías muertas y meningitis. La enfermedad latente afecta mucho el riñón. La infección no es evidente. La nefritis crónica puede cursar durante años en determinadas circunstancias (22). Se han referido además la deshidratación y los temblores musculares (43).

Al inicio las leptospiras penetran las membranas mucosas o piel intacta o raspada. Luego, durante los 4 a 11 días siguientes, los organismos rápidamente invaden el torrente sanguíneo, creando una leptospiremia. *Birnbaum N, Barr SC, et al., 1997.*

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 montar una respuesta anamnésica ante la ausencia de anticuerpos. *Kalin M, Devaux C, DiFruscia R, et al., 1999.*

Los factores de virulencia de *Leptospira* descritos incluyen factores de adherencia asociados con proteínas de superficie que le permiten adjuntarse a la fibronectina y colágeno del huésped, así como también factores desconocidos que le permiten la invasión a través de las membranas mucosas o piel húmeda y ablandada. Los factores adicionales incluyen la actividad endotóxica del lipooligosacárido de *Leptospira* y su acción sobre monocitos; liberación de linfocinas, desencadenando la reacción de coagulación intravascular diseminada, incluyendo hemorragia y sangrados anormales;

trombocitopenia y agregación plaquetaria; el acumulo de las plaquetas; la actividad del lípido A de, sus efectos tóxicos; los efectos bactericidas del suero normal; varias hemolisinas y su acción causando hemoglobinuria, anemia hemolítica, y otros daños tisulares; esfingomielinasa C; fosfolipasa A y otras citotoxinas. Prescott JF, Key D and Osuch M. 1999.

La *L. icterohemorrhagiae* usualmente causa fiebre, hemorragia, anemia, e ictericia; mientras que una severa insuficiencia renal aguda y/o hepatitis crónica activa es común por *L. grippotyphosa*, resultando en una enfermedad mucho más severa que aquella causada por *L. pomona*. Las infecciones por *L. pomona* son a menudo subclínicas, pero es común un estado portador crónico. La infección del perro con *L. canicola* comúnmente resulta en una nefritis intersticial crónica.

Figura 2. Nefritis intersticial y fibrosis como resultado de una infección crónica con *L. canicola*. A la izquierda: superficie renal; áreas más claras representan fibrosis; sobre la derecha: corte de superficie del mismo riñón.



Figura 3. Nefritis intersticial y fibrosis como resultado de una infección crónica con *L. canicola*. Riñón normal (izquierda), riñón enfermo (derecha). - Para ver una magnificación oprima la figura.



Los perros jóvenes no vacunados, o cuyas madres no fueron vacunadas, se encuentran en un mayor riesgo de enfermedad severa y muerte que podría ocurrir debido a una septicemia aguda o anemia hemolítica. Los perros de mayor edad, previamente vacunados, que luego se infectan naturalmente con una cepa homologa al serovar de la vacuna generalmente tienen signos clínicos mínimos.

Durante el período de invasión tisular podría ocurrir necrosis hepática como así también capilar y daño de células endoteliales. Como consecuencia, hemorragias petequiales podrían ocurrir en el parénquima renal junto con daño vascular, nefritis intersticial focal anoxia anémica, y nefrosis hemoglobinúrica. A esta altura puede ocurrir la muerte debido a la falla renal causada por una nefritis intersticial. *Baldwin C., 1986.*

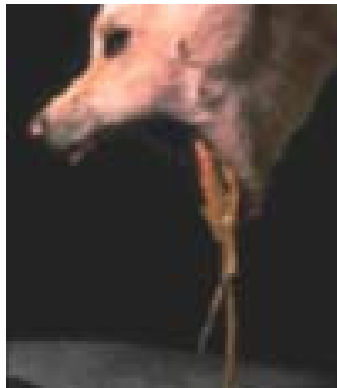
Hacia el final del estadio de bacteriemia, 7 - 10 días pos-infección, la fiebre normalmente baja y las leptospiras desaparecen del torrente sanguíneo a medida que emergen los anticuerpos. La recuperación ocurre a medida que se incrementan los anticuerpos en sangre y la bacteriemia finaliza; la velocidad de recuperación depende del grado de daño visceral. Las leptospiras que se han localizado en los túbulos renales, o tracto reproductivo están protegidas de los efectos bactericidas de los anticuerpos; por lo tanto una leptospiuria persistente puede desarrollarse, con episodios periódicos de fiebre.

La emisión de orina infectada puede durar por períodos prolongados, pero los niveles de anticuerpos eventualmente declinan ya que las leptospiras, protegidas en los túbulos renales, no estimulan la producción de anticuerpos. Eventualmente, los perros recuperados pero excretando, pueden ser seronegativo al analizarse, sin embargo, los organismos continúan multiplicándose y persisten.

La leptospirosis es una zoonosis, es decir que es una enfermedad de los animales que puede ser transmitida a los seres humanos. El contagio puede realizarse a través de la piel especialmente si está escoriada o de las membranas mucosas con elementos contaminados con orina de animales infectad.

La severidad de los signos clínicos se ve influenciada por la edad del perro, estado de vacunación, la virulencia inherente de un serovar de leptospira en particular, como así también la ruta y el grado de exposición. Brown CA, Roberts AW, et al., 1996.

Figura.4 El vomito es común en casos agudos de leptospirosis.



El diagnóstico se realiza por los síntomas y por los exámenes de laboratorio, por determinación serológica y por el hallazgo de leptospiras en el sedimento urinario. Brown, CA, Roberts, AW. et al., 1996.



Figura 5. Los perros con leptospirosis pueden presentar ictericia, especialmente en casos agudos e infectados con *L. icterohemorrhagiae*.

Los perros normalmente tienen conjuntivitis y la membrana mucosa oral congestionada. Además puede haber una tos seca y espontánea acompañada con dificultad respiratoria. Incluso, pueden orinar con frecuencia, a menudo con hematuria y, luego, puede ocurrir anuria. Además puede presentarse hematemesis, hematoquezia, y epistaxis; eventualmente los perros infectados pueden tener las extremidades frías y, finalmente, la muerte en casos no tratados. Los perros con enfermedad aguda además pueden presentar una

deposición grisácea, piel y ojos amarillentos, y desarrollar pérdida de peso crónica. En casos crónicos, puede ocurrir que no exista enfermedad aparente, o solo se presenta fiebre de origen desconocido y leve a severa conjuntivitis. Rentko, VT, et al., 1992.

Inmunidad hacia la infección.

Los perros en diferentes partes del mundo posiblemente se ven infectados por muchos serovares diferentes, pero la prevalencia local varía. Las vacunas actualmente utilizadas en perros en la mayoría de los países contienen los serovares *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*. Brown CA. et al., 1996.

En vacunas más recientes *L. grippityphosa* y *L. pomona* han sido agregadas. El desarrollo de la inmunidad protectora hacia leptospirosis se cree que está asociada con la ozonización y anticuerpos bactericidas dirigidos hacia los y antígenos proteicos asociados.

Vacunas más viejas pueden producir inmunidad la cual es adecuada para suprimir la invasión sistémica por serovares homólogos, pero no para prevenir la colonización renal de un perro, resultando en un estado portador renal. Bey RF y Johnson RC., 1987.

La localización de leptospiras en los túbulos proximales renales, y su supervivencia en el fluido cerebroespinal (CSF) y humor vítreo del ojo en algunos animales infectados, refleja la inhabilidad de los anticuerpos para penetrar en aquellos sitios sin causar inflamación. Debería reconocerse que la protección por vacunas es serovar específica y, en menor extensión, a un serogrupo específico. Bey RF y Johnson RC., 1982

La protección contra leptospirosis está relacionada al nivel de anticuerpos aglutinantes y/u opsonizantes de anticuerpos. A pesar de la disponibilidad de las vacunas por varias décadas, la duración de la inmunidad inducida por la vacuna no se conoce puesto que no existen los estudios de largo plazo. La prueba serológica para la leptospirosis más utilizada es la aglutinación microscópica de *Leptospira* (L-MAT). Detecta bien la respuesta de IgM, pero no es tan eficiente para detectar respuestas de IgG. La declinación

de títulos L-MAT a menudo comienza aproximadamente 16 semanas pos-vacunación, pero títulos más bajos probablemente no indiquen falta de inmunidad, ya que una respuesta anamnésica puede ser suficiente para producir protección contra la enfermedad clínica. Kalin Met al., 1999

La protección aportada por bacterinas de célula completa es corta (aproximadamente, alrededor de 9 meses) sugiriendo que perros con alto riesgo de infección requieran refuerzos al menos dos veces al año.

AL vacunar a un animal debe considerar los serovares de leptospira en una región en particular y determinar que en la vacuna se encuentran los serovares apropiados, como con otras bacterinas, las reacciones adversas a la vacuna pueden ocurrir probablemente debido a los efectos de la leptospira el cual es diferente en estructura de otros lipopolisacaridos bacterianos Gram negativos.

La investigación actual sobre vacunas está enfocada hacia los productos de la subunidad y su objetivo es determinar que fracción o fracciones de la pared celular de la leptospira son inmunogénicas y protectoras sin ser tóxicas al animal. Una vacuna ideal reduciría el índice de reacciones adversas, y así mismo produciría protección contra ambos serovares homólogos y heterólogos. Gitton X, Daubie, et al., 1999.

Diagnóstico

El diagnóstico de leptospirosis en perros depende de la detección de leptospiras en los casos clínicos y/o demostrando un aumento del título de anticuerpos hacia uno o más serovares de leptospira. Rentko, et al., 1992.

Diagnóstico de la enfermedad.

El diagnóstico comúnmente está basado en la sintomatología y los cambios pato morfológicos, la demostración histológica de leptospiras en el riñón o hígado, y la serología; así como una consideración de la situación epizootica.

Diagnóstico epidemiológico: Son de ayuda los datos referentes a la vacunación contra esta zoonosis, la presencia de aguas estancadas, los contactos con animales enfermos o vagabundos, etc.

Existen diferencias entre los serogrupos encontrados en los diferentes países en un estudio epizootológico de la enfermedad realizado en 3 países que demostró que no hay aislamiento de los mismos serogrupos aunque persisten los de *L. canicola* e *icterohaemorrhagiae* y esto es debido a varias causas entre las que se destacan la diversidad de reservorios y condiciones climáticas teniendo en cuenta los ecosistemas, la importación de animales entre países o regiones, los calendarios de vacunación, la formulación de las bacterinas empleadas y además es necesario mencionar la posible variación de la serovariedades utilizadas como antígenos en las pruebas para el diagnóstico serológico de la leptospirosis (50).

Diagnóstico clínico-sintomatológico: Las manifestaciones clínicas de la Leptospirosis son tan variadas que la presencia de la infección no puede ser determinada ni demostrada con seguridad exclusivamente sobre la base de los síntomas y signos. Por ésta razón, es una de las pocas enfermedades cuyo diagnóstico solo se puede establecer con certeza en el laboratorio mediante la comprobación de la presencia del agente causal o por procedimientos serológicos (52).

Diagnóstico Bacteriológico: Comprende la microscopía en campo oscuro, el aislamiento de cultivos de leptospiras con la siembra en medios especiales y la prueba biológica en animales de laboratorios (23, 24, 27, 36, 50).

- a) Se puede hacer la microscopía a una suspensión de tejido de órganos.
- b) Después de la primera semana de la enfermedad es necesario examinar 2 ó 3 muestras de orina emitida u obtenida por cateterismo, ya que las leptospiras son excretadas de forma intermitente.
- c) Cultivar la sangre durante la primera semana de la enfermedad antes de la administración de antibióticos. Transcurrido ese tiempo las posibilidades de aislar leptospiras son cada vez menores a causa de la formación de anticuerpos protectores.
- d) El líquido cefalorraquídeo puede ser recogido durante la primera semana de la enfermedad.

Las leptospiras se pueden aislar en medios específicos y necesita requerimientos de suero de conejo, se mantienen de 25 a 30oC durante un plazo de unos 14 días. Las espiroquetas se pueden ver en el microscopio de campo oscuro teñidas con Giemsa (22).

Para la prueba biológica se infectan hámsteres dorados de 20-30 días o conejillos de 10-20 días con el material a investigar, para aislar cultivos de leptospiras. También histológicamente se puede ver en cortes de riñón e hígado. Es una prueba internacionalmente aprobada para el diagnóstico de la Leptospirosis ya que el Hámster es la especie más susceptible a esta enfermedad. Los animales son inoculados por vía intraperitoneal con suero de animales infectados y se evalúa el comportamiento, después se titulan serológicamente por MAT y se evidencian los niveles de anticuerpos. Esta prueba es usada como control de calidad de los lotes de vacunas contra la Leptospirosis humana y animal (26, 28, 45, 46, 48).

Diagnóstico serológico: Numerosas pruebas han sido propuestas por diversos investigadores para el diagnóstico de Leptospirosis en los animales y el hombre (22).

La prueba de Aglutinación Microscópica (MAT) se emplea para detectar anticuerpos leptospirales en el suero, identificar los aislamientos de leptospiras y clasificar cepas, además de servir de base para evaluar cualquier otro método serológico nuevo para el diagnóstico de la enfermedad (52).

Generalmente se detectan anticuerpos por ésta prueba después de la primera semana de la enfermedad, los que alcanzan los títulos máximos alrededor de la tercera o cuarta semana. Con posterioridad a la infección, pueden persistir títulos bajos de aglutininas durante meses o años. El mayor problema en el uso de esta prueba radica en la ocurrencia frecuente de títulos bajos inconclusivos que pueden ser encontrados en la fase aguda de la leptospirosis, después de una experiencia anterior de la enfermedad, después de la vacunación reciente y en una etapa tardía de la enfermedad debido a la terapia antibacterial (36). Como consecuencia no se puede llegar a conclusiones directas basándose en un solo título. Por ésta razón es necesario examinar por lo menos 2 muestras de sangre cada vez que sea posible. Para los carnívoros domésticos la técnica aceptada internacionalmente para el diagnóstico serológico es la Microaglutinación (MAT) con antígeno vivo. Esta se realiza en suero sanguíneo límpido, no hemolizado. Esta prueba descrita por la OPS sigue siendo la prueba diagnóstica de uso y reconocimiento oficial, esta técnica tiene la ventaja de ser serovariedad específica, es muy laboriosa y el número de sueros que una persona puede analizar en el día es limitado (22, 27, 36, 38, 39, 50, 54, 65, 71).

Dentro de las otras pruebas que se han empleado se incluyen la prueba de aglutinación macroscópica en placa, de fijación de complemento con antígenos desintegrados por vibraciones ultrasónica, y de hemoaglutinación; y más recientemente se ha descrito la contrainmunolectroforesis y la técnica de anticuerpos fluorescentes en suero y tejidos (52).

Otros diagnósticos:

En 1984 se describió un método de ELISA (Enzimed-Linked Immunosorbent Assay) para la detección de inmunoglobulinas M y G anti-leptospiral específico en el suero de perros durante la infección y la vacunación (23, 37, 32, 36, 46, 70). Esta prueba, aunque no es disponible como el MAT, ayuda en la diferenciación.

Son utilizadas las Inmunofluorescencias, aunque no son muy prácticas ya que se han desarrollado para una serovariedad, por lo que se ve limitado el diagnóstico.

También se ha empleado la técnica de inmunoblot como ensayo serológico para el diagnóstico de la Leptospirosis (54).

Existen técnicas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que también se ha aplicado al estudio de la Leptospira (50). Existen estudios recientes en que se utiliza la PCR para identificar la presencia del microorganismo en tejidos y orina de animales vacunados con el propósito de saber si la bacterina fue capaz de evitar la infección o solamente la enfermedad.

Con la aparición de la prueba de PCR, la detección rápida de género y serovar específico de leptospiras a partir de especímenes clínicos debería ser posible. Este método está siendo más utilizado en laboratorios de diagnóstico y permite una identificación precisa y rápida, no obstante el método de referencia es aún la MAT.

Diagnóstico mediante otras pruebas complementarias: (35, 43, 44, 46)

Hematológicas:

Leucocitosis (15,7-25,4 x 10⁹/l): se considera que es debido a las manifestaciones polisistémicas de la insuficiencia renal y uremia causado por la localización de las leptospiras en los riñones.

Neutrofilia: con desviación a la izquierda (en tiempo de presentación)

Eritrosedimentación acelerada.

Trombocitopenia y hematosi anormal refleja coagulación intravascular diseminada.

Químicas:

Azotemia

Aumento de las enzimas hepática y bilirrubina (para *L. icterohemorrhagiae*).

Desbalances electrolíticos, que reflejan efectos renales y gastrointestinales.

Se ha encontrado un aumento en el suero de los productos de degradación de fibrinógeno, una de las causas de los trastornos en la coagulación.

Urianálisis:

Proteinuria, piuria, cilinduria, bilirrubinuria, isostenuria.

Diagnóstico Anatomopatológico:

Los ganglios linfáticos pueden estar hemorrágicos. Otros cambios incluyen petequias y equimosis sobre muchas serosas, los pulmones pueden estar edematosos. Se pueden ver ulceraciones focales de la cavidad bucal o la lengua en el animal urémico. La hepatomegalia y la ictericia son observaciones ordinarias en las infecciones con *L. icterohaemorrhagiae*, en tanto que unos riñones agrandados y pálidos son típicos de los cuadros inducidos por la *L. canicola*. Los casos crónicos tienen diferentes grados de nefritis intersticial (42).

Histopatología: Se emplean tinciones especiales, por ejemplo, tinción de plata de Warthin-Starry ó por inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos monoclonales, deben ser realizados en secciones fijadas en formalina de tejido renal, hepático, y feto/placentario.

Diagnóstico Diferencial:

Al ser ésta una entidad que afecta varios órganos y sistemas con variadas formas clínicas, debe ser distinguida de numerosas otras entidades. Se debe diferenciar de aquellos procesos febriles, ictericos, hemorrágicos, de procesos con alteraciones renales o meníngeas o una combinación de varias de estas manifestaciones.

Estas incluyen:

Moquillo canino: leucopenia, curva bifásica de temperatura, conjuntivitis purulenta.

Hepatitis contagiosa canis: al comienzo leucopenia, laringo-faringitis y amigdalitis como enfermedad secundaria, enturbamientos corneales, proteinuria. Además en esta hay falta de coagulación en la sangre, que en la Leptospirosis no se encuentra.

Gastroenteritis: generalmente sin o solo con escasa nefritis.

Toxoplasmosis: examen serológico, raras veces proteinuria y nefritis. La forma gástrica es difícil de diferenciar clínicamente. En la leptospirosis la respuesta a los antibióticos generalmente es rápida. Pueden ocurrir a la vez.

Listeriosis: examen serológico.

Ictericia: frecuentemente muy difícil de distinguir.

Nefritis

Intoxicaciones

Babesiosis

Ehrlichiosis

Es poco probable que las infecciones subclínicas sean diagnosticadas. Los diagnósticos diferenciales de enfermedad peraguda o aguda en el perro incluyen enfermedad por gusanos cardiacos (dirofilariosis), anemia autoinmune hemolítica, bacteriemia (debido a heridas por mordedura, prostatitis, enfermedad dental), hepatitis infecciosa viral canina, neoplasia hepática, trauma, Lupus, fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, Ehrlichiosis, toxoplasmosis, neoplasia renal, y cálculos renales. Baldwin CJ., 1987.

Los diagnósticos diferenciales de enfermedad crónica, por ejemplo, aborto, síndrome del cachorro débil, incluyen brucelosis canina, infección canina por herpesvirus y distemper. Los análisis de laboratorio incluyen perfiles químicos hematológicos y del suero, urianálisis, serología y estudios bacteriológicos y virales de animales afectados. Bey RF y Johnson RC., 1982

Serología

La actual prueba de diagnóstico "optimo estándar" para leptospirosis es la prueba microscópica de aglutinación para *Leptospira* (L-MAT) realizado durante el estadio agudo de la enfermedad; un segundo suero (convaleciente) debería obtenerse dentro de las 3 o 4 semanas. La serología para *Leptospira* es imprecisa, pero se pueden hacer generalizaciones con respecto a la interpretación del resultado de L-MAT. Los anticuerpos son detectados por primera vez entre el día 7 - 10 pos-infección en el perro. En perros no vacunados los títulos inicialmente pueden ser bajos, 1:100 a 1:200, pero pueden incrementarse en la muestra convaleciente a 1:800 a 1:1600 o estar más elevados si se utiliza como antígeno un serovar homólogo de *Leptospira*. Biancifiori et al., 1983.

En animales vacunados, títulos agudos de niveles menores ($>1:400$) son encontrados a menudo, pero dependen de cuando el perro fue vacunado por última vez. Myers, 1985.

La respuesta a la infección en animales previamente vacunados generalmente resulta en respuestas anamnésicas solo para el serovar homólogo.

En general, un aumento cuádruple en el título de anticuerpos a un serovar de *Leptospira* es considerado significativo. Cuando los títulos a un serovar específico alcanzan niveles mayores, por ejemplo, 1:3200 a 1:6400, no es raro ver títulos elevados contra otros serovares, lo cual es probablemente sea debido a reacciones cruzadas. Para comparaciones exactas, todas las muestras de suero deben analizarse al mismo tiempo. Prescott JF, 1999.

El tratamiento antimicrobiano afecta adversamente el desarrollo de los títulos de anticuerpos. Debido a esto, las primeras muestras de suero deben obtenerse antes de iniciar el tratamiento con antibiótico.

El análisis de orina por microscopio de campo oscuro y anticuerpos fluorescentes (FA).

A menudo el examen de orina con microscopio de campo oscuro es inconcluso. Es difícil de leer, y requiere orina fresca a fin de poder observar células de *leptospira* intactas.

En contraste, el examen del sedimento de orina centrifugada mediante (FA) es una prueba más definitiva y las leptospiras no necesariamente deben estar viables. La orina debe ser entregada al laboratorio refrigerada adecuadamente de un día para otro para asegurar que la muestra es de buena calidad.

Es esencial correlacionar los resultados de FA con la historia clínica y de vacunación ya que las leptospiras son comúnmente vistas en la orina de perros portadores seronegativos y en perros con enfermedad clínica tan temprano como 1 semana pos-infección. Biancifiori et al., 1983.

Cultivo

El cultivo antemortem de fluidos corporales (orina, sangre, humor acuoso) y el cultivo de tejidos posmortem (riñón, hígado, feto, placenta) no es práctico debido a lo difícil de la enfermedad. Si el cultivo se va a intentar, los veterinarios deberían contactar su laboratorio diagnóstico para utilizar el medio de transporte correcto para *Leptospira*.

Prueba de (FA) Anticuerpos fluorescentes.

FA debería realizarse en todos los tejidos entregados para estudios pos mortem, especialmente importantes son las muestras de riñón e hígado.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Con la aparición de la prueba de PCR, la detección rápida de género y serovar específico de leptospiras a partir de especímenes clínicos debería ser posible. Este método está siendo más utilizado en laboratorios de diagnóstico y permite una identificación precisa y rápida. (Office International des Epizooties. Leptospirosis, 2000.)

Histopatología

Tinciones especiales, por ejemplo, tinción de plata de Warthin-Starry o por inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos monoclonales, deben ser realizados en secciones fijadas en formalina de tejido renal, hepático, y feto/placentario. Birnbaum N, et al., 1998.

Tratamiento y control

El propósito o fin del tratamiento de casos agudos de leptospirosis canina es el control de la infección antes de que se produzcan los daños irreparables al hígado y riñones, y suprimir la leptospiuria. Casos severos y agudos requieren un alto grado de cuidados de soporte para la supervivencia; la pronta administración de fluidos es esencial. El pronóstico es reservado para pacientes con falla renal aguda y/o enfermedad hepática. Rentko, VT. et al., 1992.

Los dueños deben ser advertidos de que la leptospirosis es una enfermedad zoonótica que se disemina principalmente por orina de perros infectados. La zona de habitación y áreas externas de un perro infectado necesitan ser tratadas con desinfectantes apropiados. Además, los perros deben evitar, aguas estancadas lodosas y roedores. El control de roedores debe instituirse. La vacunación se recomienda en áreas endémicas. Los perros usualmente se recuperan después de 2 semanas, si son tratados prontamente con antibióticos y fluidos endovenosos. Sin embargo, si el daño renal o hepático es severo la infección puede ser fatal.

Un tratamiento exitoso depende de una evaluación de la severidad de la enfermedad del perro. La terapia antimicrobiana inicial, donde hay evidencia de disfunción renal y/o leptospiremia, debería incluir el uso de penicilina G procaina (40,000 a 80,000 unidades por kg, IM, una vez al día, o en dosis divididas, dos veces al día) hasta el retorno de la función renal. También pueden utilizarse fármacos alternativos en lugar de penicilina, como ampicilina o amoxicilina. La eliminación de leptospiras del tejido intersticial renal a fin de controlar el estado portador se logra mejor utilizando dihidroestreptomina (10 a 15 mg / kg, IM, dos veces al día por 2 semanas) o estreptomina; sin embargo estos fármacos no están disponibles en los Estados Unidos para una terapia de rutina. La doxiciclina no está formalmente aprobada, pero una administración oral de 5.0 mg por kg una vez al día ha sido propuesta. Adin y Cowgill ,1990.

Los aminoglicosidos no pueden utilizarse en pacientes hasta que se restablezca la función renal, Faine S. 1982. Guidelines for the control of leptospirosis. WHO Offset publication No. 67. Geneva: World Health Organization.

Por lo tanto los métodos de control deberían incluir vacunación, especial atención a sanidad de perreras para eliminar el contacto con fuentes potenciales de orina infectada; conocimiento de que los perros en mayor riesgo son las razas de caza, perros de exhibición, y otros perros con acceso a aguas

como lagunas; instituir un control sobre roedores en toda la vivienda y en las perreras. Adin y Cowgill., 1990.

Tratamientos medicamentosos

Hay diferencias significativas en la respuesta del huésped a ciertas vacunas y dependen de la vía de administración. Se ha reportado que para la vacuna contra la rabia, la vía intramuscular es mucho mas efectiva que la subcutánea (13).

A partir de la vacunación vía subcutánea y la intravenosa en grupos de perros vacunados inoculados con cepas virulentas, se obtiene protección total después de la vacunación intravenosa en unas 48 horas y en 5 días por vía subcutánea. Como regla no se recomienda la vía intravenosa, solo en caso de urgencia. Se recomienda la vía intramuscular, la cual goza de preferencia. Además se pueden emplear las vías oral y oculonasal (11).

La inmunización oral no solo es menos eficaz que la parenteral, sino que se ha encontrado que la administración carece de efecto a menos que haya una inmunización intranasal simultánea. Se debe intentar proteger el sitio de infección, por tanto, la inmunización local puede ser más eficaz cuando el sitio primario de replicación es en el tracto respiratorio o gastrointestinal.

Prevención (Vías de vacunación).

La prevención se ha hecho posible y técnicamente factible al desarrollar vacunas seguras y eficaces que son fáciles de administrar y ofrecen protección a largo plazo. El propósito de un programa de vacunación es prevenir el desarrollo de la enfermedad clínica manifiesta, ya sea mediante prevención o limitación de la infección. Si se planean en forma adecuada, los programas de vacunación pueden mejorar el cuidado de los animales. Este aspecto del programa de vacunación lo han abandonado muchos clínicos, pero debería considerarse como una fracción importante de un programa sólido de salud animal. Sin embargo es un tema muy polémico en la actualidad en muchas partes del mundo ya sea por veterinarios o por criadores.

Debido a las características de la enfermedad se hace necesario tener una buena profilaxis para su prevención en la especie canina. Se dispone de bacterinas inactivadas bivalentes que contienen dos serovariantes (*L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*). Existen numerosas firmas comerciales que se dedican a la producción de vacunas contra los serogrupos de *Leptospira* de más alta incidencia, combinadas con vacunas virales tales como parvovirus, moquillo canino, hepatitis canina, y rabia (6, 59). Estas vacunas han mostrado de forma general una alta eficacia y efectividad contra los diferentes serovares de *Leptospiras*, las principales firmas son: Vanguard 7; Pfizer Sante Animale, Dohyvac 7L; Fort Dodge, Nobivac DHPPi + Lepto; Intervet International, entre otras (2).

Los perros deben ser vacunados a los 9, 12 y 15 semanas de edad. Por lo menos se requiere 3 dosis para la inmunización primaria. La revacunación anual se recomienda cada 6-8 meses. Otros productores recomiendan las bacterinas de *Leptospiras* muertas aunque la inmunidad es de corta duración y se deben repetir las vacunaciones con intervalos de 6 meses para la protección adecuada (7, 16, 26, 34, 58).

La inmunización ha sido eficaz para reducir la prevalencia e intensidad de la Leptospirosis. No obstante, no impide el estado de portador ni protege contra la infección de otras serovariantes. Se ha descrito la vacunación de los cachorros entre 8 y 12 semanas de vida con vacunas mono y polivalentes, donde se ha obtenido que ambas combinaciones son eficaces (7, 16, 26, 34, 58). Actualmente se plantea que se debe considerar la aplicación de algunas vacunas comerciales que protegen contra los serogrupos *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae* ya que protege contra las infecciones clínicas pero convierte al animal en portador subclínico para perros que no se han vacunado o que han descontinuado el ciclo anual de vacunación.

Algunos autores recomiendan la vacunación cuando el cachorro tiene 9 semanas o más de vida, con una segunda dosis a las 2 ó 3 semanas después de un periodo similar o cuando se aplica la vacunación final contra el virus de la enfermedad de Carré y Hepatitis (14, 15, 25, 41). Otros proponen no vacunar a los cachorros hasta pasados los 4 meses de edad. Éstos plantean la inocuidad

que presentan las vacunas contra la leptospirosis y que éstas sólo pueden ocasionar reacciones mínimas en los animales (25).

La vacunación con bacterinas puede estimular concentraciones significativas de aglutininas, pero sin exposición previa, los títulos de aglutinación por microscopía, disminuyen de 2 a 3 meses. Para reducir la posibilidad de exposición se aconseja a los dueños que controlen a los roedores y mantengan a los perros con correa. Durante la epidemia debe recomendarse que el animal se mantenga dentro de la casa. Se dispone de Bacterinas bivalentes que deben administrarse cada 6 a 8 meses para mantener un título protector en perros a riesgos elevados, como son exhibiciones, uso de sementales o los perros de caza. Si la leptospirosis se diagnostica en una perrera debe considerarse el tratamiento y vacunación de todos los perros presentes en la misma. Los perros que entran en contacto con los animales salvajes deben recibir Bacterinas que contengan antígenos *L. gripotyphosa* y *L. pomona*.

Esta enfermedad ha sido señalada como un problema económico-social por diferentes investigadores en diversos países, haciéndose imprescindible extender la lucha sistemática contra ésta zoonosis. Las medidas de control deben dirigirse hacia las campañas de desratización y eliminación de los animales de vida libre que pueden ser posibles portadores y diseminadores de la enfermedad y la vacunación de los animales susceptibles. También debe tenerse en cuenta las infecciones propagadas por cerdos que son portadores sanos de la enfermedad. La vacunación reduce la incidencia y la severidad de la Leptospirosis pero no evita las infecciones subclínicas o eliminación en la orina (5).

Otras medidas que deben adoptarse son que los dueños deben evitar que el perro consuma o se bañe en aguas estancadas, que no salgan de forma descontrolada y un manejo cuidadoso del perro, evitando el contacto con la orina debido al carácter zoonótico de la enfermedad (5, 17, 29, 26, 29, 33, 44).

La Empresa productora y comercializadora de medicamentos veterinarios LABIOFAM, en Cuba, desarrolló una vacuna contra *Leptospira interrogans* serovares *pomona*, *canicola*, e *icterohaemorrhagiae* para perros con vistas a cubrir la campaña de vacunación en las clínicas de todos los municipios del

país como parte del programa de control de enfermedades zoonóticas. Esta vacuna constituye a partir de su registro, tiene más de un 95 % de eficacia y es utilizada en la protección de la especie canina en el país. No obstante se debe tener en cuenta el control integral de la enfermedad ya que solo con vacunación no se resuelve el problema, es necesario mantener una higiene ambiental en las casas, mantener el control de los vectores en especial los roedores y reportar de inmediato al sistema nacional de salud cualquier caso en humano y mantener un control estricto de la salud de las mascotas así evitaremos que esta enfermedad constituya un verdadero problema de salud.

Cuadro 1 Seropositividad de leptospirosis según sexo y edad en perros en Buenos Aires Argentina. 1992

Edad (años)	Positivos/examinados (%)		
	Machos	Hembras	Total
<1	5/18 (28)	7/18 (39)	12/36 (33)
1	13/18 (72)	7/13 (54)	20/31 (64)
2 a 3	28/35 (80)	9/19 (47)	37/54 (68)
4 a 5	12/21 (57)	7/17 (41)	19/38 (50)
6 a 7	11/16 (69)	2/5 (40)	13/21 (62)
8 a 12	16/26 (61)	2/3 (67)	18/29 (62)
Total	85/134 (63)	34/75 (45)	119/209 ^a (57)

^a No se incluyeron 14 perros de edad desconocida.

Conclusiones:

La Leptospirosis es una enfermedad que ha ido en aumento, en varios países y aquí en México, por motivos diversos en los que destacan, el mal uso de serovares en distintas zonas epidemiológicas, un mal diagnóstico, así como las diversas condiciones de ambientales y microclimas que favorecen el establecimiento de esta enfermedad.

Literatura citada

1. Adin CA and Cowgill LD. Treatment and outcome of dogs with leptospirosis: 36 cases (1990 - 1998). 2000. J Am Vet Med Assoc; 216:371-375.
2. Alton GD, Berke O, Reid-Smith R, Ojkic D, Prescott JF. Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors, Ontario 1998-2006. Can J Vet Res. 2009 Jul;73(3):167-75.
3. André FG, Ruvoen CN and Ganière JP. 1994 Dog leptospirosis: new topics. Recueil de Médecine Vétérinaire; 170:663- 668.
4. Baldwin CJ and Atkins CE. Leptospirosis in dogs. 1987 Comp Cont Educ Pract Vet; 9:499-507.
5. Barcellos C, Chagastelles P. Socio-environmental determinants of the leptospirosis outbreak of 1996 in the western Rio de Janeiro: a geographical approach. 2000 Int . J. Environ Health Res; 10:301-13.
6. Bey RF and Johnson RC. 1982 Immunogenicity and humoral and cell-mediated immune responses to leptospiral whole cell, outer envelope, and protoplasmic cylinder vaccines in hamsters and dogs. Am J Vet Res; 43:835-840.
7. Biancifiori F and Cardaras P. 1983 Enzyme-linked immunoassay in the diagnosis of leptospirosis in domestic animals using peroxidase-conjugated protein-A. Comp Immunol Microbiol Infect Dis; 6:57-65.
8. Birnbaum N, Barr SC, Center SA, et al. 1998 Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs: serological and clinicopathological features. J Small Anim Pract; 39:231-236.
9. Brown CA, Roberts AW, Miller MA, et al. 1996 *Leptospira interrogans* serovar grippityphosa infection in dogs. J Am Vetm Med Assoc; 209:1265-1267.
10. Cárdenas-Marrufo María Fet al., 2003. prevalencia de leptospirosis canina en el municipio de Mérida Yucatán Number 3 Julio-Septiembre July-September 2003 Volumen Volume 23 Asociacion Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, AC
11. Faine S. et al., 1982. . Guidelines for the control of leptospirosis. WHO Offset publication No. 67. Geneva: World Health Organization; 1982.
12. Gitton X, Daubie MB, André F, et. al. 1994 Recognition of *Leptospira interrogans* antigens by vaccinated or infected dogs. Vet Microbiol; 41:87-97.

13. Ribotta M, Higgins R, Gottschalk M, Lallier R. 2000. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs. *Can J Vet Res*;64:32-7.
14. Rubel D, Seijo A, Cernigoi B, Viale A, Wisnivesky- Colli C. 1997 *Leptospira interrogans* en una poblacion canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. *Rev Panam Salud Pública*;2:102-5.
15. Kalin M, Devaux C, DiFruscia R, et al. 1999 Three cases of canine leptospirosis in Quebec. *Can Vet J*; 40:187-191.
16. Prescott JF, Key D and Osuch M. 1999 Leptospirosis in dogs. *Can Vet J*; 40:430-431.
17. Prescott JF, Ferrier RL, Nicholson VM, et al. 1991. Is canine leptospirosis underdiagnosed in southern Ontario. A case report and serological survey. *Can Vet J*; 32:481-486.
18. Rentko VT, Clark N, Ross LA, et al. 1992 Canine leptospirosis. A retrospective study of 17 cases. *J Vet Intern Med*; 6:235-244.
19. Rubel, Diana, Seijo, Alfredo., et al., 1992., *Leptospira interrogans* en una poblacion canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*
20. 18. Thiermann AB. 1980; Canine leptospirosis in Detroit. *Am J Vet Res* 41(10):1659–1661.
21. Myers DM. 1985. Leptospirosis. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio. Nota técnica No. 30. Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS;
22. Office International des Epizooties. Leptospirosis. En: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Fourth edition. Paris: Office International des Epizooties; 2000. p.265-72
23. Ribotta M, Higgins R, Gottschalk M, Lallier R. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs. *Can J Vet Res* 2000;64:32-7.
24. Scanziani E, Origgi F, Giusti A, Iacchia G, Vasino A, Pirovano G, et al. 2002. Serological survey of leptospiral infection in kennelled dogs in Italy. *J Small Anim Pract*;43:154-7.
25. Bachrach, H.L. (1985): New approaches to vaccines. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 30 1-38.

26. Andre-Fontaine G, Branger C, Gray AW, Klaasen HL. (2003). Comparison of the efficacy of three commercial bacterins in preventing canine leptospirosis. *Vet Rec.* Aug 9;153(6):165-9.
27. Bergey (2000). Taxonomic outline of the Archea and Bacteria. *Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology*. Second edition. Bergy's Manual Trust.(PDF), 23.
28. Bernardini, S.; Bizzoti, M.; Buonaccorsi, A. (1993): Fibrinogen Degradation Products (FDP) in canine diseases. *Obiellivie Documenti Veterinari*, 14:6.
29. Boffil, P.; Ramírez, W.; Martínez, A. (1980): *Manual de enfermedades infecciosas*. Ediciones ENPES. 77-92.
30. Branford's (1998): Vaccinating your Schnauzer. HP: <http://www.Branford.htm>.
31. Brent, G. (1998): Leptospirosis vaccination not recommended for puppies. (Kansas States University's) Crister Chart Publishers. Bolletin Manhatan, CSU, USA.
32. Brunner C.J. y Muscoplat, C.C. (1980): Immunodulatory effects of levamisole. *JAVMA* 176 1159-1162.
33. Buonawoglia et al. (1984): Leptospirosis. *Revista Zoot. Vet.* 2:305-309.
34. Buonawoglia et al. (1985): *Clínica Veterinaria*, Revista Zoot Vet. 108 19-23.
35. Buonawoglia et al. (1996): *Boll. AIUPA*, 133-36.
36. Burtonboy, S.; Charlier, P.; Hertoghs, S.; Lobman M.; Wise, M.A.; Wood, S. (1991): Performance of high titre attenuated Canine Parvovirus Vaccine in Pups with maternally derived antibody *Vet. Rev.* 124 377-381.
37. Cecsa (1988): *Terapéutica veterinaria. Práctica Clínica en especies pequeñas*. Editorial Continental. México.
38. Chapman, A..J.; Faine, S.; Adler, B. (1990): Antigens recognized by the human immune response to vaccination with a bivalent hardjo/pomona lectospiral vaccine. *FEEMS Microbiol. Immunol*, 64, 111-118.
39. Chappius, G. (1996): Control of canine distemper. *International Symposium on Monbillivirus infections. Objetive Documenti Veterinari* 16: 7-13.
40. Cooper, P.E. y Chappuisg (1991): Monovalent and combined vaccines in dogs. *Obgettivi e Documenti Veterinati* 12:10, 25-30.

41. Cornide, Rosa; Ruiz, A.; Ortiz, D. (1985): Leptospirosis en caninos de la provincia Guantánamo (municipios Maisí y Baracoa). Revista Cubana de Ciencias Veterinarias. Vol 16 N-2.
42. Cornwell, H.C. y Thompson, H. (1982): Vaccination in the dog. In Practice 4 153-157.
43. Cosgriff, M. (2001): Comentarios sobre Leptospirosis Canina en Massachusetts, EEUU. Notas de prensa Sanidad Animal, Abril 17/28 Maquina de búsqueda Saninet.
44. Cruz R.; Acosta C.; Sosa F.; González, María T. (1989): Leptospirosis. Cornell Vet. 81 (1): 7-12.
45. Davidson, I. (1975): Testing veterinary vaccine. Vet. Rec. 97 389-392.
46. Dorta de Mazzone, Telma Gleyre. (1994): Comisión científica permanente sobre Leptospirosis. Manual de Leptospirosis. Asociación Argentina de veterinarios de laboratorio de diagnóstico.
47. Esther V.E. Valhuerdi (1989) : Utilización del Test de Elisa para el diagnóstico de la Leptospirosis humana. Tesis de Grado.
48. Ettinger, SJ. y Feldman, C. (1997): Tratado de Med. Vet. Enfermedades del perro y el gato. Edición intermédica , 450-457.
49. Fideney de Vilarnovo, Laura E. (2000): Principales enfermedades infecciosas que pueden atacar nuestros perros. HP: www.Pet.Web.com.
50. Ford, RB y Schultz, RD. (1999): Vacunas y Vacunaciones. Emisiones por el 21st. Siglo. En: JD Bonagura, ed. Iglesia Terapia Presente Veterinaria XIII, W.B. Saunders, Filadelfia,. pp: 250-253.
51. Gaia, O.; Francoi, S.; Rondelli, Fain Binda; Gherardi, S.; Didoli, G.; Colle, N; Marro, A.V.; Molinari, C.; Hurdalo, J. C. (2000): Alta Incidencia de Enzoótias en Perreras. Comisión científica de Leptospirosis. Argentina. Informes anuales (1987-2000).
52. Ghermani A. y Karaff W. (1987). Dos Weisse blutbild van uberlebenden im vergleich mit Gestorbenen parvovirose kenken hunden. Tierarztlichepraxis 15(4) 409-415.
53. González, Isabel R. (1987): Leptospirosis en la provincia de Guantánamo. Tesis de candidatura a Doctor en Ciencias Biológicas. Academia de Ciencias de Cuba. Inst. de Ecología y Sistemática.
54. Good Clinical Practice (2000): Recommended for Implementation at Step 7 of the VICH Process on 15 June 2000 by the VICH Steering Committee.

55. Guide for the Care and use of Laboratory Animals.(1996) National Research. Council.Wash. D.C.
56. Guidelines for breeding and Care of Laboratory Animals.(1998) World Health Organization and Institucional Council for Laboratory Animals Science (ICLAS).
57. Halasa, M.; Plesko, I. (1969): La leptospirosis en los animales y en el hombre. A. J. Hyg 65: 43-56.
58. Harkin, K.R. (1996): Leptospirosis canino en New Jersey y Michigan: 17 casos (1990-1995). J Es Anim Hosp Assoc. Nov-Dec; 32 (6): 495-501.
59. Hartman, E.G; Van Den Ingh, T.S.G.A.M; Rothuizen, J. (1996): Clinical Pathological and Serological features of Spontaneous canine Leptospirosis. an evaluation of the IgM. and IgG. specific ELISA. Veterinary Immunology and Immunopathology. Vol 13 N-3.
60. Hartskeerl, R. (1997): Recommended Case Definition. HP: <http://www.monash.edu.au/informatics/micro/departament/ilspage.htm>.
61. Hoskins J.; Abood, Sarah; Dunn, T.; Polly, D; Willard, M. (1996): Clinical Management of canine parvovirus. Canine Practice. 21(1) 20.
62. Huhn, R.G et al (1975): Immunity to Leptosp. Antiser. in Dog and Hámster.A.J. Vol 36(1): 67-70.
63. Huhn, R.G et al (1975): Immunity to Leptosp. Bact. in Dog and Hamster.A.J. Vol 36(1): 71-74.
64. Ilezyszyn, Gabriela R.; Guri, J.C. (1999): ¿Qué es la Leptospirosis?. HP: <http://www.sistecol.com/purina/cuidame/leptos.htm>.
65. Intervet Inter. (1997). Leptospira-Serovar definition. E-mail: info@intervet.akzonobel.nl.
66. Iwamoto E, Wada Y, Fujisaki Y, Umeki S, Jones MY, Mizuno T, Itamoto K, Maeda K, Iwata H, Okuda M. Nationwide survey of leptospira antibodies in dogs in Japan: results from microscopic agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay. J Vet Med Sci. 2009 Sep;71(9):1191-9.
67. Jubb, KV.; Kennedy, PC. (1983): Patología de los animales domésticos Editorial Cienciay Técnica. La Habana, 369-370.
68. Kirk, RW. (1988): Práctica clínica en pequeñas especies. Editorial CECSA, México, 1140-1142.
69. Kingscote, B. F. (1986): Leptospirosis, an occupation Hazard to Veterinarians La Revue Vétérinaire Canadienne. Vol 27 N-2.

70. Kogika, M.N.; Hagiwara, M.K. (1992): Metastatic calcification in a dog with leptospirosis. *Canine Practice*, 17:4, 35-38.
71. Krall, P. (1986): El perro sano y el enfermo. Tercera impresión Mailloux, J. et al (1984) Application of an Inmunoenzimatic technique to tritation of antibodies in Leptospirosis: *ELISA Zbl.Bakt. Hyg.A* 257: 511-513.
72. Marcaney L.; Panish C.; Ben, C. (1988): Characterization of minute virus canine and its pathogenicity for pups. *Cornell Veterinarian* 78 (2) 131-145.
73. Merchant, P. (1973): *Bacteriología y Virología Veterinarias*. Editorial Pueblo y Educación, 587-602.
74. Milani, G. (1997): Tesis sobre Med. Vet. Instituto de enfermedades infecciosas, profilaxis y policia veterinaria. Universidad de Balogna.
75. Millán J, Candela MG, López-Bao JV, Pereira M, Jiménez MA, León-Vizcaíno L. Leptospirosis in wild and domestic carnivores in natural areas in Andalusia, Spain. *syngamustrachea@hotmail.com Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009 Oct;9(5):549-54.
76. Minke JM, Bey R, Tronel JP, Latour S, Colombet G, Yvrel J, Cariou C, Guiot AL, Cozette V, Guigal PM. Onset and duration of protective immunity against clinical disease and renal carriage in dogs provided by a bi-valent inactivated leptospirosis vaccine. *Vet Microbiol.* 2009 May 28;137(1-2):137-45. Epub 2009 Jan 4.
77. Moles, L.P.; Banaca, J.I. (2000): Aspectos epidemiológicos de la Leptospirosis en México. *Gac.Med.Mex* 1331(3): 289-292.
78. Moraillon, A. (1998): Leptospirosis canina. *Rev. Med. Vet.* 179 653- 662.
79. Myers, M.D. (1985): Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis. Centro Panamericano de Zoonosis.
80. Niemand, H.G. (1987): *Prácticas de clínica canina*. Edit. Continental.
81. Okuda M, Sakai Y, Matsuuchi M, Oikawa T, Watanabe M, Itamoto K, Iwata H, Kano R, Hasegawa A, Onishi T, Inokuma H. (2005). Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of canine *Leptospira* antibodies using recombinant OmpL1 protein. *J Vet Med Sci.* Mar;67(3):249-54.
82. Ortega-Pacheco A, Colin-Flores RF, Gutiérrez-Blanco E, Jiménez-Coello M. Frequency and type of renal lesions in dogs naturally infected with leptospira species. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Dec;1149:270-4.

83. Pappas, M.G. (1985): Rapid serodiagnosis of Leptospirosis using the IGM specific dot-ELISA: Comparison with the microscopic agglutination test. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* Vol 34 (2) pp: 46-354.
84. Pollock, R.V.; Coyne, M.H. (1996): *Vet. Clin. Of north Am/Sm. Anim Practice*, (23) 555-567.
85. Registro Sanitario de la Vacuna cubana contra Leptospirosis humana (1997) Instituto Finlay.
86. Rentko, V.T. (1997): Leptospirosis canina. Un estudio del retrospectivo de 17 casos. *J.Vet Interna Med.* Jul-Aug; 6 (4): 235-44.
87. Richard, M. (2000): *Canine Encyclopedia*. Cap. Dog Vaccines and vaccinations. Cop 1996-2000.
88. Segura, H. (2000): Principales enfermedades infecciosas causantes de muertes en los perros. E-mail: pitbullcaracas @yahoo.com.
89. Smith, C. (1997): Isolation of Leptospire. University of Belgrade and Royal Tropical Institutes, Amsterdam. *JAVMA* 184 (6) 722-725.
90. Software (1997): University in Belgrado. Royal Tropical, Institute Amsterdam. Leptospirosis- Chronological list of serogroup.
91. Swango, I.; Fortney, B.; Leedy, D.; Barta R.; Garnett, P.B.; Stevenson, J. (1996): Choosing a Canine Vaccine Regimen. *Canine Practice*. 20 (3,5,6).
92. Strasser A, May B, Teltscher A, Wistrela E, Niedermuller H. (2003). Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* Aug 15;94(3-4):113-21.
93. Technical Handbook. Biological Diagnosis Leptospirosis- Lyme Borreliosis. (2000): Ed. By Institut Pasteur, Paris, Francia.
94. The Merck Veterinary Manual. (1991) 7th Edition.
95. Tizard, I. (1984): *Immunology. An Introduction*. CBS Colegr Publishing. Philadelphia. Texto básico de inmunología.
96. Valcik, M. (1988): Humoral immunity in pregnant bitches and their puppies after inoculation of six immunogens. *Acta-Veterinaria Beograd*, 38:4, 171-180.
97. Vashi NA, Reddy P, Wayne DB, Sabin B. Bat-associated leptospirosis. *J Gen Intern Med.* 2010 Feb;25(2):162-4. Epub 2009 Dec 9.

98. Venkataraman, K.S. y Nedunchelliyan, S. (1996): Seasonal incidence of canine leptospirosis in Madras City. *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 21:2, 145-146.
99. Venkataraman, K.S. (1996): Serodiagnosis of canine leptospirosis by ELISA. *Indian Journal of Veterinary Medicine*, 12:1, 37-38.
100. Villegas, O.H. (2000): Leptospirosis CIE-9 100 y CIE-10 A27.9. OPS El control de las enfermedades transmisibles al hombre. Pub. Cient. No.538 15ª Ed. Informe Oficial de la A.E. de Salud Pública.
101. Wisconsin, I. (2000): Disease Fact Sheet Series: Leptospirosis Programs and Service. HP: www/Etiología/Leptos/htm.
102. Whitney EA, Ailes E, Myers LM, Saliki JT, Berkelman RL. Prevalence of and risk factors for serum antibodies against *Leptospira* serovars in US veterinarians. *Am Vet Med Assoc*. 2009 Apr 1;234(7):938-44.
103. Zakeri S, Khorami N, Ganji ZF, Sepahian N, Malmasi AA, Gouya MM, Djadid ND. *Leptospira wolffii*, a potential new pathogenic *Leptospira* species detected in human, sheep and dog. *Infect Genet Evol*. 2010 Mar;10(2):273-277. Epub 2010 Jan 14.