

Leptospirosis; un problema de salud pública

Palabras clave: *Leptospira*, leptospirosis, zoonosis, enfermedad de Weil, serovares.

Key words: *Leptospira*, leptospirosis, zoonoses, Weil's disease, serovars.

Recibido: 23/01/2013

Aceptado: 15/02/2013

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
www.medigraphic.com/patologiaclinica

Rafael García-González,* Angélica Reyes-Torres,* David Basilio-Hernández,* Maritóna Ramírez-Pérez,* Beatriz Rivas-Sánchez**

* Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina (FM), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

** Departamento de Medicina Experimental, FM, UNAM.

Los autores agradecen el apoyo otorgado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), otorgado mediante el proyecto IN215009

Correspondencia:

Rafael García-González

Facultad de Medicina, Edificio A, Primer piso, Universidad 3000, Circuito interior. 04510, México, D.F. Tels.: 5623 2389 y 5623 2390 E-mail: rafagargon@hotmail.com

Resumen

La leptospirosis es una zoonosis con una amplia distribución mundial que se presenta principalmente en zonas tropicales, subtropicales y templadas. Es considerada un problema de salud pública mundial reemergente, debido a su incremento tanto en países en desarrollo como desarrollados. Anualmente se reportan más de 500,000 casos severos y mortalidad superior a 10%. El género *Leptospira* comprende especies saprófitas como patógenas. Estas últimas aisladas de un amplio rango de animales que sirven como reservorios. El diagnóstico de laboratorio es complejo y no se encuentra siempre disponible. Por otro lado, la selección correcta de las muestras clínicas, las pruebas y la correcta interpretación de éstas, es un parámetro importante para darle al paciente una mejor atención. *Leptospira* puede ser detectada a través de su aislamiento o por medio de su demostración por campo oscuro, impregnación argéntica e inmunodetección: inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, o bien, por amplificación de fragmentos específicos de ADN y por determinación de anticuerpos en contra de la bacteria (evidencia indirecta).

Abstract

Leptospirosis is a zoonotic disease with a worldwide distribution, and occurs in tropical, subtropical and temperate zones. Considered to be the most geographically widespread zoonosis. Leptospirosis has been recognized as an emerging global public health problem because of its increasing incidence in both developing and developed countries. More than 500,000 cases of severe leptospirosis are reported each year, with fatality rates exceeding 10%. The genus *Leptospira* comprises saprophytic and pathogenic species, isolated from wide range of animal reservoir species. Laboratory diagnosis is complex and not widely available. Selection of the right specimens, tests and correct interpretation of test results are important parameters to provide better patient care. The *Leptospira* is detected by isolation of organism or demonstration by dark field, silver impregnation and immunodetection; microagglutination and immunofluorescence or amplification of specific fragment of Leptospiral DNA and indirect evidences by detection of antibodies to leptospires.

57

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa reemergente ocasionada por bacterias patógenas pertenecientes al género *Leptospira*, que afecta a humanos y animales tanto domésticos como silvestres y es causante de múltiples brotes en diferentes países (Nicaragua, El Salvador, Brasil, India, entre otros).^{1,2} Se caracteriza por afectar

a grupos de riesgo con exposición ocupacional o recreativa. La transmisión puede ser directa o indirecta de los animales al humano. Es considerada una zoonosis y un problema de salud pública, con amplia distribución mundial, afectando tanto países en desarrollo como desarrollados que cuentan con características climatológicas y orográficas, con redes pluviales naturales y artificiales, con extensas áreas agrícolas y presencia de lluvias estacionales

que favorecen la propagación de *Leptospira*, afectando tanto al hombre como a los animales.^{1,3,4}

El espectro clínico de la enfermedad en humanos es extremadamente amplio, con un rango que va de infecciones subclínicas, anictéricas, ictericas, a síndromes severos de afectación pulmonar y multiorgánica (fiebre hemorrágica pulmonar y la fiebre icterohemorrágica o síndrome de Weil), con elevadas tasas de mortalidad.²

Antecedentes históricos

La leptospirosis es conocida con diferentes nombres: enfermedad de Weil, enfermedad de los porqueros, fiebre de los arrozales, fiebre de los cañaverales, etcétera.

Existen reportes que describen síndromes muy parecidos a este padecimiento en civilizaciones antiguas: se cuenta con vestigios de la antigua Mesopotamia, que mencionan signos patológicos sugerentes de leptospirosis; lo mismo se puede deducir de papiros recuperados del antiguo Egipto (2500 a.C.) y de evidencias que mencionan su existencia en la Grecia de Hipócrates y Galeno, y tiempo después durante las campañas bélicas de Napoleón.³

En 1802, Lacereaux hizo la primera descripción clínica de un padecimiento muy parecido a leptospirosis y, en 1883, Landarouzi describió un caso típico con ictericia y hemorragias, al que llamó «tifus hepático». En 1886, casi al mismo tiempo, Mathieu en Francia y Adolf Weil en Alemania, describieron casos clínicos con cuadros agudos de fiebre, ictericia y daño renal severo; debido a la relevancia del trabajo de este último, en 1887 el padecimiento fue nombrado por Goldschmidt como «enfermedad de Weil».⁴

En 1907, Stimson pudo visualizar al microorganismo en un corte de riñón de un paciente muerto por fiebre amarilla y, debido a su morfología, lo nombró *Spirochaeta interrogans*. En 1914, los japoneses Inada e Ido encontraron una espiroqueta en el hígado de cobayos infectados experimentalmen-

te con sangre de mineros que presentaban fiebre severa, con eventos hemorrágicos, por lo que la denominaron *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*.^{1,3} En 1915, estos mismos autores lograron aislar y cultivar al agente causal.⁴ Entre 1917 y 1918, Noguchi propuso el género *Leptospira*, dando el nombre definitivo al agente causal de leptospirosis. Durante la Primera Guerra Mundial, en Europa hubo brotes de leptospirosis en soldados alemanes que combatían.^{1,3} En 1922 se reportó el primer caso de este padecimiento en Estados Unidos, y hasta 1946, ya se había reportado la enfermedad en 46 países.³ En 1947, Wood aisló *Leptospira* en excretas de ratas grises en Estados Unidos.^{3,5}

En México, es escasa la información que existe acerca de la leptospirosis humana, y los datos disponibles, en su mayoría, provienen de estudios seroepidemiológicos. Los primeros casos fueron notificados en pacientes por Noguchi y Kliegler en Mérida, Yucatán, en 1919,^{3,6} y en 1920 aislaron al microorganismo (*Leptospira icteroides*) de la sangre de pacientes; posteriormente, Pérez-Grovas y LeBlanc notificaron casos en el puerto de Veracruz. En 1937, Bustamante mencionó tres casos de la enfermedad de Weil en pescadores de ostras de Tampico, Tamaulipas; en este mismo estado, en 1938, Castañeda aisló *Leptospira* en ratas.⁷ En la década de los 50, Varela y su grupo realizaron varios estudios acerca de la leptospirosis, sobre todo en incidencia geográfica y portadores del agente causal en Veracruz, Tampico y en el Distrito Federal. En 1958, se reportó el primer brote epidémico en Yucatán. En el mismo año, Mendoza-Hernández observó 10% de aglutininas leptospirales en el suero de 91 pacientes con diagnóstico de hepatitis.⁷ Uno de los primeros estudios que evidenció seroprevalencia importante en México fue el realizado por Varela y Zavala en 1961, que mostró un porcentaje de 18% en 10,362 sueros estudiados procedentes de 21 estados de la República Mexicana.⁸ Por otro lado, en 1997, Colín-Ortiz y colaboradores, en un estudio realizado entre 1961 y 1995, con 9,875

sueros obtenidos en Yucatán, Valle de México y Distrito Federal, encontraron un promedio de 14.4% positivos.⁹ En 1991, Caballero y asociados encontraron 39% de seroprevalencia en trabajadores de granjas ganaderas y porcinas.¹⁰ En 1995, Gavalcón y su grupo analizaron 206 muestras de sueros de donadores de sangre por aglutinación microscópica (MAT) contra siete serovares de *Leptospira interrogans*: 7% fueron positivos, de los cuales 53% reaccionaron con el serovar Shermani, 33% con Canicola, 20% con Pyrogens, 13% con Pomona y 6% con Icterohaemorrhagiae. Por otro lado, la más alta frecuencia de seropositividad se encontró en el grupo de edad de 20-39 años.¹¹ En el 2006, Navarrete-Espinosa y colaboradores realizaron un estudio transversal en 500 habitantes de Jáltipan, Veracruz, mediante un muestreo por hogares, aplicación de cuestionario y toma de muestras sanguíneas; encontraron seroprevalencia global de 4% y la mayor incidencia fue para el grupo en edad productiva; 85% de los positivos a *Leptospira* también fueron positivo a dengue. Estos resultados muestran que, aunque la prevalencia es baja, se confirmó la coexistencia de estos agentes.¹² En 2002, Vado-Solis y colaboradores realizaron un estudio clínico-epidemiológico en humanos y reservorios animales en el estado de Yucatán, a través del análisis serológico utilizando IgM *Leptospira* Dipstick™ y MAT; el estudio se realizó en 400 personas de una población abierta, 439 casos de probable leptospirosis y 1,060 reservorios (vacas, cerdos, perros, ratas y zarigüeyas); encontraron seroprevalencia de 14.2% en humanos. Los serovares predominantes en la población abierta fueron Tarassovi, Hardjo, Pomona y Panama.⁴

En 2007, Navarrete y asociados realizaron un estudio transversal prospectivo en 204 habitantes de Izamal, Yucatán; 88% fue positivo a la observación directa de sangre en campo oscuro, 87 y 50.5% fueron positivos a la MAT a títulos de 1:40 y 1:80, respectivamente. El serovar predominante fue Hardjo (94%), la mayor prevalencia fue en

mujeres (72%) y el grupo de mayores de 45 años (95.7%); los factores de riesgo más importantes fueron: ser ama de casa, estar en contacto con agua estancada y con excretas de animales domésticos.¹³

Características generales de *Leptospira*

Las leptospirosis pertenecen al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*, que comprende dos especies fenotípicas: *Leptospira biflexa*, no patógena, de vida libre, saprófita y se encuentra en ambientes húmedos y aguas superficiales, y *L. interrogans*, a la que pertenecen las leptospirosis patógenas causantes de la leptospirosis y que, de acuerdo con sus características serológicas, se clasifican en serogrupos constituidos por serovares.

Las leptospirosis son microorganismos helicoidales, enrolladas estrechamente, delgadas, flexibles de 5-60 µm de longitud por 0.1-0.5 µm de diámetro, constituidas por un cuerpo citoplasmático y un axostilo que se dispone en forma de espiral con una membrana envolvente que recubre ambas estructuras. Esta membrana externa multistratificada es rica en lípidos (20%); la bacteria presenta además peptidoglicano y, en algunos casos, ácido α, ε-diaminopilémico. La membrana externa contiene lipopolisacáridos (LPS) altamente inmunogénicos, responsables de la especificidad de los serovares, varias lipoproteínas (LipL32, LipL41), porinas (OmpL1, Omp85) que son altamente conservadas, constituyen el sitio de interacción con el hospedero y al parecer participan en la patogénesis de la nefritis intersticial y en la respuesta inmune innata.^{1,14} En la membrana interna, recubierta por el peptidoglicano, se encuentran lipoproteínas Sec, SPasa I y II, LolCDE y el cuerpo basal del endoflagelo, un sistema de secreción tipo II que enlaza ambas membranas¹⁵ (figura 1).

El axostilo consiste en dos filamentos axiales que se insertan en extremos opuestos del cuerpo

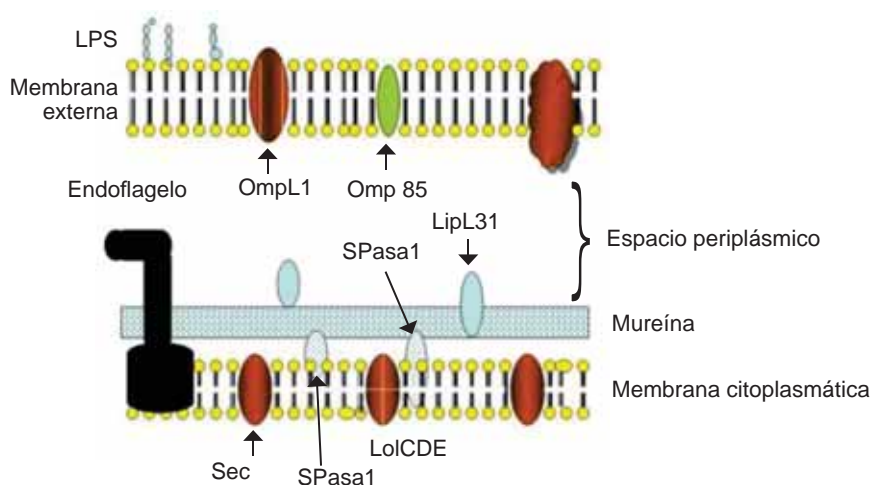


Figura 1. Estructura de la pared celular de *Leptospira* sp. (Modificado de Ko Al¹⁵).
Imagen en color en: www.medigraphic.com/patologiaclinica



Figura 2. Observación de *Leptospira* sp por microscopia de campo oscuro.
Imagen en color en: www.medigraphic.com/patologiaclinica



Figura 3. Impregnación argéntica de *Leptospira* sp mediante la técnica de Warthin-Starry.
Imagen en color en: www.medigraphic.com/patologiaclinica

citoplasmático, por medio de botones terminales y extremos libres que se extienden hacia la mitad de la célula sin llegar a cruzarse. Este organelo es el encargado de la motilidad de la *Leptospira* y le confiere un movimiento activo de rotación. Dependiendo de la longitud, la bacteria tiene un promedio de 18 a 20 hélices por célula y la conformación es dextrógira (en dirección de las manecillas de un reloj). Las leptospiras se observan fácilmente con apoyo de microscopia de campo oscuro, teñidas con técnicas de inmunodetección e impregnación argéntica y se

colorean débilmente con colorantes de anilina (figuras 2 y 3). No se visualizan con microscopio de campo brillante y tinciones habituales. Con microscopia de campo oscuro, en fresco, puede observarse que una o ambas extremidades terminan en gancho.

Este microorganismo es sensible a la desecación, al calor, al frío excesivo y a las variaciones de pH; no toleran el medio ácido debido a que pierden su motilidad aproximadamente en 15 minutos. El pH óptimo para su multiplicación es de 7.2 a 7.4. No sobreviven en agua salada, pero pueden

permanecer hasta 180 días en agua dulce, tres semanas en aguas estancadas y hasta cerca de un año en soluciones viscosas, como lodos con bajo contenido de materia orgánica.¹⁶ En suelo húmedo sobreviven por largo tiempo, mientras que en suelo seco la supervivencia es corta. En la leche no sobreviven, salvo si está diluida en agua a razón de 1:20 o más. Mueren a los 10 segundos cuando son calentadas a 100 °C y a los 10 minutos a una temperatura de 56 °C. En el frío puede sobrevivir hasta 100 días a -20 °C.

La orina ácida es letal para las leptospiros, por eso, es necesario alcalinizarla si se pretende aislarla de la orina de un enfermo.¹⁷ Conservan su viabilidad varios días en vísceras y carnes refrigeradas y son sensibles a los antisépticos.^{3,12,18}

Leptospira posee dos cromosomas circulares de aproximadamente cuatro megapares de bases (Mpb) y 300 kilopares de bases (kpb) con un contenido de guanina/citosina (G/C) de 35-41%. Un replicón adicional de 74 kpb se ha localizado en *L. biflexa*, la cual puede tener un cuarto replicón de 74 kpb (bacteriófago LE1).¹⁵

Son microorganismos aerobios estrictos y fácilmente cultivables en medios artificiales, enriquecidos y adicionados con ácidos grasos de cadena larga. Los medios de Fletcher, Kortoff, Schüffner y EMJH son los más empleados. La base de esos medios está constituida por suero de conejo diluido o seroalbúmina, agar, peptona, caldos simples y sales. Utilizan ácidos grasos o alcoholes como fuente de carbono y energía y no utilizan aminoácidos o carbohidratos como fuente de energía. El recurso principal para la obtención de nitrógeno son las sales de amonio. La membrana corioalantoidea de huevos embrionados de gallina puede también ser utilizada para el cultivo de *Leptospira*.⁷ En los cultivos crecen mejor en aerobiosis a 30 °C, pH 6.8 a 7.8 en 10 a 14 días y en medios sólidos se desarrollan colonias redondas de 1-3 mm de diámetro en 6-10 días. Las leptospiros crecen en varias líneas celulares cultivadas *in vitro*, principalmente fibroblastos, en donde se puede apreciar efecto citopático.³

Las cepas patógenas tienen un tiempo de generación de cerca de 20 horas, mientras que en las saprofíticas es de alrededor de cinco horas. Las leptospiros poseen oxidasa, catalasa y peroxidasa; entre especies no pueden distinguirse por sus características bioquímicas.³

Sin embargo, *L. interrogans* no crece en presencia de 225 µg/mL de azoguanina, propiedad que permite diferenciarla de *L. biflexa*. Son susceptibles a la acción de la mayoría de antibióticos, incluyendo penicilina, así como a la de los antisépticos y desinfectantes de uso común.¹⁸

Taxonomía

Los miembros del género *Leptospira* son serológicamente heterólogos. El taxón básico es el serovar (serotipo), que se define «sobre la base de similitudes y diferencias antigénicas como las reveladas en la llamada prueba de absorción de aglutinación cruzada» (*cross agglutination absorption test*). Cada serovar tiene una conformación antigénica característica proporcionada por antígenos superficiales localizados en la membrana externa que facilitan su clasificación. Los anticuerpos generados frente a los lipopolisacáridos de la pared celular son determinantes del serovar y tiene carácter protector, mientras que los formados frente a los antígenos profundos no son protectores ni específicos (antígenos de campo comunes a todo el género *Leptospira*).^{19,20} *L. interrogans sensu lato* se subdivide, según su composición antigénica, en más de 200 serovares que, por las reacciones antigénicas cruzadas entre ellos, se reúnen en 23 serogrupos y *L. biflexa* se subdivide en 60 serovares.¹

Las leptospiros saprofíticas o acuáticas que se encuentran principalmente en agua dulce superficial y menos frecuente en agua salada, se asocian raramente con infecciones de mamíferos.¹⁵

Alrededor de 22 serovares de *L. interrogans* causan enfermedad humana y los más comunes son Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona y Au-

tumnalis. Desde el punto de vista histórico, algunos serovares han sido asociados con cuadros clínicos específicos (Icterohaemorrhagiae, enfermedad de Weil; Pomona, enfermedad de Swineher; Autumnalis, fiebre de Fort Bragg y erupciones pretibiales), pero ahora se acepta que las diversas enfermedades no son específicas de serovar.

En la actualidad, tomando como base los estudios de ADN, la clasificación fenotípica está siendo reemplazada por la clasificación genética sin que exista ninguna relación o correspondencia entre ambas clasificaciones. Debido a lo anterior, existen especies genómicas o genomoespecies que incluyen serovares patógenos y no patógenos, y algunos serovares pueden pertenecer a más de una especie genómica. La clasificación constituida por genomoespecies, de acuerdo con la Reunión del Subcomité de Taxonomía de *Leptospira* en el 2007, comprende 13 especies patógenas: *L. interrogans*, *L. alexanderi*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. krischneri*, *L. wolffi*, *L. borgpetersenii*, *L. weilii*, *L. noguchii*, *L. licerasiae*, *L. santarosai*, *L. alstonii*, *L. terpstrae* y seis especies saprófitas: *L. biflexa*, *L. ketyi*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. wolbachii* y *L. vanthielii*.²¹

Muchos serovares predominan en mamíferos (hospederos seleccionados), pero la distribución de un serovar específico en un hospedero seleccionado no es exclusiva. La misma especie animal puede ser reservorio primario de varios serovares y también puede ser portadora de tipos que predominan en otros mamíferos.

El punto de acumulación de *Leptospira* en sus hospederos naturales es el lumen de los túbulos nefríticos, de donde pasa a la orina. La persistencia e intensidad de la leptospiuria pueden variar según el hospedero y el serovar que causa la infección. Las ratas de la variedad noruega infectadas con serovar Icterohaemorrhagiae, liberan gran número de leptospiros durante toda su vida. Las cepas del serovar Canicola son aparentemente menos eficientes para persistir en los riñones de las ratas.²² El número de microorganismos liberados por perros, vacas y cerdos infectados puede ser

Cuadro I. Serogrupos y serovares de *Leptospira interrogans*.

Serogrupo	Serovares
Icterohaemorrhagiae	icterohaemorrhagiae, copenhagen, lai, zimbabwe,
Hebdomadis	hebdomadis, jules, kremastos
Pyrogenes	pyrogenes
Batavia	batavia
Grippotyphosa	grippotyphosa, canalzonae, ratnapura
Canicola	canicola
Australis	canicola
Pomona	pomona
Javanica	javanica
Serjoe	serjoe, saxkoebing, hardjo
Panama	panama, mangus
Cynopteri	cynopteri
Djasiman	djasiman
Sarmin	sarmin
Mini	mini, georgia
Tarassovi	tarassovi
Ballum	ballum, aroborea
Celledoni	celledoni
Louisiana	louisiana, lanka
Ranarum	ranarum
Manhao	manhao
Shermani	shermani
Hurstbridge	hurstbridge

considerable sólo durante pocos meses después de la infección y es generalmente escaso o nulo después de seis meses.

La leptospirosis humana se asocia principalmente a la exposición ocupacional. Las personas que trabajan con animales o en ambientes infectados por ratas se exponen a riesgos de infección (veterinarios, productores lácteos, cuidadores de cerdos, trabajadores de mataderos, mineros y procesadores de carne de pescado y aves), por lo que se pueden producir grandes pérdidas económicas.²² En diferentes partes del mundo este padecimiento es esporádico o alcanza proporciones epidémicas en los trabajadores agrícolas que cultivan arroz, caña de azúcar, lino y verduras, en

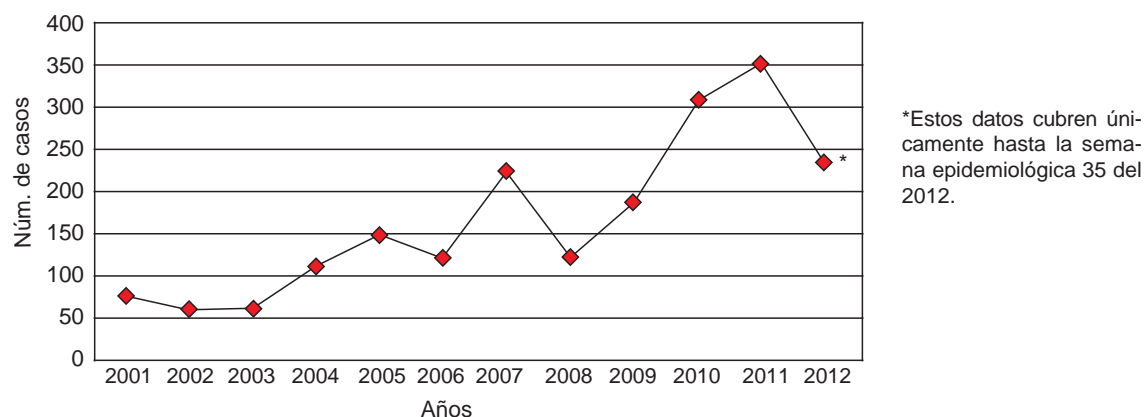


Figura 4. Frecuencia de aislamiento de *Leptospira* de 2001–2012 en México.²⁵ Fuente: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica/ Dirección General de Epidemiología/SSa.

los trabajadores de las plantaciones de caucho y en los soldados expuestos a medios naturales que se encuentran contaminados. Los riesgos potenciales de infección por bañarse o nadar en estanques, lagunas o arroyos donde pastorean ganados se han demostrado reiteradamente.²³

Epidemiología

La leptospirosis es considerada una enfermedad tanto endémica como epidémica y reemergente.^{19,24} La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado una tasa de incidencia de 4-100 casos por 100,000 habitantes en los países tropicales y subtropicales, con tasa de letalidad que va de 5 a 30%.¹⁹ Constituye un problema de salud pública en aumento como lo demuestra el incremento de brotes a nivel mundial. La incidencia anual de casos graves es de aproximadamente medio millón de humanos, cifra que la pone por encima del dengue hemorrágico y la hantavirosis severa.^{22,25} A pesar de su importancia, existe una gran subnotificación debido a que pocas veces se piensa en ella, en especial cuando se presenta la forma anictérica de la enfermedad. Su incidencia es dependiente de riesgo laboral, recreación, condiciones ambientales: clima templado, tropical y subtropical,

tipo de suelo y pH neutro o alcalino, así como de la presencia de agua contaminada por desechos procedentes de animales tanto domésticos como silvestres que presentan leptospirosis prolongada (verdaderos reservorios de la infección), que permita mantener viable a las bacterias. Es considerada una enfermedad rural y urbana, con predominio de la primera. La leptospirosis tiene gran impacto en la economía, ya que además de ser una enfermedad ocupacional que afecta a individuos en edad productiva, generando pérdidas por incapacidad y por costos de tratamiento, también es una patología que ataca a los animales domésticos y de granja, lo que genera grandes pérdidas en el comercio de animales por ser causa de múltiples abortos y por afectar la calidad de sus productos (carne, semen y leche).²² En México se inicia el registro de la leptospirosis hasta el año 2000 en el Sistema de Notificación Semanal de Casos Nuevos de Enfermedad Sujetos a Vigilancia Epidemiológica.²⁶ Del 2001 al 2012 se ha generado un reporte de 2,001 casos (*figura 4*). Entre 2003 y 2012, 50% de los casos correspondieron a hombres y 50% a mujeres, lo que indica que el sexo no influye. Entre los cinco estados de la República Mexicana con mayor índice de casos reportados están Chiapas, Veracruz, Sonora, Tabasco y Sinaloa.²⁶

Factores de virulencia

La parte fundamental en el ciclo de vida de *Leptospira* es su capacidad para mantenerse en los túbulos renales de los animales que participan como reservorios.¹⁵ Para ello, se requiere de factores que intervienen en la motilidad y quimiotaxis bacteriana con el fin de que el patógeno alcance el blanco durante la infección. En *L. interrogans*, Copenhagen y Lai se han determinado la existencia de 79 genes asociados a la motilidad. De éstos, existen 42 genes que son comunes a *Treponema pallidum* y *Borrelia burgdorferi*.²⁷ Nascimento y colaboradores refieren la existencia de una mayor complejidad de *L. interrogans* respecto a *T. pallidum* y *B. burgdorferi* en cuanto a quimiotaxis.^{17,27} Reportan la existencia de mayor número de proteínas aceptadoras de grupos metilos (MCP), que a decir de este grupo, la mayor cantidad de genes involucrados en la motilidad pudiera representar una mayor capacidad de adaptación y supervivencia de la bacteria a las condiciones ambientales. *Leptospira* es capaz de realizar la invasión del hospedero haciendo uso de un proceso de translocación en el que participan enzimas degradadoras de las membranas celulares: esfingomielinasa tipo C (serovares; Ballum, Hardjo, Pomona y Tarassovi), fosfolipasa D y hemolisina (*tlyABC*), las cuales son transportadas a la superficie bacteriana a través de sistemas de secreción I y II. Aunado a lo anterior, la bacteria genera un grupo de proteasas que degradan la matriz extracelular de los tejidos: colagenasa, metaloproteasa y varias termolisinas. Además de los sistemas de secreción mencionados, *Leptospira* presenta numerosos transportadores ABC y proteínas de fusión.²⁷⁻³²

En la colonización, la bacteria produce dos familias de adhesinas no fimbriales. La primera tiene tres genes: *ligA*, *ligB* y *ligC*, que codifican para proteínas BIG (*bacterial immunoglobulin-like*), involucradas en la interacción hospedero-patógeno. La segunda familia consiste en tres integrinas (alfa proteínas), cada una con siete secuencias repetidas,

las que al parecer participan en las interacciones con el ligando.²⁷⁻³²

A lo anterior se añade la posible participación de proteínas de membrana integral de *Leptospiras* (OmpL 1, lipoproteínas, LipL4 y LipL32) y proteína de membrana periférica (P31LipL45), algunas de ellas expresadas durante la infección de huésped.²⁹

En *Leptospira* se han encontrado genes involucrados en la biosíntesis de polisacárido capsular; sin embargo, no existen evidencias experimentales en la producción de cápsula, pero se supone que una sustancia parecida a un biofilm le permite colonizar densamente a los túbulos renales.^{1,31} Las cepas aisladas del riñón de ratas con infección crónica contienen abundante lipopolisacáridos (LPS), a diferencia de las aisladas de hígado de hámster, lo que hace pensar en la participación del antígeno O del LPS en la inducción del estado de portador. Se ha referido que la actividad de la endotoxina (lípid A) en estos microorganismos tiene menor potencia comparada con la que se exhibe en las bacterias Gram negativas.^{30,31}

El peptidoglicano o mureína de *Leptospiras* patógenas se encuentra entre las moléculas que pueden activar al endotelio vascular e incrementar la adherencia de neutrófilos, lo que favorece la inflamación tanto local como sistémica.

Patogénesis

Las leptospiras penetran en los hospederos a través de abrasiones de la piel, por mucosas de nasofaringe y esófago o por los ojos e inmediatamente generan una infección sistémica, debido a su paso a través de los tejidos (posiblemente entre las uniones intracelulares) y por vía hemática.¹ Experimentalmente, se ha observado la penetración intracelular de *Leptospira* por translocación de monocapas celulares polarizadas, sin alterar la carga eléctrica transepitelial.^{1,32} Este microorganismo no es una bacteria intracelular facultativa; al parecer, esta observación *in vitro* dentro de las

células (compartimentos citoplasmático y fagosomal), sólo es transitoria en células que no son fagocitos profesionales. Se piensa que este hecho lo usa la bacteria como forma de diseminación hacia el órgano blanco y para evadir la respuesta inmune.^{1,29,31}

La lipoproteína Lip46 se encuentra relacionada con la diseminación de *Leptospira*. La infección causa una leptospiremia prolongada que alcanza diferentes órganos: hígado, riñón, corazón, músculo esquelético e inclusive sistema nervioso central y humor acuoso, que finaliza cuando el hospedero monta una respuesta inmune efectiva que generalmente ocurre entre una a dos semanas después de la exposición.^{1,7,27} Sin embargo, la enfermedad puede recurrir después de tres a cuatro días, produciendo una enfermedad bifásica.¹²

La mayoría de los procesos infecciosos por *Leptospira* cursan en forma asintomática o con manifestaciones clínicas inespecíficas y autolimitadas en un plazo de cuatro a siete días.

La enfermedad de Weil representa la forma severa de la leptospirosis, caracterizada por la presencia de fiebre elevada, ictericia, sangrado, disfunción renal y pulmonar, alteraciones neurológicas y colapso cardiovascular, con curso clínico variable.

La respuesta inmune en el control de la infección

La participación de la respuesta inmune frente a la presencia de *Leptospira* es de tipo humoral y se encuentra dirigida al serovar infectante; de ahí que la participación de anticuerpos específicos facilita la fagocitosis de la bacteria. Fenómeno que se pone en evidencia durante la segunda fase de la leptospirosis o también llamada inmune, durante la cual se produce la desaparición de *Leptospira* de circulación.²⁷ Sin embargo, la formación de complejos inmunes agrava el padecimiento, ya que éstos llevan a un proceso inflamatorio, como se ha referido que ocurre en el sistema nervioso

central. Existen datos que apoyan evidencias de reacción cruzada de anticuerpos contra el tejido ocular, antiplaquetarios, anticardiolipina. Se ha descrito la participación del LPS de esta bacteria en la apoptosis de linfocitos vía inducción del factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α), este último se registra elevado en pacientes con leptospirosis.¹

La respuesta inmune celular en el paciente se encuentra suprimida, con reducción de linfocitos CD4⁺.⁴

Manifestaciones clínicas

La leptospirosis tiene un periodo de incubación de siete a 14 días, con un rango que va de dos a 30 días. Se caracteriza por presentar un amplio espectro de manifestaciones clínicas. Durante la fase aguda, la enfermedad puede ser asintomática o subclínica y sintomática anictérica o ictérica.³⁰

Forma anictérica: Las manifestaciones clínicas varían desde leves hasta graves e incluso mortales, como es el caso de la leptospirosis hemorrágica pulmonar. Se calcula que 90% de los casos sintomáticos sufren de esta variante con o sin meningitis asociada. Puede presentarse como un proceso gripal con febrícula o fiebre, cefalea intensa, escalofríos, mialgias (especialmente en las pantorrillas y abdomen), náusea y vómito. También se presenta como una enfermedad discreta, de corta duración, caracterizada por ser bifásica, ya que cuenta con una fase febril o leptospirémica y una fase inmune o leptospiúrica.

La primera fase se caracteriza por la presencia de fiebre elevada (> 38 °C) de carácter remitente, con duración de hasta tres semanas, escalofríos, mialgias (regiones paravertebrales, caderas, pantorrillas y abdomen), cefalea que puede ser frontal o dolor retroauricular, conjuntivitis, hemorragia conjuntival. Anorexia, náuseas y vómito que generalmente se presentan en la mitad de los pacientes, constipación o diarrea. La gravedad de las manifestaciones clínicas se evidencia por la pre-

sencia de melena o enterorragia. La hepatomegalia y esplenomegalia pueden ocurrir, aunque es raro. En esta fase se encuentra a *Leptospira* en líquido cefalorraquídeo (LCR) y sangre.

El paciente puede curar después de uno a tres días de estar afebril con aparente recuperación; evoluciona a la segunda fase (inmune), reapareciendo la fiebre y síntomas localizados en diferentes órganos. En las formas anictéricas, la principal manifestación es la meningitis, caracterizada por cefalea intensa y persistente, vómitos y signos de irritación meníngea. Existen manifestaciones hemorrágicas en diferentes localizaciones. En las formas graves, el distrés respiratorio y la hemoptisis pueden causar la muerte. En esta fase las manifestaciones clínicas desaparecen de una a tres semanas.

En general, tanto los individuos asintomáticos como los sintomáticos leves no son diagnosticados y sólo son detectados durante los estudios epidemiológicos, en los brotes o estudios de caso.

Forma icterica se presenta en 5 a 10% de los casos. La forma hepatonefrótica o síndrome de Weil es la forma más grave con disfunción hepática y renal, alteraciones hemorrágicas, hemodinámicas, cardíacas y pulmonares, con letalidad de 5 a 20%. El curso clínico rara vez es bifásico, más bien es continuo, con signos y síntomas semejantes a la forma anictérica, pero más intensos. La ictericia se presenta entre el tercero y séptimo día de la enfermedad, siendo progresiva, con dolor a la palpación en hipocondrio derecho y hepatomegalia leve o moderada en 70% de los casos, con incremento de las transaminasas hasta cinco veces por arriba del valor normal; la muerte rara vez ocurre por insuficiencia hepática. En pacientes graves se puede presentar tos, disnea y hemoptisis. El compromiso renal es variable, pudiendo presentar sólo albuminuria y hematuria, así como insuficiencia renal grave con oliguria progresiva, deshidratación hasta llegar a anuria. Ante el fracaso renal, la azoemia alcanza su máximo entre el quinto y séptimo día, acompañándose de náuseas, vómito y obnubilación

progresiva y finalmente coma. Entre otras causas de muerte se encuentran arritmia, falla cardíaca, hemorragia adrenal, sangrado masivo del aparato digestivo y tracto respiratorio. En casos no severos, la recuperación tiene lugar en la segunda semana, aunque algunas manifestaciones clínicas se prolongan más tiempo.

Leptospirosis crónica. Se considera que la recuperación de la fase aguda puede durar meses o años y quedar con secuelas a largo plazo, las cuales incluyen fatiga crónica y otros síntomas neuropsiquiátricos como cefalea, parestias, parálisis, cambios de carácter, síndrome obsesivo-compulsivo, depresión, encefalitis parainfecciosa, afectación hepatobiliar, urinaria, cardiovascular^{19,33-36} y complicaciones oculares como la uveítis e iridociclitis que son la presentación tardía de la enfermedad atribuida a la persistencia de las *Leptospiras* en los ojos, en donde están protegidas de la respuesta inmune del huésped.^{33,36,37} Sin embargo, algunos autores han seguido la evolución de estos pacientes y han logrado el aislamiento de la bacteria meses o años después de la presentación de la fase aguda, lo que comprueba la existencia de la fase persistente o crónica.^{35,38,39}

La leptospirosis crónica se define como un síndrome multiorgánico, clínicamente polimórfico, manifestado comúnmente por fatiga crónica, cefalea, hipersomnia, dolor en globos oculares, mialgias, artralgias, depresión y las molestias del órgano o sistema más afectado: hígado, riñón, pulmón, sistema nervioso central, etcétera.

La leptospirosis persistente o crónica puede carecer de antecedentes clínicos de la enfermedad aguda por haber cursado en forma subclínica o sintomática leve, por lo que el Centro de Información de Leptospirosis cita: «si la fase aguda ha sido pasada por alto, el diagnóstico de la fase persistente raya en lo milagroso».

Sin embargo, al igual que sucede en los animales, la leptospirosis crónica se caracteriza por presentar títulos de anticuerpos $\leq 1:100$, títulos que están por debajo del título significativo tomado para el diagnóstico de la fase aguda.^{36,40}

Complicaciones

Frecuentemente la *Leptospira* produce enfermedad hemorrágica de pulmones y otras vísceras, así como anemias, púrpuras y hemorragias mucocutáneas, e inclusive parece evolucionar con cuadros mieloproliferativos y la sospecha de causar enfermedad autoinmune, además de poder afectar cualquier órgano. A pesar de esto, prácticamente nunca se le busca en médula ósea, donde por diversos mecanismos, podría, en teoría, causar graves problemas hemorrágicos, e inclusive neoplasias a sus huéspedes (*Leptospira* asociada a cáncer de colon).

Las complicaciones más encontradas son insuficiencia renal aguda, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, falla hemodinámica, hemorragias y coma.²

En el caso de la leptospirosis crónica, ésta puede agudizarse paulatina o súbitamente evolucionando a síndrome de Weil, encefalitis, neumonía hemorrágica, miocarditis, diátesis hemorrágica, etc., la que agravada por el deterioro inmunológico del paciente, sólo se diferencia de la fase aguda por el título bajo de anticuerpos que el enfermo logra producir, lo que dificulta grandemente el diagnóstico cuando no se piensa en ella. El diagnóstico diferencial se realiza con los siguientes padecimientos: dengue clásico y hemorrágico, paludismo, brucelosis, pielonefritis, hepatitis viral y meningitis.²⁰

Sin embargo, al igual que la sífilis y la borreliosis, puede ser «la gran simuladora», ya que puede confundirse con diversas enfermedades infecciosas.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico clínico debe ser confirmado por medio de pruebas de laboratorio, ya que los signos y síntomas en esta infección son frecuentemente atípicos. En la Guía para el Diagnóstico, Vigilancia y Control de Leptospirosis Humana, publicado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS) y la In-

ternational Leptospirosis Society (ILS) en el 2008, se dan una serie de recomendaciones referentes al manejo a nivel de laboratorio del paciente infectado por *Leptospira*, que sin ser un manual, como lo refiere la Guía, proporciona información suficiente, además de bibliografía para los detalles técnicos.¹⁹

Entre las pruebas se incluyen técnicas serológicas para la detección de anticuerpos (serodiagnóstico); cultivo y observación de la bacteria a partir de sangre, orina, LCR y tejidos; detección de antígenos en tejidos y biología molecular.¹³

A) **Técnicas serológicas.** La prueba de aglutinación microscópica (MAT) y el inmunoensayo enzimático (ELISA), son los métodos de laboratorio comúnmente empleados en el diagnóstico serológico.⁷

La prueba de aglutinación microscópica (MAT) es considerada la prueba de referencia. Para su realización se emplea suero problema a diferentes diluciones, cultivo de diversas cepas de referencia de *Leptospira*, así como microscopio de campo oscuro para evaluar el grado de la aglutinación. Esta prueba permite determinar el o los serogrupos responsables del proceso infeccioso y el título del suero para cada antígeno probado. Generalmente es positiva entre los 10 a 12 días después de la presentación de los primeros síntomas y signos clínicos. Sin embargo, puede ocurrir seroconversión entre el quinto y séptimo día después de la aparición de la enfermedad. Tiene excelente especificidad, pero menor sensibilidad. Títulos a partir de 1:80 son considerados sospechosos de leptospirosis. Para su confirmación se requiere de una segunda muestra (no antes de dos semanas posteriores) en la cual el título debe aumentar cuatro veces más que el inicial.¹⁹

La prueba de ELISA es extremadamente sensible, puede detectar IgM durante la primera semana de la enfermedad antes que la MAT, aunque puede llegar a ser negativa más tempranamente.

Otras técnicas serológicas empleadas distintas al MAT y ELISA son: Dipsticks (LEPTO Dip-S-Tick,

Lepto Tek Lateral Flow), aglutinación en látex seco (Lepto Tek Dri- Dot), inmunofluorescencia indirecta, aglutinación en microcápsula, aglutinación macroscópica con antígeno termorresistente, así como la prueba de fijación de complemento, aglutinación con látex, aglutinación macroscópica en portaobjeto y prueba de lisis de eritrocitos sensibilizados.¹⁹

B) Cultivo. Se debe considerar la fase en que se encuentra la infección. Por lo general, durante la fase aguda, la bacteria se localiza en circulación durante los primeros siete a 10 días de la enfermedad, momento adecuado para realizar el muestreo y cultivo de sangre heparinizada. El LCR puede ser cultivado durante los primeros 10 días de la enfermedad, en tanto que la orina lo es a partir de la segunda a la cuarta semana de la enfermedad.^{7,19} Los medios de cultivo empleados son los siguientes: medio líquido de Ellinghouse y McCullough modificado por Johnson y Harris (EMJH), suplementado con Tween80/albúmina y 5-fluorouracilo, medio de Korthof-Babudieri, medio de Fletcher, etcétera.¹⁹

C) Observación de *Leptospira* mediante microscopio de campo oscuro. Se realiza a partir de muestra clínica: sangre, orina; biopsia hepática, de riñón y pulmón; muestra de LCR durante la fase aguda de la enfermedad.

D) Estudios con biología molecular. Entre las técnicas empleadas se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual es altamente sensible, los blancos a amplificar son segmentos del ARNr 16S, 23S, genes *secY* y *flaB*, así como secuencias de inserción (IS1533). Con el empleo de iniciadores específicos y la detección del producto amplificado, se ha realizado por electroforesis en geles de agarosa, teñidos con bromuro de etidio, el uso de sondas específicas, marcadas para hibridar el segmento amplificado, incrementando la sensibilidad de la PCR. El producto también ha sido sometido al tratamiento con enzimas de restricción, que en algunos casos ha permitido la diferenciación de cepas patógenas de no patógenas.

En el estudio epidemiológico de *Leptospiras*, la tipificación molecular se inicia con estudios de la composición y homología del ADN genómico a finales de la década de los 60's, alineación del ADN genómico, uso de PCR, PCR-anidado, análisis con empleo de enzimas de restricción (REA), polimorfismo de fragmentos de restricción (PCR-RFLP), ribotipificación, electroforesis en gel en campo pulsado (PFGE), amplificación al azar del ADN (RAPD), entre otros³ (figura 5).

E) Empleo de animales de experimentación (cobayos jóvenes de 150-175 g y hámsteres dorados de cuatro a seis semanas de edad) para el aislamiento indirecto de *Leptospira* con muestras de sangre y orina. La determinación se realiza a través de la obtención del líquido peritoneal observado por microscopía de campo oscuro. En caso de positividad se realiza hemocultivo. Este procedimiento de investigación tiene en la actualidad poco uso.

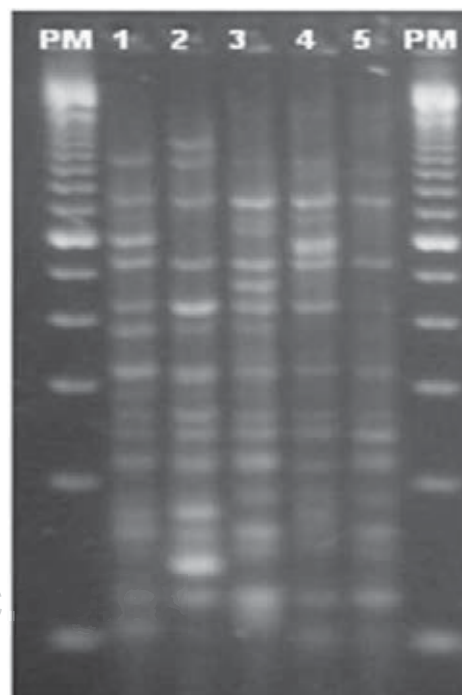


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 2.5% de productos de RAPD, con empleo de iniciadores B11 y B12 de serovares de *Leptospira interrogans*.

F) **Tinción con sales de plata.** Whartin-Starry, Fontana modificado.

G) **Inmunotinción.** Detección de antígenos mediante Inmunofluorescencia indirecta o inmunohistoquímica.

Control y prevención

La leptospirosis es una enfermedad difícil de controlar debido a la capacidad del microorganismo para ser eliminada por la orina de muchos animales que se mantienen en estado de portador.

En el control se incluye: notificación del caso, aislamiento de pacientes, desinfección de artículos contaminados con orina, investigación de los contactos y existencia de probables fuentes de infección.¹⁹

Entre las medidas de protección se encuentran las siguientes: evitar contacto con aguas probablemente contaminadas, evitar bañarse en agua de ríos o estancada, utilizar métodos de barrera que protejan piel y mucosas como el empleo de ropa de trabajo adecuada, botas y guantes, control de roedores y de animales de importación, realizar la separación, tratamiento y sacrificio de animales enfermos. Realizar construcciones a prueba de roedores, consumir agua hervida si no se dispone de agua potable. Algunas de estas medidas dan resultados relativos, en tanto que con otras el resultado es más positivo.¹⁹

Las vacunas inactivadas se emplean en animales, en especial en perros, en los que se evita la infección, pero no el estado de portador. Sin embargo, se han observado humanos infectados por animales vacunados. Hay que recordar que existen diferentes serovares y la vacuna puede no tener el que se necesita, de ahí que el empleo de vacunas es limitado.¹⁹

Tratamiento

Éste se encuentra dirigido principalmente a realizar una terapia de soporte, corrección del des-

equilibrio hidroelectrolítico y ácido-básico, sobre todo en las formas graves del padecimiento. El tratamiento antimicrobiano se debe iniciar lo más temprano posible, ya que se encuentra orientado a controlar la infección antes de que se presente daño irreparable en el organismo, sobre todo en riñón e hígado y el desenlace sea fatal.

En leptospirosis no complicada y con tolerancia oral, el tratamiento de elección en niños mayores de ocho años es la doxiciclina a dosis de 100 mg cada 12 horas por siete días. En menores de ocho años la amoxicilina a dosis de 30 a 50 mg/kg al día divididos en cuatro dosis por siete días. También puede ser empleada la eritromicina 25-50 mg/kg por día divididos en cuatro dosis por siete días. En casos de moderados a graves, se instituye la administración de penicilina G sódica alrededor de 20 millones de UI/día por vía intravenosa (IV), por siete a 10 días. Como alternativa se puede usar ampicilina 0.5 g cada seis horas por la misma vía. La penicilina benzatínica en adultos se recomienda 1'200,000 a 2'400,000 UI, vía intramuscular (IM) cada 24 horas, en niños 25,000 a 50,000 UI/kg, IM cada 24 horas durante siete a 10 días. La ceftriaxona también puede ser empleada de 1 a 2 g cada 12 horas vía IV o IM. Igualmente se recomienda el empleo de trimetoprim con sulfametoxazol 80/400 mg. En adultos dos tabletas cada 12 horas y en niños 8/40 mg/kg/día, en dos administraciones durante 10 días.

Quimioprofilaxis: Ante el peligro de una exposición a *Leptospira*, se recomienda la administración de doxiciclina 200 mg por semana.

Después de la exposición al riesgo, doxiciclina 100 mg cada 12 horas por cinco a siete días.

Referencias

1. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 296-326.
2. Dolhnikoff M, Mauad T, Bethlem EP, Ribeiro CR. Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis. Bras J Infect Dis 2007; 11: 142-148.
3. Erosa-Barbachano G. Leptospirosis. Rev Biomed 2001; 12: 282-287.
4. Terpstra WJ. Historical perspectives in leptospirosis. Indian J Med Microbiol 2006; 24: 316-320.

5. Wood WB. Enfermedad de Weil. En: Cecil, Rusell, (eds). Tratado de Medicina Interna. México: Interamericana, 1947: 578-583.
6. Noguchi H, Kligler J. Experimental studies on yellow fever occurring in Merida. Yucatán. J Exp Med 1920; 32: 601-625.
7. Noguchi H, Kligler J. Immunological studies with a strain of *Leptospira* isolated from a case of yellow fever in Merida, Yucatán. J Exp Med 1920; 32: 627-637.
8. Varela G, Zavala VJ. Estudio serológico de la leptospirosis en la República Mexicana. Rev Inst Salubr Enf Trop 1961; 21: 49-52.
9. De Igartua LE, Coutiño RMR, Velásco CO. Revisión breve de leptospirosis en México. Altepaktli Salud para la Comunidad 2005; 1: 52-58.
10. Caballero SA, Romero GJ. Leptospirosis en México. Premio Canifarma. Ind Farmaceut Vet 1991; 1: 107-124.
11. Gavaldón DG, Cisneros MA, Rojas N, Moles-Cervantes LP. La importancia de la leptospirosis humana en México. Detección de anticuerpos antileptospira en una población de donadores de sangre. Gac Med Mex 1995; 131: 289-292.
12. Navarrete-Espinosa J, Acevedo-Vales J, Huerta-Hernández E, Torres-Barranca J, Gavaldón-Rosas DG. Prevalencia de anticuerpos contra dengue y *Leptospira* en la población de Jáltipan, Veracruz. Sal Pub Mex 2006; 48: 220-228.
13. Navarrete-Espinosa J, Moreno-Muñoz M, Rivas-Sánchez B, Velásco-Castrejón O. Leptospirosis prevalence in a population of Yucatan, Mexico. J Pathogens 2011. Article ID: 408604, 5p, Doi: 10.4061/2011/408604.
14. Dong H, Hu Y, Xue F, Sun D, Oicius DM, Mao Y et al. Characterization of the ompL1 gene of pathogenic *Leptospira* species in China and cross-immunogenicity of the OmpL1 protein. BMC Microbiol 2008; 8: 223-234.
15. Ko AI, Goarant C, Picardeau. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. Nat Rev Microbiol 2009; 7: 736-747.
16. Trueba G, Zapata S, Madrid K, Cukken O, Haake D. Cell aggregation a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. Int Microbiol 2004; 7: 35-40.
17. Rodríguez I, Rodríguez JE, Fernández C. Alcalinización de la orina humana para el aislamiento experimental de *Leptospiras*. Rev Cubana Med Trop 2005; 57: 55-56.
18. Abuauda MC, Osorio SG, Rojas PML, Lorena-Pino V. Leptospirosis: Presentación de una infección fulminante y revisión de la literatura. Rev Chil Infect 2005; 22: 93-97.
19. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud e International Leptospirosis Society. Leptospirosis humana: Guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Serie de Manuales Técnicos, 12. VP/OPS/OMS, 2008. Disponible en: www2.paho.org/hq/dndocuments/WHO-Guia-Lepto-2003-spa.pdf
20. Céspedes ZM. Leptospirosis: Enfermedad zoonótica reemergente. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2005; 22: 290-307.
21. Brihuega B. Leptospirosis: Diagnóstico y tipificación de *Leptospiras*. En: Cacchione R, Durlach R, Martino P (eds). Tema de Zoonosis IV. Buenos Aires, Arg: Asociación Argentina de Zoonosis, 2008: 224-227.
22. Hartskeer IRA. International Leptospirosis Society. Objectives and achievements. Rev Cub Med Trop 2005; 57: 7-10.
23. Vijayachari P, Sugunan Ap, Shriram AM. Leptospirosis: an emerging global public health problem. J Biosci 2008; 33: 557-569.
24. World Health organization. 1999. Leptospirosis worldwide, 1999. Wkly Epidemiol Rec 1999; 74: 237-242.
25. Hartskeer IRA, Collares-Pereira M, Ellis WA. Emergence, control and re-emerging leptospirosis; dynamics of infection in the changing world. Clin Microbiol Infect 2001; 494-501.
26. Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica/ Dirección General de Epidemiología/SSA. Boletín epidemiológico.
27. Nascimento LTO, Ko AI, Martins AEL, Monteiro-Vitorello CB, Ho PL, Haake DA et al. Comparative genomics of two *Leptospira interrogans* serovars reveal novel insights into physiology and pathogenesis. J Bacteriol 2004; 186: 2164-2172.
28. Lin Y-P, McDonough SP, Sharma Y, Chang Y-E. The terminal immunoglobulin-like repeats of LigA and LigB of *Leptospira* enhance their binding to gelatin binding domain of fibronectin and host cells. Plus One 2010; 5(6):e11301.
29. Matsunaga J, Barocchi MA, Croda J, Young TY, Sánchez Y, Siqueira I et al. Pathogenic *Leptospira* species express surface-exposed proteins belonging to the bacterial immunoglobulin superfamily. Mol Microbiol 2003; 49: 929-945.
30. Cinco M. New insights into the pathogenicity of leptospires: evasion of the host defences. New Microbiologic. 2010; 33: 283-292.
31. Nally JE, Choe E, Fishbein MC, Blanco DR, Lovett MA. Changes in lipopolysaccharide O antigen distinguish acute versus chronic *Leptospira interrogans* infections. Infect Immun 2005; 73: 3251-3260.
32. Barocchi MA, Ko AI, Reis MG, McDonald KI, Tiley LW. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintra-cellular pathogen. Infect Immun 2002; 70: 6926-6932.
33. Faine S. *Leptospira* and leptospirosis. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1994: 353.
34. Velasco-Castrejón O. Seguimiento de pacientes con leptospirosis crónica. Mem Symp Importancia de la Leptospirosis como una zoonosis reemergente en México. México ISB: Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, SSA, 1998: 9-12.
35. Avdeeva MG. Outcome and tendency of late convalescence in icterohaemorrhagic leptospirosis. Klin Med (Mosk) 2003; 81: 42-47.
36. Rathinam SR. Ocular manifestations of leptospirosis. J Postgrad Med 2005; 51: 189-194.
37. Elizalde 2004 Elizalde CAA, Tenorio GG, Velasco-Castrejón O. Identificación de *Leptospira* en la patogénesis de la uveítis crónica en la Ciudad de México. Rev Mex Oftalmol 2004; 78: 165-170.
38. Nicolesco M, Andrescu N. May human leptospirosis develops as a chronic infection? Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Htg 1984; 257: 531-534.
39. Velasco-Castrejón O, Rivas-Sánchez B, Rivera-Reyes HH. Transición de la leptospirosis aguda a crónica. Seguimiento de siete casos. Rev Mex Patol Clin 2009; 56: 183-192.
40. OIE. Leptospirosis (Chapter 2.2.4). In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. 5th ed., 2004. Available in: www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/