

Leptospirosis: una zoonosis que afecta a la salud pública y la producción pecuaria

Patricia Hernández Rodríguez*
Arlen Patricia Gómez Ramírez**

RESUMEN

La *Leptospira* es una espiroqueta gramnegativa, móvil y de crecimiento lento, lo que hace difícil su identificación microbiológica. Esta bacteria se divide en doce especies patógenas y cuatro saprófitas, que se clasifican en aproximadamente veinte serogrupos y más de 250 serovares. La *Leptospira* tiene la capacidad de causar infección en sus hospederos de mantenimiento (roedores), en los accidentales (bovinos, equinos, porcinos, caninos, felinos), así como en los humanos, considerándose una zoonosis importante. La leptospirosis es una enfermedad cuyas manifestaciones clínicas, muy variadas, van desde cuadros subclínicos, abortos, momificaciones y mortalidad al nacimiento que afecta los ciclos de producción y productividad, hasta provocar complicaciones multiorgánicas que pueden conducir a la muerte. La leptospirosis causa un alto impacto en salud pública tanto en zonas rurales como

urbanas, sin embargo, los estudios epidemiológicos permanecen inciertos en muchas regiones y países, lo cual hace que el impacto económico originado por la *Leptospira* no esté aún determinado. Esto, sumado a la falta de métodos diagnósticos que identifiquen el agente etiológico con precisión, hace necesario buscar nuevas estrategias para lograr un diagnóstico preciso y confiable que permita establecer la prevalencia y el impacto económico de la enfermedad. Por consiguiente, con esta revisión se pretende realizar una síntesis del impacto de la enfermedad y de las principales metodologías diagnósticas que contribuyen a la identificación del microorganismo que causa esta zoonosis que afecta a la salud humana y animal, así como a la industria pecuaria en el mundo.

Palabras clave: leptospirosis, industria pecuaria, salud pública, métodos diagnósticos.

* MSc en Biología, Pontificia Universidad Javeriana. Especialista en Epidemiología, Universidad del Rosario. Docente investigadora, directora grupo de investigación Biología Molecular e Inmunogenética (Biomigen), Centro de Investigación en Medicina y Reproducción Animal (CIMRA), programa de Biología, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: phernandez@unisalle.edu.co.

** PhD en Ciencias-Salud Animal, Universidad Nacional de Colombia. Docente investigadora, grupo de investigación en Epidemiología y Salud Pública, Centro de Investigación en Medicina y Reproducción Animal (CIMRA), programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: agomez@unisalle.edu.co.

LEPTOSPIROSIS: ZONOSIS THAT AFFECTS PUBLIC HEALTH AND LIVESTOCK PRODUCTION

ABSTRACT

Leptospira is a mobile, slow-growth Gram-negative spirochaete, which makes its microbiological identification more difficult. This bacterium is divided into twelve pathogen species and four saprophyte species, classified into approximately twenty serogroups and over 250 serovars. *Leptospira* can cause infection in its maintenance hosts (rodents), accidental hosts (cattle, horses, pigs, dogs, cats), as well as in humans, and it is considered to be an important zoonosis. Leptospirosis is a disease with varied clinical manifestations ranging from subclinical conditions, abortions, mummifications and mortality at birth that affect production and the productivity cycles until provoking multi-organic complications that may lead to death. Leptospirosis has a high impact on public health, both in rural and urban areas. However, epidemiologic studies are still

uncertain in many regions and countries, which causes the economic impact originated by *Leptospira* to remain undetermined. This, together with the lack of diagnostic methods to pinpoint the etiological agent, makes it necessary to search for new strategies to achieve a precise and reliable diagnosis that enables the establishment of a disease's prevalence and economic impact. Therefore, the purpose of this review is to sum up the impact of the disease and the main diagnostic methodologies that contribute to identifying the microorganism that causes this zoonosis, which affects both human and animal health, as well as the cattle industry in the world.

Keywords: leptospirosis, cattle industry, public health, diagnostic methods.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana de importancia económica en la industria pecuaria, debido a que causa pérdidas reproductivas por abortos, mortinatos e infertilidad. En esta industria también genera pérdidas no reproductivas, debido a que los bovinos afectados presentan cuadros de septicemia y nefritis. Adicionalmente, se presume que la leptospirosis es una de las zoonosis más extendidas en el mundo (Levett, 2001; Grooms, 2006). Esta enfermedad también afecta a otras especies animales de importancia pecuaria, como porcinos, ovinos y caprinos, generando pérdidas económicas significativas, debido al incremento en los costos de producción por el diagnóstico tardío y poco preciso. En humanos la situación es aún más crítica, debido a que produce una infección crónica que en muchas ocasiones conduce a la muerte. Otro factor es la falta de estudios epidemiológicos en muchos países, en los que la prevalencia y la incidencia no se conocen de forma real (Adler y de la Peña, 2010). Como puede notarse, la mayoría de las dificultades referidas a la leptospirosis indican la necesidad de implementar medidas de control y de precisar el diagnóstico por medio de técnicas sensibles y confiables que confirmen una enfermedad de escaso control, cuyas manifestaciones clínicas son indeterminadas y muchas veces mortales.

La leptospirosis es considerada una enfermedad de gran importancia a nivel mundial, particularmente en los países húmedos tropicales y subtropicales. Las leptospiras patógenas pueden ser eliminadas en la orina de los animales que actúan como reservorios, sobrevivir en el suelo y el agua, e infectar a los humanos a través de la piel lesionada o las membranas mucosas. Estudios recientes han demostrado la adaptabilidad de esta bacteria al hospedero y la evasión de la respuesta inmune (Xue et ál., 2010). El cuadro clínico de la enfermedad varía dependiendo de la especie afectada: en los caninos, la leptospirosis cursa con fiebre, ictericia, vómito, diarrea, coagulación intravascular

diseminada, uremia, diátesis hemorrágica y muerte (Bolin, 1996); en los equinos, el cuadro crónico se presenta generalmente con uveítis recurrente (Rohrbach et ál., 2005); en los bovinos y los porcinos, la enfermedad se manifiesta con fallas reproductivas, abortos, mortinatos, momificación fetal, presentación de neonatos débiles y agalactia (Ramos et ál., 2006; Givens y Marley, 2008).

La implementación de normas de bioseguridad en la cadena primaria de la industria pecuaria desempeña un papel importante en la prevención y el control de la leptospirosis, particularmente los programas diseñados para el control de plagas como los roedores y el estancamiento de aguas (Sanderson y Gnad, 2002). Adicionalmente, diversos grupos de investigación centran sus esfuerzos en desarrollar vacunas que confieran una mayor protección a los animales, destacándose las vacunas recombinantes (de proteínas de membrana externa, lipoproteínas y factores de virulencia), vacunas de LPS, vacunas inactivadas y atenuadas y vacunas de ADN. Sin embargo, los resultados de los ensayos clínicos para cuantificar la efectividad de estos factores biológicos son relativamente insatisfactorios (Wang et ál., 2007), por lo que siguen generándose estudios para caracterizar la enfermedad y así lograr el control en los hospederos, disminuyendo el impacto en la salud pública humana y veterinaria.

ETIOLOGÍA

La leptospirosis es una infección causada por la espiroqueta *Leptospira*. La familia *Leptospiraceae*, género *Leptospira*, se ha clasificado a partir de estudios genéticos y serológicos que determinan las diferentes especies, de las cuales se consideran patógenas las siguientes: *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira inadai*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira kischeri*, *Leptospira noguchii*, *Leptospira santarosai* y *Leptospira weilii*. De las especies saprofitas se conocen: *Leptospira biflexa*, *Leptospira meyeri* y *Leptospira wolbachii* (Ramadass y Marshall, 1990; Yasuda et ál., 1987). Las serovariantes

se definen por el uso de antisueros de conejo que aglutinan una sola cepa de *Leptospira*; asimismo, las serovariantes deben ser justificadas por sus características ecológicas, patogénicas o epidemiológicas. Las serovariantes cuyos antisueros reaccionan de manera cruzada tienen alguna afinidad antigénica, por esta razón son consideradas dentro del mismo serogrupo. De esta forma, los serogrupos incluyen las serovariantes con aglutinación cruzada pero que no tienen reacción con ningún otro miembro del resto de los serogrupos. La *Leptospira interrogans* es la especie patógena más frecuente; de ella se conocen diecinueve serogrupos y unas 250 serovariantes (Yasuda et ál., 1987; Ramadass y Marshall, 1990; Adler y de la Peña, 2010), sin embargo, en estudios actuales basados en la identificación molecular, se han establecido doce especies patógenas y cuatro saprofitas (Adler y de la Peña, 2010).

La *Leptospira* es una espiroqueta Gram negativa, móvil y de crecimiento lento, lo que hace difícil su identificación microbiológica. Su motilidad se debe a dos flagelos periplásmicos, localizados en el espacio periplásmico (Picardeau et ál., 2001). Adicionalmente esta bacteria tiene una estructura de doble membrana, con una membrana citoplasmática y una pared celular de peptidoglicano estrechamente relacionadas y rodeadas por una membrana externa con un gran contenido de LPS y proteínas de membrana externa (OMP, por su sigla en inglés [*outer membrane proteins*]) (Haake et ál., 1998; Cullen et ál., 2004; Ko et ál., 2009).

La mayoría de las leptospiros presentan un grado de preferencia por un huésped. Se considera que las serovariantes hardjo, icterohaemorrhagiae, pomona y canicola se mantienen en los bovinos, los roedores, los porcinos y los caninos, respectivamente. Sin embargo, pueden tener huéspedes incidentales y, de esta forma, las leptospiros que pertenecen a una serovariante en particular no son necesariamente específicas de un huésped (Blackmore y Scholium, 1980). Dentro de la serovariante hardjo se han descrito dos cepas o genotipos denominados: harjoprajitno y hardjobovis, lo que

explica las diferencias en antigenicidad, inmunogenicidad y patogenicidad dentro de una misma serovariante (Griffiths, Gallego, y Villamil, 1982; Ellis et ál., 1984; Jolkik et ál., 1988; Ramadass y Marshall, 1990).

El principal componente de la *Leptospira* son los LPS, los cuales se expresan como antígenos (Ag) aglutinantes de la superficie de la bacteria. La reacción de aglutinación es una prueba estándar de referencia para la clasificación serológica, la cual se fundamenta en la identificación de los LPS. En métodos como el Elisa, la hemoaglutinación, la fijación de complemento y la inmunofluorescencia, entre otros, los Ag que participan casi siempre son similares o relacionados con los LPS. Los Ag proteicos se encuentran en un rango de 30 KD a 66,5 KD, de los cuales una proteína predominante de 63 KD reacciona con casi todas las cepas de *Leptospira*; esta proteína no solo tiene reacción cruzada entre las leptospiros, sino también con otras bacterias (Hill, 1988; Brown, Lefebvre y Pan, 1991).

Ciertas proteínas estructurales y funcionales caracterizadas a nivel genético se encuentran muy constantes en este género y en muchas otras bacterias. Estos elementos incluyen: la esfingomielinasa C, la proteína del núcleo flagelar, la proteína de *shock* térmico Hsp de 64 KD, la OmpL1 encontrada solo en las leptospiros patógenas y una hemolisina encontrada en la *Leptospira interrogans* serovar pomona. También se han identificado genes únicos de las leptospiros y sus productos enzimáticos, entre los que se destacan: Ag lábil al calor, Ag flagelares específicos FaB de 32 KD y otras proteínas específicas de las serovariantes o serogrupos (Barnett, 1999; Zhangn et ál., 2005; Cerqueria et ál., 2009).

EPIDEMIOLOGÍA

En la última década, los países tropicales y subtropicales han modificado las estrategias de producción agropecuaria, con el fin de lograr un mayor rendimiento en un menor espacio. Esto ha generado un aumento

en la población animal en la mayoría de las especies productivas, particularmente en aquellas cuyos productos son accesibles para la población. Estos cambios en los mecanismos de producción animal traen consigo variaciones en la transmisión de infecciones zoonóticas, en su distribución y en los tipos de contaminación del ambiente (Faine, 1993; OMS, 1998).

La distribución de la leptospirosis en el continente americano es amplia; sin embargo, en la mayoría de los países no existen programas de vigilancia epidemiológica y pocos cuentan con laboratorios de diagnóstico efectivo; por esta razón, la notificación de casos es esporádica y por lo general se basa en hallazgos serológicos. La Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó en 1997 que entre 1992 y 1996 se registraron 23.077 casos en humanos y 329 defunciones en 11 países de América. Brasil notificó el mayor número de casos (42%), seguido de Cuba (36,8%), Nicaragua (10,9%) y México (7,4%). En 1996, en Río de Janeiro (Brasil) ocurrió un brote de leptospirosis con 1425 casos y 22 defunciones. Según reportes de la OPS, durante el periodo 1992-1996 se registraron 29.190 casos en bovinos, con 9195 muertes en 9 países de América (Ellis et ál., 1984; OMS, 1998).

La prevalencia de las infecciones por los diferentes serovares de *Leptospira* en las explotaciones pecuarias de los países tropicales y subtropicales aún no se conoce. Según estudios recientes de leptospirosis en la industria pecuaria de Estados Unidos, la prevalencia está entre un 35%-50%, en el que la mayoría de esas infecciones probablemente se deben a la serovariedad hardjo (Grooms y Bolin, 2005).

De acuerdo con los datos presentados por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), durante el 2005 se diagnosticó la enfermedad en bovinos, siendo, junto con la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), la diarrea viral bovina (DVB) y las enfermedades hemoparasitarias, la patología con mayor frecuencia de registro. A pesar de estos reportes, no se conocen las cifras

correspondientes (Orjuela et ál., 2007). Según los estudios de seropositividad de bovinos por la prueba de microaglutinación (MAT), las regiones con los reportes más altos son Caldas (68,3%) (Aricapa et ál., 2008) y el altiplano cundiboyacense (60,55%) (Gallego, 2001); sin embargo, estos son estudios aislados que no reflejan el estado real de la enfermedad en la industria pecuaria colombiana.

La gran capacidad que tienen las leptospiras para sobrevivir en la orina y contaminar permanentemente el medio, constituye una de sus características epidemiológicas más sobresalientes. Los cerdos desempeñan un papel epidemiológico importante para los bovinos que pastan cerca de explotaciones porcícolas, más aún cuando las heces de estos animales son utilizadas como abonos en los potreros (Griffiths, Gallego y Villamil, 1982). Algo característico de la transmisión de la bacteria es que diferentes serovares de *Leptospira* pueden estar presentes en una misma especie, y varias especies animales pueden portar un mismo serovar (Ramadass y Marshall, 1990; Yasuda et ál., 1987), siendo esto determinante en el ciclo de mantenimiento de la bacteria.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS EN HUMANOS Y EN BOVINOS

En términos generales, la leptospirosis es una enfermedad infecciosa que se caracteriza por la presentación de esplenomegalia, ictericia y nefritis; sin embargo, este microorganismo es la causa de un gran número de síndromes en el hombre y en animales domésticos y salvajes (Faine, 1993).

En los humanos, la leptospirosis presenta dos fases: la primera, denominada leptospirémica, se caracteriza porque las leptospiras se encuentran en la sangre y el líquido cefalorraquídeo (LCR). Esta fase inicia con cefalea, dolores musculares severos, especialmente en muslos y regiones lumbares; dolor a la palpación, hiperestesia cutánea severa (causalgia) y escalofríos,

seguidos de aumento rápido de la temperatura con presencia de picos febriles. La mitad de los pacientes tienen anorexia, náuseas y vómito. Las manifestaciones pulmonares como la tos y el dolor torácico varían en frecuencia desde el 25% al 86%, rara vez hay hemoptisis y se han reportado casos de síndrome de dificultad respiratoria del adulto (Ellis et ál., 1984). Dentro de los signos clínicos comunes se pueden encontrar: infección faríngea, hemorragias cutáneas y erupciones dérmicas maculares o maculopapulares. Esta fase termina después de cuatro a nueve días, generalmente con mejoría y con la desaparición de las leptospiras en la sangre y el LCR (Chu et ál., 1998).

La segunda fase, llamada “inmune”, se caracteriza por la aparición de anticuerpos de isotipo IgM. Las manifestaciones clínicas de esta fase muestran mayor variabilidad que las de la primera. Después de un periodo relativamente asintomático (uno a tres días), la fiebre y los síntomas tempranos recurren y puede presentarse meningitis (Chu et ál., 1998). Las lesiones producidas por la enfermedad se localizan en el riñón, el hígado, el pulmón y las meninges (Chu et ál., 1998; Kanchan et ál., 2008).

En los bovinos, las rutas usuales de infección son las membranas mucosas nasales, orales y de la conjuntiva, así como abrasiones de la piel. El periodo de incubación es de tres a doce días, seguido por una fase leptospirémica que puede ser muy breve (solo unas pocas horas), y puede persistir hasta siete días. Los síntomas usuales de la infección generalizada son fiebre, anorexia, disnea y postración. Esta es la fase en la cual las leptospiras son llevadas a órganos internos, como el hígado, los riñones, el útero, la vagina, los ovarios, los oviductos, las membranas fetales, el feto y la glándula mamaria, en las vacas, y a los testículos, el epidídimo y las vesículas seminales, en los toros, lugares en los que ocasionan un daño tisular más o menos severo de acuerdo con las características de la serovariante involucrada. La infección de las membranas fetales y

del feto puede ocasionar aborto (Thiermann, 1982). Los abortos, los mortinatos o el nacimiento de terneros débiles se producen como consecuencia de la infección por el serovar hardjo, pero generalmente solo se observan cuando una vaca se infecta por primera vez durante la preñez; de esta forma, los abortos pueden ocurrir semanas después de la infección de la hembra, sin estar asociados a ninguna enfermedad reproductiva evidente. También se ha reportado el nacimiento de terneros aparentemente sanos pero infectados, así como la retención de las membranas fetales en vacas infectadas con este serovar. Los abortos debido a la infección por el serovar hardjo tienden a aparecer de forma esporádica en lugar de las “tormentas” de abortos que pueden ocurrir como resultado de la infección por los serovares pomona y grippytyphosa (Grooms, 2006). Los organismos pueden aislarse de la sangre y la leche durante esta etapa. A la necropsia se observan las bacterias prácticamente en todos los órganos internos (Thiermann, 1982).

La fase de leptospiremia termina aproximadamente con la aparición de anticuerpos en el suero y este microorganismo es eliminado en los órganos internos, a excepción del riñón, donde sobrevive en los túbulos renales y el tracto genital. De allí se excreta en grandes cantidades el microorganismo por diversos periodos de tiempo (Hathaway y Little, 1983; Ellis et ál., 1984, 1986).

Una de las características más destacadas y de mayor importancia económica de las infecciones por el serovar hardjo es la infección persistente de los tractos genitales femenino y masculino de los bovinos, la cual puede durar por más de doce meses (Leonard et ál., 1992). A pesar de la importancia de dicho hallazgo, la ubicación exacta de la infección no se conoce; sin embargo, la bacteria ha sido aislada de diversas partes del tracto reproductivo femenino (Ellis et ál., 1986). Otros serovares, como pomona, persisten durante intervalos más cortos. A la leptospirosis también se asocia la infertilidad, que se manifiesta en el aumento

de los servicios por concepción y los intervalos entre partos prolongados (Guitian et ál., 1999).

A pesar de que la patogénesis de estos eventos reproductivos no se entiende totalmente, es posible que la presencia de la *Leptospira* en el útero y en los oviductos de las vacas infectadas interfiera con la implantación del embrión u otros eventos asociados con las primeras etapas de la preñez (Grooms, 2006).

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Los primeros estudios para la identificación de la *Leptospira* se realizaron con técnicas directas, como la observación del microorganismo en campo oscuro. Posteriormente fueron diseñadas técnicas como MAT, que se ha utilizado como una técnica de tamizaje. En los años ochenta, cuando se iniciaron los estudios en biología molecular, se implementó el uso de las enzimas de restricción para el conocimiento taxonómico de algunas serovariantes de *Leptospira* (Barnett, 1999; Tomoroni, Sada y Yuzuru, 1988; Tsuyoshi et ál., 1998; Haake et ál., 1988). Los estudios actuales han permitido identificar molecularmente muchas de las fracciones proteicas más antigénicas; además, se han identificado muchas serovariantes importantes para establecer diferencias fisiopatogénicas de la leptospirosis.

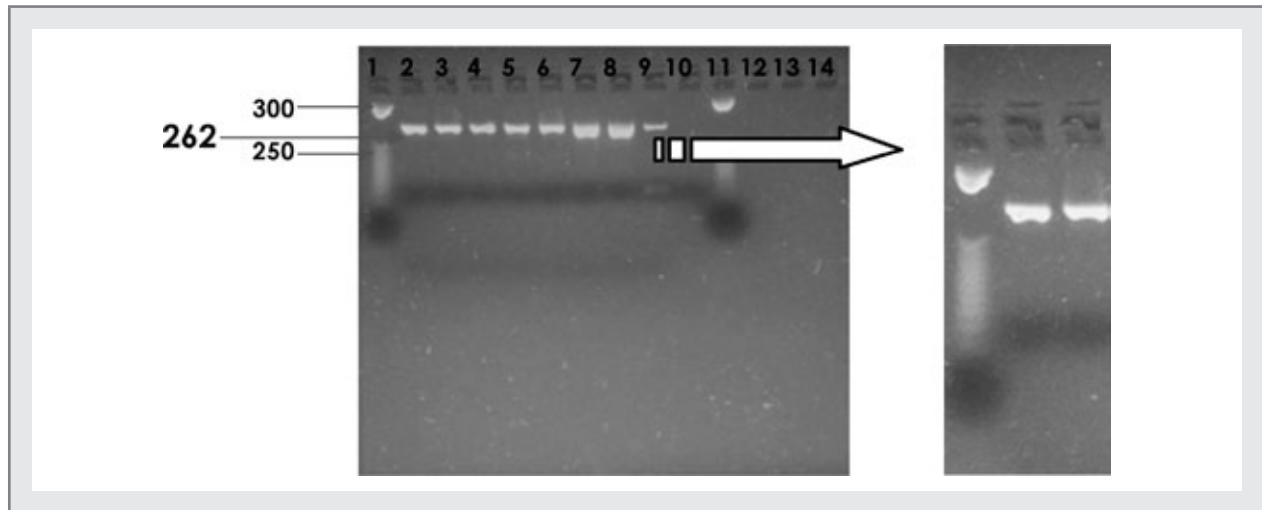
Los métodos diagnósticos más utilizados para determinar la presencia de la enfermedad son: 1) *examen directo*: este se caracteriza por la visualización directa de la bacteria en campo oscuro, demostrándose la presencia del microorganismo en la sangre, la orina y el LCR, generalmente durante la fase febril o de leptospiremia; 2) *cultivo*: el aislamiento se obtiene de muestras de sangre, orina y de biopsias de tejidos del riñón o del hígado; 3) *pruebas serológicas*: dentro de estas pruebas se encuentra la aglutinación, que detecta anticuerpos comunes para Ag de *Leptospira*, pero cuyo uso es limitado por su baja sensibilidad y especificidad (Chu et ál., 1998). La aglutinación microscópica se ha

observado por la prueba MAT, con la cual se determina la presencia de anticuerpos de diversas serovariantes de *Leptospira interrogans*. El panel de Ag incluye veintiún serovariantes. Entre las pruebas serológicas también se encuentran los ensayos inmunoenzimáticos, como Elisa, y la inmunocromatografía (Sanders et ál., 1999). Otros métodos utilizados son: las tinciones argéntica e inmunogold silver marcado con oro-plata; las inmunohistoquímicas, como la inmunoperoxidasa; los antiserosos marcados con fluoresceína y las pruebas de biología molecular, que incluyen la amplificación de DNA por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP).

Las pruebas moleculares por PCR convencional permiten la diferenciación entre especies patógenas y saprofitas (Escamilla et ál., 2007; McBride et ál., 2009; Yan et ál., 2009; Hernández-Rodríguez et ál., 2011). En los estudios realizados en la Universidad de La Salle se ha logrado la caracterización de cepas patógenas y saprofitas a través de herramientas moleculares (figura 1) (Hernández et ál., 2008). También se puede evaluar la expresión de genes que codifican para las proteínas de patogenicidad por PCR en tiempo real (qPCR), con el fin de buscar nuevos métodos diagnósticos y desarrollar vacunas que permitan plantear estrategias de control y prevención eficientes en especies altamente susceptibles, como bovinos, caninos e incluso humanos afectados por leptospirosis. Estos resultados aportarían claves para futuras investigaciones en cepas con potencial inmunógeno, con el fin de mejorar los tiempos de extracción para lograr la máxima expresión de los componentes antigénicos.

En la parte izquierda de la figura se observa la banda de 262 pb en muestras y controles positivos que identifica leptospirosis patógenas (carriles 2 a 9); en los carriles 1 y 11, el marcador de peso molecular con bandas de 300 y 250 pb; en el carril 10, el blanco de reactivos. En la derecha se observa una amplificación de la foto que evidencia claramente las bandas.

FIGURA 1. CARACTERIZACIÓN DE CEPAS PATÓGENAS Y SAPROFITAS



Fuente: Hernández-Rodríguez (2011)

CONCLUSIONES

Leptospira es una bacteria que genera impacto en la población animal y puede afectar de manera mortal a los humanos. La leptospirosis, como otras enfermedades zoonóticas, continúa registrando altas tasas de incidencia en diversos países y causando significativa morbilidad y mortalidad en la población, así como pérdidas considerables en la industria pecuaria (OMS, 1998; Aycardi et ál., 1982). En los bovinos con leptospirosis la causa más común de morbimortalidad son los abortos y la infertilidad, eventos que también son comunes en otras enfermedades de importancia reproductiva. Esto hace imperativo un diagnóstico preciso y diferencial que identifique el agente etiológico y que permita establecer un tratamiento rápido y efectivo. Es de importancia generar propuestas de investigación que puedan ampliar el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad, así como incorporar técnicas rápidas con alta sensibilidad y especificidad que identifiquen la presencia del microorganismo, debido a que la leptospirosis es una patología sobre la cual se deben establecer y ejecutar campañas de control y divulgación enfocadas al mejoramiento de la salud humana y animal.

REFERENCIAS

- Adler B. & De la Peña, M. (2010, enero 27). *Leptospira* and leptospirosis. *A. Vet Microbiol.* 140 (3-4), 287-296.
- Barnett, D. (1999). Expression and distribution of leptospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. *Infection and Immunity*, 67(2), 853-861.
- Blackmore, D.K. & Scholium, L.M. (1980). Leptospirosis: a neglected health hazard in the meat industry? *Proceedings of 26th European Meeting of Meat Research Workers*, 2, 313-315.
- Brown, J.; Lefebvre, R, & Pan, M.J. (1991). Protein and antigen profiles of prevalen serovars of *Leptospira interrogans*. *Infection and Immunity*, 59, 172-177.
- Cerqueria, G. et ál. (2009). Distribution of the leptospiral immunoglobulin-like (lig) genes in pathogenic *Leptospira* species and application of ligB to typing leptospiral isolates. *J. Med. Microbiol.*, 58, 1173-1181.
- Chu, K. et ál. (1998). Identification of leptospira species in the pathogenesis of uveitis and determination of clinical ocular characteristics in South India. *The Journal of Infectious Diseases*, 177, 1314-1321.
- Ellis, W.A. (1984). Bovine leptospirosis in the tropics: Prevalence, pathogenesis and control. *Preventive Veterinary Medicine*, 2, 411-421.

- Ellis, W.A. et ál. (1986). Prevalence of *Leptospira interrogans* serovars hardjo in the genital and urinary tracts of non-pregnant cattle. *Veterinary Record*, 118, 11-13.
- Escamilla, H. et ál. (2007) Frequency and causes of infectious abortion in a dairy herd in Mexico. *Can. J. Vet. Res.*, 71, 314-317.
- Faine, S. (1993). *Leptospira and Leptospirosis*. London: Edit. Press.
- Griffiths, I.B.; Gallego, M.I. & Villamil, L.C. (1982). *Factores de infertilidad y pérdidas económicas en el ganado de leche en Colombia*. Bogotá: Publicación ICA 00-2.2.94.82.
- Haake, D. et ál. (1998). Characterization of *Leptospira* outer membrane lipoprotein LipL36: down regulation associated with late-log-phase growth and mammalian infection. *Infection and Immunity*, 66(4), 1579-1584.
- Hathaway, S.C. & Little, T.W. (1983). Epidemiological study of *Leptospira* Hardjo infection in second calf dairy cows. *Veterinary Record*, 112, 215-218.
- Hernández, P. et ál. (2008). *Informe final del proyecto: Evaluación comparativa de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con técnicas microbiológicas y serológicas para el diagnóstico de leptospirosis en bovinos de la sabana de Bogotá*. Bogotá: Universidad de La Salle.
- Hernández-Rodríguez, P. et ál. (2011, enero). A comparison between polymerase chain reaction (PCR) and traditional techniques for the diagnosis of leptospirosis in bovines. *J. Microbiol. Methods*, 84(1), 1-7.
- Hill, T. (1988). Interpretation of serologic results of some important swine disease. *Compendium on Continuing Education*, 10, 979-985.
- Hoyos, R. (1987). *Zoonosis*. Manizales: Universidad de Caldas, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Jolkik, W.K. et ál. (1988). *Zinsser Microbiology* (19th ed.). East Norwalk, Connecticut: Appleton and Lange.
- McBride, A. et ál. (2009). Genetic diversity of the leptospiral immunoglobulin-like (Lig) genes in pathogenic *Leptospira* spp. *Infect. Genetics and Evolution*, 9(2), 196-205.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (1998). Enfermedades y daños a la salud. *Salud en las Américas*, 1, 143-147.
- Ramadass, P. & Marshall, R.B. (1990). Species differentiation of *Leptospira interrogans* serovars hardjo strain Hardjobovis from strain Hardjoprajitno by DNA slot blot hybridisation. *Res. Vet. Sci.*, 49, 194-197.
- Sanders, E. et ál. (1999). Increase of leptospirosis in dengue negative patients after a hurricane in Puerto Rico in 1966. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61(3), 399-404.
- Thiermann, A.B. (1982). Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the Hebdomadis serogroup. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 780-784.
- Tomonori, T.; Sada, E. & Yuzuru, K. (1988). Restriction endonuclease DNA analysis of *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae and Copenhageni. *Microbiology Immunology*, 32(9), 887-894.
- Tsuyoshi, Y. et ál. (1998). Restriction endonuclease DNA analysis of antigenic variants of leptospires selected monoclonal antibodies. *Microbiology Immunology*, 32(10), 1007-1010.
- Yan, W. et ál. (2009). Immunogenicity and protective efficacy of recombinant *Leptospira* immunoglobulin-like protein B (rLigB) in a hamster challenge model. *Microbes Infect.*, 11(2), 230-237.
- Yasuda, P.H. et ál. (1987). Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. *Int. J. Syst. Bact.*, 37(4), 407-415.
- Zhangn, X. et ál. (2005). Expression and comparative analysis of genes encoding outer membrane proteins LipL21, LipL32 and OmpL1 in epidemic leptospires. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 37(10), 649-656.

