

LEPTOSPIROSIS HUMANA COMO ZONOSIS Y SU CONTROL

Felipe Schelotto, Elba Hernández, Gustavo Varela, Alicia Del Monte, Paulina Meny, Sabina González, Silvana Ifrán, Karina Flores, Lorena Pardo, Mercedes Filippini, Daniel Parada, Juan Pablo Geymonat.

Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina UdelaR, y Cooperativa Médica de Florida. (felipe@higiene.edu.uy)

Luego de contribuir durante más de 10 años con nuestro grupo de trabajo al diagnóstico de laboratorio de los casos de leptospirosis humana en Uruguay, y de participar en el estudio de los pacientes, de la epidemiología de la afección y de las acciones destinadas a su control, hemos estimado que esta infección ocurre anualmente en unos 15/100.000 habitantes (1).

Esta cifra estimada surge de registrar los casos confirmados por microaglutinación MAT en nuestro laboratorio del Instituto de Higiene, de tener en cuenta la probable positividad de múltiples diagnósticos incompletos realizados sin segunda muestra de los pacientes en período convaleciente o practicados por métodos de tamizaje como Elisa, inmuno- fluorescencia, inmunocromatografía, y de considerar que la amplia mayoría de las infecciones transcurren habitualmente de forma subclínica o sin acceso a atención y diagnóstico (2).

Hemos examinado a partir del año 2000 los sueros de más de 7800 pacientes, confirmando entre 1000 y 1100 casos, de aproximadamente 50% de los cuales contamos con registros clínicos y epidemiológicos básicos.

Estas cifras de prevalencia o de incidencia anual (muy similares, ya que son afecciones agudas que no pasan a la cronicidad) son elevadas en la comparación internacional; son decenas de veces superiores a las que se presumían ciertas antes de la decisión oficial (1998) de requerir notificación obligatoria, y antes de asumir la necesidad de organizar formalmente el acceso al diagnóstico humano (3-9).

No creemos que se trate de una enfermedad realmente emergente, sino de una afección descuidada o desatendida antes de 2000 en el ser humano por falta de conocimiento o interés desde el sistema de Salud. Antes de esta fecha,

la leptospirosis era especialmente tema de preocupación (lo sigue siendo) de productores y médicos veterinarios debido a su repercusión negativa sobre la sanidad de animales de producción y la economía agropecuaria; un limitado círculo de médicos y personal de Salud contribuían a la atención de la afección humana, enfocando puntualmente los casos más graves, con repercusión hepática, renal, cardíaca u otra condición crítica y letalidad aparentemente alta (9-13).

Roedores y perros son habitualmente identificados por enfermeras, médicos, veterinarios y personal de Salud en general como fuente de infección humana, pero otras especies de animales domésticos o de producción no han sido todavía ampliamente reconocidos como origen potencial de enfermedad sobre el cual es pertinente actuar con medidas preventivas.

Sin embargo, la evidencia local, agregada a la información internacional, apuntan a la población bovina, abundante en nuestro país y en la región, como reservorio frecuente de este germen zoonótico y fuente probablemente habitual de contaminación humana (14-23).

Si bien nuestro laboratorio está radicado en Montevideo, de 85 a más de 95% (según períodos) de las personas confirmadas como infectadas proceden del Interior del país.

La distribución territorial de los pacientes con diagnóstico confirmado muestra que los casos ocurren principalmente en las zonas donde se concentran los establecimientos lecheros, en los cuales hay un contacto próximo de la población bovina con otros animales y con seres humanos ocupados en su manejo: Florida, Colonia, Canelones, San José, Soriano, Río Negro . . . aunque las infecciones ocurren en todo el país.

Los pacientes son habitualmente varones jóvenes entre 20 y 40 años, con máxima incidencia entre los 30 y los 40. Se trata de personas afectadas a tareas rurales en aproximadamente 70% de los casos, con frecuencia trabajadores de tambos. Sólo 5% de los infectados son mujeres, y pocos son niños; el ordeño y tareas similares en establecimientos de explotación rural intensiva suelen estar a cargo de aquéllos, con frecuencia expuestos a las excretas y la orina de animales sin

suficiente protección o cuidado de procedimientos. Es por vía urinaria que los animales infectados eliminan el germen, el cual ingresa al huésped humano o a otros animales a través de soluciones de continuidad de la piel, abiertas o inaparentes.

Hemos reconocido brotes localizados de infecciones en personas, perros y otros animales, en coincidencia con tormentas de abortos en bovinos. Hemos visitado los lugares afectados y observado conductas de riesgo que pueden explicar casos esporádicos o brotes.

Probablemente otros animales, incluyendo los cerdos que producen largos períodos de leptospiruria, están asociados con casos reconocidos en otras localizaciones (10, 24, 25).

De acuerdo a nuestros registros, un número menos importante de casos humanos, que incluye a trabajadores sanitarios, hurgadores, personas que se desempeñan en mercados de frutas y verduras, en producción de alimentos animales, víctimas de inundaciones y otros grupos afectados podrían estar vinculados al contacto con roedores o perros en zonas urbanas y suburbanas, industria de la madera y afines, como se ha informado en ciertas áreas de países vecinos (26, 27)

Globalmente, más de 70% de los pacientes positivos declaran contacto con bovinos, más de 60% con roedores y 50% aprox. con perros.

Las infecciones humanas suceden en nuestro país con mayor frecuencia en las estaciones lluviosas, otoño y primavera; creemos que en parte se ven favorecidas por la dispersión hídrica de las excretas animales, pero que esta secuencia tiene también vinculación (que conviene estudiar) con los ciclos de vida y reproducción animal, especialmente bovina.

Los serovares aglutinantes con mayor frecuencia e intensidad en los sueros humanos positivos son en general múltiples: Bratislava, Pyrogenes, Patoc, Mini, Icterohaemorrhagiae y otros, pero no son los habitualmente reconocidos como causantes de infección bovina, con excepción de Pomona; sin embargo, creemos que esta reactividad no señala las variedades realmente infectantes, sino las cepas de colección con mayor capacidad de reacción cruzada con anticuerpos y máxima sensibilidad en el diagnóstico por MAT.

Faine y col. (28) definen clásicamente 3 modelos epidemiológicos de desarrollo de la leptospirosis humana. El primero ocurre en zonas templadas, donde pocos serovares están involucrados y la infección humana ocurre casi invariablemente por contacto con animales de producción, bovinos y cerdos en establecimientos rurales. El segundo ocurre en áreas tropicales húmedas, involucra mayor cantidad de serovares que infectan al hombre y diversos animales, y la infección humana deriva principalmente de la amplia difusión ambiental de los gérmenes; son las regiones donde ocurren extensas epidemias vinculadas con inundaciones y otros desastres naturales. El tercero consiste en el modelo de transmisión a partir de roedores, en ambiente urbano; es de menor importancia relativa que los otros en el mundo, pero adquiere relevancia cuando la infraestructura urbana es alterada por circunstancias excepcionales. En nuestro país predomina claramente el primero, pero en el año 2004 la distorsión de la producción ganadera que pudo haber restringido el volumen del reservorio bovino, y la modificación simultánea de las condiciones suburbanas de vida por la crisis económica previa llevaron a un cambio transitorio de la epidemiología de la enfermedad, con una prevalencia cercana a 20% en el departamento de Montevideo.

La evolución de la leptospirosis humana es habitualmente aguda, y la recuperación completa. Ocurren formas graves, que requieren atención en cuidados intensivos; en 2001 se registró el máximo de siete fallecidos en el año, pero la letalidad ha descendido significativamente desde la segunda mitad de la década pasada, en paralelo con la recuperación económica y social, el avance del sistema de Salud y el progreso en la información, la atención y el diagnóstico médico y de laboratorio de la infección humana.

Fiebre, astenia, mialgias y cefalea son síntomas y signos presentes en 80 a 100% de los pacientes probadamente infectados y con expresión clínica; la mayoría presentan al menos otra manifestación clínica: la hiperemia conjuntival, los vómitos, otra sintomatología abdominal, hepática o los signos de disfunción renal o urinaria se presentan en 30 a 40% de los casos. La tos y otras manifestaciones respiratorias (a veces incluso hemoptisis o distress agudo) ocurren en 20 a 30 % de estos pacientes. La fotofobia, las alteraciones neurológicas (meningitis, confusión

transitoria), las hematológicas, petequias y otras formas de expresión clínica se presentan esporádicamente.

Las formas ictéricas de la leptospirosis se presentan con frecuencia significativamente más alta en los mayores de 40 años.

Pese a la existencia de publicaciones nacionales que ilustran con detalle la ocurrencia de formas clínicas poco habituales (12, 29), la presentación con síntomas y signos neurológicos, respiratorios o incluso abdominales ha confundido o retardado a veces el diagnóstico de esta infección por parte del personal de Salud poco advertido, lo cual revela la necesidad de insistir en la difusión de información y entrenamiento sobre este tipo de afecciones, su expresión proteiforme, la existencia de formas severas y el modo de prever y seguir su evolución y manejo (30-34).

Como parte de la actividad de vigilancia epidemiológica acerca de estos microorganismos y sus infecciones, hemos contribuido al análisis serológico de muestras de diversos animales, incluyendo perros, mamíferos marinos, venados, bovinos (23) y hemos ofrecido un servicio sostenido de diagnóstico de muestras humanas (1).

Hemos realizado además cultivos ambientales de diversas colecciones de agua en contacto con animales, y recuperado algunas cepas que procuramos analizar.

Este conocimiento epidemiológico se ha beneficiado en los últimos años por acuerdos con el Departamento de Laboratorios de Salud Pública y la División Epidemiología del MSP para la complementación recíproca de análisis de sueros humanos, y resulta fundamental para orientar las medidas de prevención y control.

Sin embargo, la información sigue siendo incompleta ya que se requiere avanzar en la identificación y características moleculares de las cepas circulantes y la comparación de las variantes asociadas con seres humanos, animales y ambiente. Este aspecto de la tarea ha resultado retrasado porque es imprescindible desarrollar procedimientos complejos de cultivo, de amplificación y examen de secuencias genéticas, ya que la reactividad cruzada en microaglutinación no señala siquiera claramente los serovares infectantes.

El corto y precoz período de bacteriemia que ocurre en la infección humana antes del reconocimiento y extracción de muestras de sangre para análisis contribuye a la limitada sensibilidad de los procedimientos de cultivo y PCR que pueden ser punto de partida de identificación de los microorganismos infectantes (35). Las muestras de orina son aún más complejas, ya que incluyen habitualmente flora asociada y pH inhibitorio, y requieren especial cuidado de recolección, rápido transporte y procesamiento.

Nuestro trabajo presente enfatiza la recuperación, aislamiento e identificación de cepas infectantes a partir de animales, en especial bovinos, que son fuente habitual de infección humana: órganos de vacunos faenados, muestras de animales enfermos o muertos y de abortos recientes. Aplicamos sobre estas muestras procedimientos de cultivo en semisólido Fletcher y caldo EMJH, inmunofluorescencia sobre tejidos, real-time qPCR, e identificación molecular por técnicas de restricción RFLP-PCR, MVLA (Análisis de Múltiples Locus de elementos repetitivos en tándem con número Variable) y electroforesis en campo pulsado PFGE (36-42).

El género *Leptospira* se ubica actualmente en el orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* y comprende al presente 21 genoespecies, (9 de las cuales se catalogan como patógenas) que contienen múltiples variantes antigénicas clasificadas como serovares, que incluyen a la vez diversas líneas celulares o cepas reconocibles (43).

La identificación de las características, distribución y modo de difusión de las cepas circulantes complementa el conocimiento clínico-epidemiológico de la leptospirosis en nuestro medio, y permite la implementación racional de las medidas de control de la misma.

Estas incluyen en primer lugar la formación del personal de Salud humana y animal para permitir el alerta sobre estas infecciones, la sospecha precoz frente al caso esporádico o el brote, el diagnóstico con auxilio de los recursos de laboratorio disponibles, y el tratamiento oportuno que debe ser precoz para ser útil en el ser humano.

Por tratarse de una enfermedad vinculada en general al trabajo rural y al contacto

próximo con animales, es necesario practicar, vigilar el empleo de medidas racionales de manejo de los mismos y de protección personal para sus excretas: uso de guantes, botas, vestimenta apropiada, procedimientos seguros de ordeño, de eliminación de deshechos líquidos, de atención de los partos, etc.

La quimioprofilaxis con doxyciclina es utilizable en situación de brote o epidemia (44, 45), pero la prevención efectiva del daño y de la difusión de la infección humana y animal requiere la inmunización específica.

Las vacunas de uso animal están habitualmente elaboradas con bacterias “enteras” inactivadas y deben ser preparadas, para ser efectivas, con las cepas circulantes en la zona y en los huéspedes afectados, porque la protección inducida es de duración limitada y se dirige de modo restringido a los serovares y cepas incluidas. Contribuyen a contener la difusión de la infección, los abortos bovinos, e indirectamente la transmisión al hombre; su formulación actualizada tiene interés económico y sanitario definidos y es conveniente la extensión de su empleo.

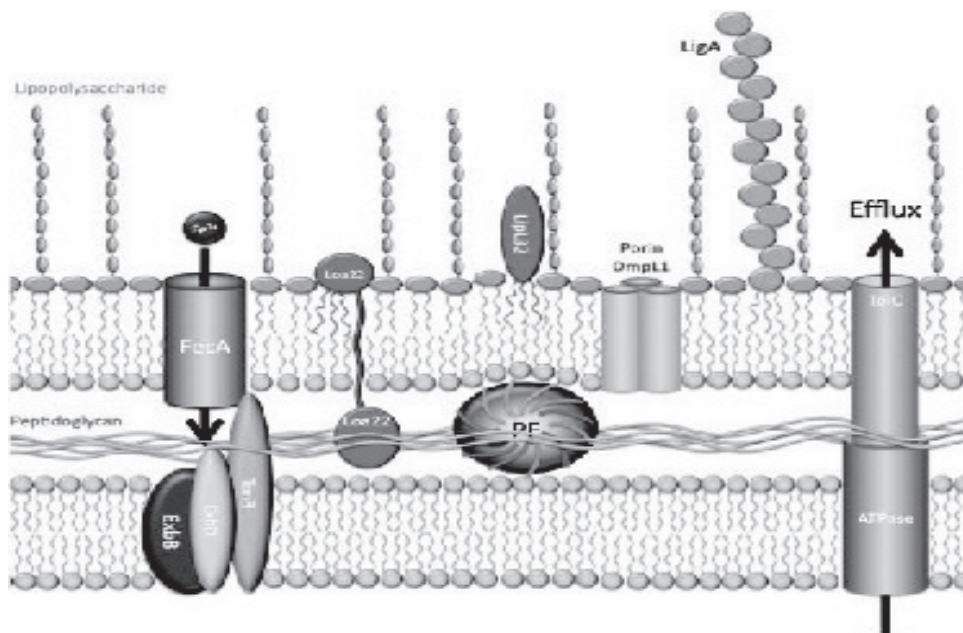
Las vacunas humanas con bacterias inactivadas tienen también limitaciones por sus potenciales efectos adversos, y por la duración y el espectro limitado de la protección inducida, dependiente de las cepas que contienen (46). Una vacuna licenciada para uso humano es producida en Cuba desde 2006 con serovares Canicola, Copenhageni y Mozdok, y contribuyó eficazmente al control de una epidemia en la isla (47).

La investigación en los centros de referencia sobre Leptospirosis se ha orientado, sin embargo, a la búsqueda de productos inmunizantes utilizables en animales y en el hombre, libres de efectos adversos, de acción prolongada, de espectro amplio de protección y constituidos por inmunógenos comunes a los serovares más frecuentes en la infección natural. Los ensayos se han concentrado en el empleo de proteínas o lipoproteínas de superficie como Lig A, Lig B, LipL32, OmpL1, Loa22 y otras, organizadas como proteínas recombinantes, como DNA vacunal, acopladas a proteínas transportadoras o incluidas en vectores biológicos (48-50).

Uno de los líderes en el campo de la Leptospirosis, Ben Adler con su grupo

australiano, ha cuestionado sin embargo el valor de la mayor parte de los preparados y los estudios realizados (51) y ha propuesto recientemente como estrategia alternativa el empleo de cepas atenuadas por modificación en su LPS, capaces de inducir respuestas cruzadas protectoras (52).

De todos modos, para producción o ensayo de utilidad de estos productos o de otros nuevos, es necesario conocer las características moleculares precisas de las cepas locales y su comportamiento en vivo.



Organización de la membrana externa de *Leptospira*. Contiene una combinación de lipopolisacárido, lipoproteínas de exposición superficial y proteínas transmembrana. Tomado de Haake y Matsunaga (48).

No se representan en la figura los flagelos periplásmicos, que también participan en interacciones de superficie.

REFERENCIAS

1- Schelotto F, Hernández E, González S, Del Monte A, Ifran S, Flores K, Pardo L, Parada D, Filippini M, Balseiro V, Geymonat JP, Varela G. A ten-year follow-up of human leptospirosis in Uruguay: an unresolved health problem. Rev. Inst. Med.

Trop São Paulo 54: 69-75, 2012.

2- Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev.14: 296-326, 2001.

3- Farr RW. Leptospirosis. Clin Infect Dis. 21: 1-6; 1995.

4- [Katz AR](#), [Buchholz AE](#), [Hinson K](#), [Park SY](#), [Effler PV](#). Leptospirosis in Hawaii, USA, 1999–2008. Emerg Infect Dis. 17: 221–226, 2011.

5- Guerra MA. Leptospirosis: Public health perspectives. Biologicals. 2013 Jul 10. pii: S1045-1056(13)00068-7. doi: 10.1016/j.biologicals.2013.

6- Barcellos C, Chagastelles Sabroza P. The place behind the case: leptospirosis risks and associated environmental conditions in a flood-related outbreak in Rio de Janeiro. Cad Saúde Pública. 17(Suppl): 59-67, 2001.

7- Jansen A, Schöneberg I, Frank C, Alpers K, Schneider T, Stark K. Leptospirosis in Germany, 1962-2003. Emerg Infect Dis. 11: 1048-1054, 2005.

8- Vieira ML, Gama-Simões MJ, Collares-Pereira M. Human leptospirosis in Portugal. A retrospective study of eighteen years. Int J Infect Dis. 10: 378-386, 2006.

9- Lombardi R. Acute renal failure in leptospirosis in Uruguay. Renal Fail. 19: 315-318, 1997.

10- Caffarena RM, Cacchione RA, Cascelli ES, Martínez ES. Avances en leptospirosis en el Uruguay. Rev Urug Pat Clín Microbiol.9: 186-194, 1971.

11- Lombardi R, Varela de Sandler A, Witkind J, Petruccelli D, Campalans LA. Insuficiencia renal aguda en la Leptospirosis. Rev Urug Patol Clin Microbiol. 10: 28-36, 1972.

12- Pisano I, Marra A, Pomi A, Boero A. Leptospirosis con compromiso miocárdico. Cuad Med Interna. 1: 51-55, 1997.

13- Ursu M, Lombardi R. Insuficiencia renal aguda en la leptospirosis: análisis de 20 casos. Paciente Crít. 6: 129-135, 1993.

14- Figueiredo AO, Pellegrin AO, Gonçalves VSP, Freitas EB, Monteiro LARC, de Oliveira JM, *et al.* Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. Pesq Vet Bras.29: 375-381, 2009.

15- Gamage CD, Koizumi N, Muto M, Nwafor-Okoli C, Kurukurusuriya S, Rajapakse JR *et al.* Prevalence and carrier status of leptospirosis in smallholder dairy cattle

and peridomestic rodents in Kandy, Sri Lanka. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11: 1041-1047, 2011.

16- Giatti-Rodrigues C, Eckehardt-Müller E, de Freitas JC. Leptospirose bovina: sorologia na bacia leiteira da região de Londrina, Paraná, Brasil. *Ciênc Rural (Santa Maria)*. 29: 309-314, 1999.

17- Juliano RS, Chaves NST, Santos CA, Ramos LS, Santos HQ, Meireles LR, *et al.* Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanhos leiteiros na microrregião de Goiânia-GO. *Ciênc Rural (Santa Maria)*. 30: 857-862, 2000.

18- León LL, García RC, Díaz CO, Valdez RB, Carmona GCA, Velázquez BLG. Prevalence of leptospirosis in dairy cattle from small rural production units in Toluca Valley, State of Mexico. *Ann NY Acad Sci.* 1149: 292-295, 2008.

19- Oliveira FCS, Azevedo SS, Pinheiro SR, Batista CSA, Moraes ZM, Souza GO, *et al.* Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. *Pesq Vet Bras.* 30: 398-402, 2010.

20- Repiso MV, Gil A, Bañales PM, D'Anatro N, Fernández L, Guarino H, *et al.* Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas que afectan el comportamiento reproductivo en la ganadería de carne y caracterización de los establecimientos de cría del Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*. 40 (157): 5-28, 2005.

21- Schoonman L, Swai ES. Herd-and animal-level risk factors for bovine leptospirosis in Tanga region of Tanzania. *Trop Anim Health Prod.* 42: 1565-1572, 2010.

22- Draghi MG, Brihuega B, Benítez D, Sala JM, Biotti GM, Pereyra M *et al.* Brote de leptospirosis en terneros en recría en la provincia de Corrientes, Argentina. *Rev Argent. Microbiol.* 43: 42-44, 2011.

23- Puentes R, Hernández E, Franco G, Cattáneo M, Furtado A, Rosadilla D, Bermúdez J.

Anticuerpos anti *Leptospira* en bovinos de pequeños productores lecheros de Uruguay.

XV Congreso Latinoamericano de Buiatría, 2011, 150411 Paysandú, Uruguay.

- 24- Caffarena RM, Agorio M, Barriola J. Comprobaciones serológicas de brucelosis y leptospirosis en suinos de la República Oriental del Uruguay. *An Fac Vet.* 11: 93-103, 1966.
- 25- García Rodríguez E, Suárez-Hernández M, García-Pérez RP, García-Cabrera R, Pedroso- Fernández S. Factores de riesgo de la leptospirosis humana en el municipio Ciego de Ávila. *Rev Cuba Hig Epidemiol.* 39: 207-213, 2001.
- 26- Scialfa E, Bolpe J, Bardón JC, Ridao G, Gentile J, Gallicchio O. Isolation of *Leptospira interrogans* from suburban rats in Tandil, Buenos Aires, Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 42: 126-128, 2010.
- 27- McBride AJ, Athanazio DA, Reis MG, Ko AI. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis.* 18: 376-386, 2005.
- 28- Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and Leptospirosis. 2nd ed. Melbourne: MediSci; 1999. Reprinted with corrections, May 2000. ISBN 0 9586326 0 X
- 29- Breijo M, Servioli L, De León A, Mencía X, Piñeyrúa M, Zimalkovski N. Leptospirosis con compromiso respiratorio predominante. Presentación de cinco casos clínicos. *Rev Med Urug.* 22: 220-225, 2006.
- 30- Bal AM. Unusual clinical manifestations of leptospirosis. *J Postgrad Med.* 51: 179-183, 2005.
- 31- Marotto PC, Nascimento CM, Eluf-Neto J, Marotto MS, Andrade L, Sztajnbok J, *et al.* Acute lung injury in leptospirosis: clinical and laboratory features, outcome and factors associated with mortality. *Clin Infect Dis.* 29: 1561-1563, 1999.
- 32- Jayakrishnan B, Ben Abid F, Balkhair A, Alkaabi JK, Al-Rawas OA, George J, Al-Zeedy K. Severe Pulmonary Involvement in Leptospirosis: Alternate antibiotics and systemic steroids. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 13: 318-322, 2013.
- 33- Panaphut T, Domrongkitchaiporn S, Thinkamrop B. Prognostic factors of death in leptospirosis: a prospective cohort study in Khon Kaen, Thailand. *Int J Infect Dis.* 6: 52-59, 2002.
- 34- Rajapakse S, Rodrigo C, Haniffa R. Developing a clinically relevant

- classification to predict mortality in severe leptospirosis. *J Emerg Trauma Shock*. 3: 213-219, 2010.
- 35- Ooteman MC, Vago AR, Koury MC. Evaluation of MAT, IgM Elisa and PCR methods for the diagnosis of human leptospirosis. *J Microbiol Methods* 65: 247-257, 2006.
- 36- Draghi MG, Brihuega B, Benítez D, Sala JM, Biotti GM, Pereyra M, Homse A, Guariniello L. Brote de leptospirosis en terneros en recría en la provincia de Corrientes, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 43: 42-44, 2011.
- 37- Pavan ME, Cairó F, Pettinari MJ, Samartino L, Brihuega B. Genotyping of *Leptospira interrogans* strains from Argentina by Multiple Locus Variable-number tandem repeat Analysis (MLVA). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 34: 135-141, 2011.
- 38- Salaün L, Mérien F, gurianova S, Baranton G, Picardeau M. Application of Multilocus Variable number tandem repeat Analysis for molecular typing of the agent of Leptospirosis. *J Clin Microbiol*. 44: 3954-3962, 2006.
- 39- Majed Z, Bellenger E, Postic D, Pourcel C, Baranton G, Picardeau M. Identification of Variable Number Tandem Repeat Loci in *Leptospira interrogans* sensu stricto. *J Clin Microbiol* 42: 539-545, 2005.
- 40- Turk N, Milas Z, Mojcec V, Ruzic-Sabljić E, Staresina V, Stritof Z, *et al*. Molecular analysis of *Leptospira* spp. isolated from humans by restriction fragment length polymorphism, real-time PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *FEMS Microbiol Lett*. 300: 174-179, 2009.
- 41- Levett, P. N., R. E. Morey, R. L. Galloway, D. E. Turner, A. G. Steigerwalt, and L. W. Mayer. Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *J. Med. Microbiol*. 54:45–49, 2005.
- 42- Chagas-Junior AD, da Silva CL, Soares LM, Santos CS, Silva CD, Athanazio DA, dos Reis MG, McBride FW, McBride AJ. [Detection and quantification of *Leptospira interrogans* in hamster and rat kidney samples: immunofluorescent imprints versus real-time PCR](#). *PLoS One*. 2012; 7(2): e32712. Epub Feb 29, 2012.
- 43- Cerqueira GM, Picardeau M. A century of *Leptospira* strain typing. *Infect. Genet. Evol*. 9: 760–768, 2009.

- 44- Dechet AM, Parsons M, Rambaran M, Mohamed-Rambaran P, Florendo-Cumbermack A, Persaud S, Baboolal S, Ari MD, Shadomy SV, Zaki SR, Paddock CD, Clark TA, Harris L, Lyon D, Mintz ED. [Leptospirosis outbreak following severe flooding: a rapid assessment and mass prophylaxis campaign; Guyana, January-February 2005](#). PLoS One. 2012; 7 (7): e39672. Epub 2012 Jul 9
- 45- [Galloway RL](#), [Levett PN](#), [Tumeh JW](#), [Flowers CR](#). Assessing cost effectiveness of empirical and prophylactic therapy for managing leptospirosis outbreaks. [Epidemiol Infect.](#) 137: 1323-32, 2009.
- 46-Adler B, de la Peña Moctezuma A. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. Vet Microbiol. 140: 287-296
- 47- González M, Martínez R, Cruz de la Paz R, Infante Bourzac JF, González Novo I, Baró Suárez M, Pérez Sierra A et al. Vax-Spiral[®]. Trivalent antileptospirosis vaccine for human use; research, development and impact on the disease in Cuba. Medice Review. Cuban medical literatura. Immunization and vaccine research in Cuba, 2004.
- 48- Haake DA, Matsunaga J. *Leptospira*: A spirochete with a hybrid outer membrane. Mol Microbiol. Jun 28 2010.
- 49- Forster KA, Hartwig DD, Seixas FK, Bacelo KL, Amaral M, Hartleben CP, Dellagostin OA. A conserved region of leptospiral Immunoglobulin-Like A and B proteins as a DNA vaccine elicits a prophylactic immune response against leptospirosis. Clinical and Vaccine Immunology 20: 725-731,2013.
- 50- Grassmann AA, Félix SR, Ximendes dos Santos C, Amaral MG, Seixas Neto ACP, Fagundes MQ, Seixas FK, da Silva EF, Conceição FR, Dellagostin OA. Protection against lethal Leptospirosis after vaccination with LipL32 coupled or coadministered with the B subunit of *Escherichia coli* Heat-Labile Enterotoxin. Clinical and Vaccine Immunology 19: 740-745, 2012
- 51- [Murray GL](#), [Lo M](#), [Bulach DM](#), [Srikram A](#), [Seemann T](#), [Quinsey NS](#), [Sermswan RW](#), [Allen A](#), Adler B. Evaluation of 238 antigens of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo for protection against kidney colonisation. [Vaccine](#) 31: 495-499, 2013.
- 52-Srikram A, Zhang K, Bartpho T, Lo M, Hoke DE, Sermswan RW, Adler B, Murray

GL. Cross-protective Immunity against Leptospirosis elicited by a live, attenuated lipopolysaccharide mutant. J Infect Dis. 203: 870-879, 2011.

Agradecemos a la Comisión Sectorial de Investigación Científica CSIC UdelaR, a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación ANII, a la Fundación Manuel Pérez de la Facultad de Medicina y a Laboratorios Santa Elena su apoyo para el sostén de los estudios que exponemos.

(Footnotes)

¹ Laboratorio Regional Noroeste DILAVE □Miguel C. Rubino□, MGAP. CC.57037, CP.60.000, Paysandú, Uruguay. Autor de correspondencia : rrivero@mgap.gub.uy

² Departamento de Salud en los Sistemas Pecuarios, Facultad de Veterinaria, Paysandú. Ruta 3, km 363.