

Evaluación clínica, bioquímica y hematológica de caninos seropositivos a distintos serovares de *Leptospira interrogans*

Clinical, biochemical and hematological evaluation of canine seropositive to different *Leptospira interrogans* serovares

GUALTIERI, CAS^{1,5}; CARLÍN, C¹; PERALTA, L¹; PEIRONE, C²; GATTARELLO, V¹; MARC, L^{3,5};
MOLTENI, H⁵; ARESTEGUI, MB¹; FRANÇOIS, S⁴

Facultad de Cs. Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario: ¹Cátedra de Sueros y Vacunas, ²Cátedra Semiología y Análisis Clínico, ³Cátedra de Biología y Ecología y ⁴Cátedra de Microbiología. ⁵Laboratorio de Salud Animal (LASA), Rosario, Santa Fe.

RESUMEN

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial que afecta a diferentes especies animales. La principal fuente de infección es la contaminación del medio ambiente con orina de los animales infectados. En caninos y en el hombre el diagnóstico es dificultoso debido a la variada signología clínica que presenta. El objetivo de este estudio fue evaluar las alteraciones clínicas, bioquímicas y hematológicas más frecuentes en caninos seropositivos a diferentes serovares de *Leptospira interrogans*. Se estudiaron 44 caninos con signos clínicos compatibles y serología positiva y 25 caninos clínicamente sanos y seronegativos. Se realizó una evaluación clínica completa y se obtuvieron muestras de sangre con y sin anticoagulante, para realizar diagnóstico serológico, hematológico y valorar la función hepática y renal, mediante la determinación de fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, uremia y creatinemia. Los resultados obtenidos mostraron un alto porcentaje de sueros que coagularon y diferencias significativas en el recuento de glóbulos rojos y blancos y en las variables utilizadas para evaluar función hepática y renal. Los signos clínicos más comunes fueron decaimiento, anorexia, vómitos y dolor abdominal. La utilización de diferentes técnicas favorece el diagnóstico precoz y permite instaurar el tratamiento adecuado, mejorar el pronóstico y colaborar en la prevención.

Palabras clave: (*Leptospira interrogans*), (leptospirosis), (canino), (diagnóstico), (bioquímica).

Correspondencia e-mail: Catalina Gualtieri cgualtie@fveter.unr.edu.ar

Recibido: 05-11-2012

Aceptado: 06-07-2013

SUMMARY

Leptospirosis is a worldwide zoonosis that affects different animal species. The main source of infection is the environmental contamination with urine of infected animals. Diagnosis is difficult in dogs and humans because of the varied clinical signs presented. The aim of this study was to evaluate the most frequent clinical, biochemical and hematological variations in canines seropositive for different *Leptospira interrogans* serovars. 44 dogs with clinical signs and positive serology and 25 clinically healthy dogs and seronegative were studied. Complete clinical evaluation was performed and blood samples were obtained with and without anticoagulant for serological diagnosis, hematology and the evaluation of liver and kidney function, by the determination alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and creatinemia uremia. The results showed a high percentage of sera that coagglutinated and significant differences in red and white blood cells count, and in the variables used to assess liver and kidney function. The most common clinical signs were malaise, anorexia, vomitig and abdominal pain. The usage of different techniques encourages early diagnosis and allows appropriate therapy, prognosis improvement and assist in prevention.

Keywords: (*Leptospira interrogans*), (leptospirosis), (canine), (diagnostic), (biochemical)

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis, una de las zoonosis de mayor distribución mundial, es reconocida en la actualidad como un problema emergente en la salud pública global debido al aumento en su incidencia, particularmente en los grandes centros urbanos y en países en desarrollo²².

Esta enfermedad infecciosa es causada por diferentes especies patógenas del género *Leptospira*, que pueden afectar al hombre y a un gran número de especies animales. *L. interrogans*, una de las más investigadas, está integrada por más de 250 serovares asociados a diferentes hospederos y regiones.

Las ratas, ratones y otras especies de animales silvestres se comportan como reservorios primarios de la mayoría de los serovares de leptospirosis, excretando grandes cantidades de bacterias en la orina. El ambiente contaminado con la orina de animales infectados constituye la principal fuente de infección para esta zoonosis.

Dentro de los animales domésticos, los más afectados son caninos, bovinos, porcinos y equinos, quienes también pueden comportarse como hospedadores de mantenimiento y diseminadores de diferentes serovares^{8, 13}.

La leptospirosis urbana, reconoce como

reservorios principales a roedores y caninos, considerándose a estos últimos como fuente potencial de infección para el hombre por la estrecha relación que ambos mantienen¹³.

Los signos clínicos que presenta la enfermedad varían en las distintas especies, siendo en los caninos y en el hombre donde se muestra la mayor variación en las formas de presentación¹¹. El cuadro clínico en caninos puede diferir, entre otras causas, de acuerdo al serovar infectante¹⁷. En los cuadros agudos se observa en general predominio de signos de disfunción hepática y renal. El hígado es uno de los primeros órganos afectados en la fase de leptospiremia, pudiendo presentar desde disfunciones hepáticas debido a lesiones subcelulares producidas por las toxinas de algunos serovares de leptospirosis, sin grandes daños histológicos, hasta cuadros con necrosis de hepatocitos y colestasis que conlleva a la disminución de excreción de bilirrubina^{5, 23}. Aproximadamente a partir del día 10 post-infección, después de la aparición de los anticuerpos, las leptospirosis se ubican casi exclusivamente en los túbulos renales ocasionando lesiones extensas y eliminación por orina. Los cambios patológicos a nivel renal persisten aún cuando se presenta una mejoría

clínica⁹. Tanto los animales con infecciones subclínicas como los que se han recuperado de formas agudas excretan leptospiras en orina por un período prolongado, constituyendo una fuente de contaminación ambiental de importancia epidemiológica.

Debido a las variaciones en la forma de presentación, el diagnóstico clínico de esta enfermedad resulta en la mayor parte de los casos dificultoso y hoy todavía es sub-diagnosticada²⁰. Por esta razón el diagnóstico de laboratorio puede constituirse en una herramienta de gran utilidad para el veterinario clínico.

Si bien el diagnóstico serológico es el estudio de elección para confirmar la enfermedad, su resultado depende, entre otros factores, del tiempo transcurrido desde el inicio de la infección, pudiendo resultar negativos a la prueba serológica animales con infecciones recientes. Los estudios bioquímicos y hematológicos constituyen una herramienta rutinaria para la orientación del diagnóstico clínico de diversas patologías. Realizados o no en paralelo con los anteriores, estos estudios pueden anticipar la sospecha diagnóstica, contribuyendo a una caracterización más rápida del estado clínico del animal y permitiendo elaborar un pronóstico más certero⁷.

El objetivo del presente trabajo fue determinar las alteraciones clínicas, bioquímicas y hematológicas más frecuentes en caninos seropositivos a diferentes serovares de *L. interrogans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población en estudio

Entre los años 2010 y 2011 se estudiaron 69 caninos de la ciudad de Rosario y sus alrededores, 25 de ellos, grupo control, eran clínicamente sanos y seronegativos a leptospirosis. Los 44 restantes, 28 machos y 16 hembras, sin distinción de raza y con edades que oscilaron entre los siete meses y los diez años, tenían signología clínica compatible con leptospirosis y diagnóstico serológico positivo para algún serovar de *L. interrogans*. En relación a los antecedentes de vacunación contra leptospirosis,

el 87% (27/31) de los mismos nunca había sido vacunado o la última vacunación había sido realizada al menos cuatro años antes de la presentación de la enfermedad.

Metodología de estudio

Evaluación clínica. Los animales fueron clasificados mediante una evaluación clínica completa, considerando estado del sensorio, temperatura corporal, presencia de vómitos, diarreas, ictericia, hemorragias, entre otros, y su condición serológica para leptospirosis. De acuerdo a esta evaluación, el estado general de los animales seropositivos fue clasificado como bueno, cuando no presentaba más de un parámetro alterado; regular, cuando presentaba de dos a cuatro parámetros alterados y malo, cuando las alteraciones fueron mayores.

Obtención y procesamiento de las muestras. Se obtuvieron muestras de sangre, con y sin anticoagulante, por punción aséptica de la vena cefálica antibraquial o safena. Las muestras de sangre obtenidas con anticoagulante (EDTA) se utilizaron para la realización de hemograma completo por metodología manual. Las muestras sin anticoagulante se procesaron en un autoanalizador (METROLAB 1600 DR) para la evaluación bioquímica de la función hepática y renal, realizando la determinación de fosfatasa alcalina (FAS), alanina aminotransferasa (ALT o GPT), aspartato aminotransferasa (AST o GOT), uremia y creatinemia, utilizando reactivos comerciales (Wiener Lab., Rosario, Argentina) según las especificaciones respectivas. El diagnóstico serológico de leptospirosis se realizó mediante el Test de Microaglutinación (MAT), reconocido internacionalmente como la técnica de elección para la determinación de la cinética de anticuerpos en esta enfermedad¹⁶. Cada muestra fue probada para los siguientes serovares de *L. interrogans*: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Grippotyphosa, Castellonis, Pomona y Wolffi. Se consideraron positivos los sueros que presentaron microaglutinación para al menos el 50% de las leptospiras libres con respecto a un testigo, para cada uno de los serovares ensayados, a partir de una dilución 1/100, de acuerdo

a lo establecido por la Comisión Científica Permanente en Leptospirosis y la OMS^{2,24}.

Análisis estadístico. Las comparaciones entre los valores de las variables respuesta de los dos grupos incluidos en el análisis (individuos clínicamente sanos y serológicamente negativos para leptospirosis e individuos con signología clínica compatible con leptospirosis y serológicamente positivos al diagnóstico) se llevaron a cabo con la prueba no paramétrica para datos independientes U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

A la evaluación clínica, el 5% (2/44) de los animales seropositivos presentó un estado general bueno, el 70% (31/44) regular y el 25% (11/44) malo. De este último grupo tres animales murieron dentro de los 10 días posteriores al diagnóstico. Los signos clínicos más comunes observados en este estudio se muestran en la Tabla 1. Un solo animal presentó necrosis lingual y otro, dificultad respiratoria severa. Hubo dos animales con serología positiva que no presentaron ningún signo clínico compatible pero fueron incorporados al estudio porque sus dueños (dos) murieron con diagnóstico de Leptospirosis.

Del total de sueros positivos analizados mediante MAT, el 90% (40/44) reaccionó a más de un serovar (coaglutinación) y los títulos serológicos encontrados oscilaron entre 1/100 y 1/12800 (Figura 1). Si bien los serovares más prevalentes fueron Castellonis, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Pyrogenes, se encontró serología positiva para todos los serovares investigados (Figura 2). Del total de los caninos que presentaron algún título para el serovar Wolffi, 90% (9/10) pertenecían a zonas periurbanas de la ciudad de Rosario o a zonas rurales.

Los valores hematológicos obtenidos (Tabla 2) muestran que existen diferencias significativas con el grupo control, en el recuento de glóbulos rojos y fundamentalmente en el de glóbulos blancos, donde se observó neutrofilia en el 100% de los animales con leucocitosis.

Los resultados de las variables bioquímicas analizadas indican que los perros afectados presentan evidencias de alteraciones en las funciones hepática y renal (Tabla 2). Los valores de ALT (GPT), enzima citosólica, considerada en caninos como específica de alteración hepática, se encontró aumentada en el 62%

Tabla 1. Frecuencia de signos clínicos encontrados en caninos seropositivos a leptospirosis

Signos clínicos	Valores hallados	Porcentaje
Normotermia	23	52%
Hipertermia	15	34%
Hipotermia	6	14%
Decaimiento	28	64%
Anorexia	22	50%
Vómitos	18	41%
Dolor abdominal	11	25%
Deshidratación	4	9%
Diarrea	3	7%
Congestión ocular	4	9%
Olor urinoso en boca	3	7%
Claudicación	3	7%
Dolor a nivel sacro	6	14%
Hemorragias	5	11%

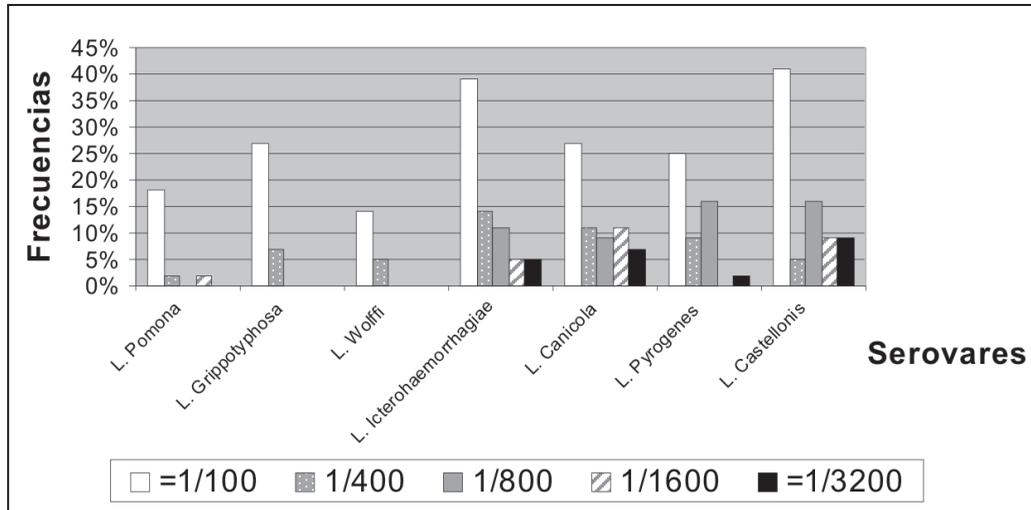


Figura 1. Frecuencia de títulos a MAT para los distintos serovares de *L. interrogans*.

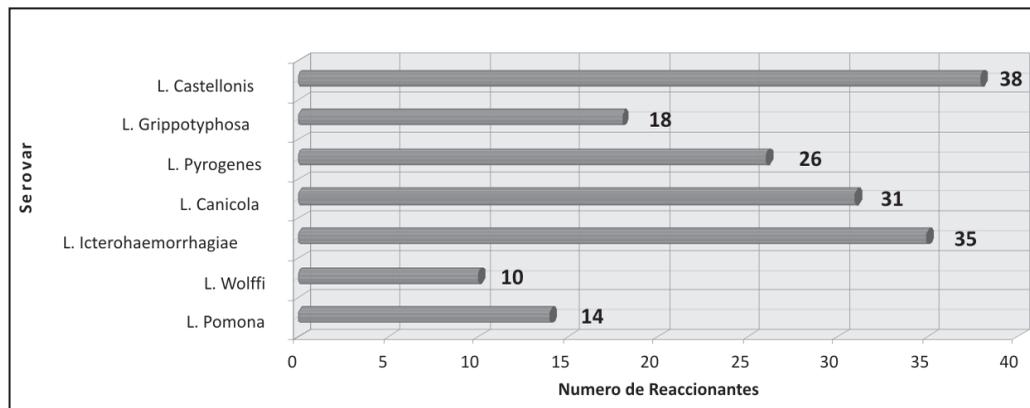


Figura 2. Frecuencia de los serovares de *L. interrogans* en los caninos en estudio.

(26/42) de los animales seropositivos, hallándose un 69% (20/26) de caninos que presentaron un aumento de dos o tres veces los valores normales, 19% (5/26) con elevaciones de los mismos de cuatro a diez veces y 12% (3/26) con valores superiores a diez veces, lo que sugiere en este caso un daño hepatocelular marcado.

La enzima AST (GOT) se halló aumentada en el 67% (28/42) de los caninos afectados, encontrándose un 25% (7/28) con valores superiores a ocho veces el valor normal. Hubo siete animales que presentaron aumentos mayores a tres veces los valores normales para las dos enzimas (ALT y AST).

En relación a la FA el 42% (15/36) presentó valores aumentados, encontrándose cuatro animales con valores superiores a 10 veces los

normales y seis con valores elevados, en los cuales no hubo alteración en los valores de ALT y AST o los valores de estas enzimas estaban apenas elevados.

Los valores de uremia y creatinemia, utilizados para evaluar la función renal, se hallaron aumentados en el 93% (41/44) y el 88% (38/43) respectivamente, de los animales afectados. En el 76% (31/41) de los caninos que presentaron alteraciones en la uremia y en el 50% (19/38) de los que presentaron alteraciones en la creatinemia se hallaron valores superiores a cuatro veces los normales. Hubo once caninos en los cuales estos dos parámetros fueron los únicos que se encontraron alterados en la evaluación bioquímica y tres animales que no presentaron alteración en ninguna de las

Tabla 2. Valores (mediana y rango intercuartílico) de las variables hematológicas y bioquímicas obtenidas					
Variable	Valores de caninos seropositivos	n	Valores de caninos grupo control	n	P
Recuento Glóbulos rojos	5.285.000 (4.505.000 – 6.515.000)	34	6.000.000 (5.600.000 – 6.450.000)	25	<0.0185
Hematocrito	38 (25 - 44)	27	39 (37 – 41)	25	=0.2023
Hemoglobina	12,8 (9,05 – 15,5)	22	13,7 (12,9 – 14,2)	25	=0.1741
Recuento Glóbulos blancos	20.000 (13.630 – 26.950)	44	8700 (7.310 – 9.450)	25	<0.0001
FAS (UI/L)	217,5 (141,5 – 513,5)	36	136,3 (111,2 – 172,0)	25	<0.0006
ALT / GPT (UI/L)	60,0 (34,0 – 113,0)	42	38,7 (33,6 – 48,7)	25	<0.01
AST / GOT (UI/L)	62,0 (36,5 – 110,0)	41	36,1 (25,6 – 41,7)	25	<0.0001
Uremia (mg/dl)	224,0 (127,5 – 351,5)	44	30,9 (24,0 – 39,3)	25	<0.0001
Creatinemia (mg/dl)	5,40 (2,40 – 11,18)	43	1,09 (0,91 – 1,21)	25	<0.0001

variables hematológicas ni bioquímicas incluidas en este estudio.

La presencia de coagulación, aglutinación para más de un serovar, en el 90% de los sueros analizados, no permitió cuantificar asociaciones entre el serovar prevalente y las alteraciones clínicas, bioquímicas ni hematológicas.

DISCUSIÓN

La evaluación clínica de los animales en estudio indica, tal como lo describen distintos autores, que resulta muy dificultoso arribar a un diagnóstico basado solamente en los signos clínicos. Esta dificultad es debida a las variadas manifestaciones que presenta la enfermedad en caninos y que resulta, del serovar involucrado, la virulencia de la cepa, la edad del animal y el estado inmune, entre otros⁵.

La temperatura corporal, uno de los primeros parámetros utilizados al momento de realizar una evaluación clínica en caninos, estuvo dentro de los valores normales para la especie en un porcentaje superior al 50%, coincidiendo con lo observado por otros autores, que mencionan que puede existir un aumento transitorio de la temperatura corporal que generalmente pasa inadvertido¹⁵. Se menciona también, que es más frecuente una hipotermia progresiva durante el curso de la enfermedad y que la misma puede normalizarse con el tratamiento o en casos graves anteceder a la muerte. Aunque nosotros observamos un porcentaje menor de caninos con hipotermia, de los cuales dos murieron, no podemos comparar los datos, ya que no hubo un seguimiento en el tiempo del estado de los animales en estudio.

En relación a la presencia de ictericia, encontramos un porcentaje mayor de animales ictericos (23%) que lo reportado en la bibliografía (5-10%)^{3, 13}. Si bien todos estos caninos mostraron aglutinación para más de un serovar, todos presentaron títulos de anticuerpos para el serovar Icterohaemorrhagiae y el 40% (4/10) de los mismos también presentó títulos para el serovar Pomona, dos serovares involucrados en la producción de hemolisinas y de cuadros clínicos más severos^{8,15}. De todos modos, este dato no es estadísticamente significativo ya que un 71% (25/35) de animales que presentaron títulos para Icterohaemorrhagiae no presentaron ictericia. Esto avala el concepto de que la ictericia no es un signo patognomónico en leptospirosis, aunque su presencia aumenta la sospecha y sugiere una alta posibilidad de que el cuadro sea provocado por Icterohaemorrhagiae¹⁵.

La frecuencia en la detección de los serovares no difiere en forma significativa de la obtenida por nuestro grupo en estudios anteriores y por otros autores^{10, 14, 18}. La identificación de perros con serología positiva para Wolffi, un serovar muy prevalente en bovinos y otros rumiantes, si bien podría interpretarse como debida a reacciones cruzadas, por el hecho de haberse encontrado en caninos de zonas periurbanas o rurales, no debería descartarse la posibilidad de que hayan sido infectados a partir de estas especies. Es de destacar que este serovar, en el Manual de Leptospirosis de la Comisión Científica Permanente para esta enfermedad, no está incluido en el listado de los antígenos recomendados para ser probados en caninos.

Mediante la técnica de MAT los anticuerpos específicos pueden detectarse a partir de la primera semana pos infección, por lo que un resultado negativo antes de esa fecha no es motivo para descartar la enfermedad y se requiere realizar una nueva evaluación una semana posterior. Títulos altos o presencia de aglutinación en más de un serovar son indicativos de enfermedad reciente¹³.

La reducción del número de eritrocitos observado podría ser atribuida, en parte, a las hemolisinas producidas por algunos serovares,

ya que las mismas pueden causar vasculitis, con injuria capilar y hemólisis, que resultan en daño a nivel de los vasos y células sanguíneas²¹.

Los resultados hallados en el recuento de glóbulos blancos indicarían que un alto porcentaje de los animales, al momento del estudio, estaría cursando una infección aguda, ya que según distintos autores en la forma subclínica puede observarse una leucopenia transitoria (dato no observado en este el trabajo), pero en las formas agudas, a partir del 5º día de infección, se observa una leucocitosis con marcado desvío a la izquierda^{12, 15}. Esta presunción estaría avalada por el elevado número de animales con aglutinación para más de un serovar (coaglutinación), posibles reacciones cruzadas, que es una característica de la fase aguda de esta enfermedad.

Los resultados de las variables bioquímicas utilizadas para evaluar la función hepática y renal, indican que si bien un número considerable de animales en este estudio presentó evidencias de alteraciones importantes a nivel de estos órganos, en concordancia con otros autores, la uremia y creatinemia fueron los parámetros con mayor alteración en los caninos positivos a leptospirosis y en algunos casos los únicos alterados⁶. Estos datos refuerzan aún más la probabilidad de que los caninos que formaron parte de este estudio hayan estado cursando una forma aguda ya que en la enfermedad subclínica, si bien las leptospirosis replican y persisten a nivel de los túbulos renales, no provocan un gran daño renal y por consecuencia estas variables pueden verse menos afectadas.

Es importante mencionar que tal como se observó en este trabajo hay animales que pueden no presentar alteraciones en los parámetros hematológicos ni bioquímicos, utilizados frecuentemente para evaluar las funciones hepáticas y renales. Hay que tener presente que los niveles de uremia y creatinemia dan una estimación aproximada del índice de filtración glomerular y empiezan a aumentar cuando un 70% de las nefronas han perdido su función¹², por lo que en casos de infecciones recientes pueden no hallarse alterados. El grado de azotemia puede

variar según la severidad de la enfermedad. Del mismo modo, la magnitud del aumento de las enzimas hepáticas da una idea aproximada de la extensión del daño hepatocelular^{4, 12}.

Aunque todos los serovares afectan al riñón, pudiendo o no afectar otros órganos¹, el serovar Canicola es reconocido como uno de los que más frecuentemente causa daño renal. Este dato no pudo ser corroborado debido a que el alto grado de coagulación no permitió realizar asociaciones. Por la misma razón no se pudo comprobar lo mencionado por Sessions y Greene (2004), sobre las evidencias de que solo los animales infectados con los serovares Icterohaemorrhagiae y Canicola presentarían alteración hepática en la fase aguda¹⁹.

CONCLUSIONES

La leptospirosis canina es una zoonosis con una prevalencia importante en muchas áreas urbanas, que puede presentarse incluso en animales vacunados. El diagnóstico precoz no solo favorece la instauración del tratamiento adecuado para mejorar el pronóstico, sino que colabora en la prevención, control e implementación de medidas de manejo e higiene, evitando el contagio de otros animales y del hombre. Debido a la signología clínica muy variada y dependiente de varios factores, es imprescindible evaluar el contexto epidemiológico, realizar estudios serológicos y análisis hematológicos y bioquímicos complementarios que permitan identificar alteraciones funcionales de diferentes órganos y anticipar el diagnóstico.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Ricardo Di Masso por su colaboración en el análisis estadístico.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, T.A.; Jaenke, R.S.; Fettman, M.J. A technique for estimating progression of chronic renal failure in the dog. *J Am Vet Med Assoc.* 1987; 190(7):866-867.

Argento, E; Barriola, J; Caminoa, R; *et al.* *Manual de Leptospiriosis.* Comisión Científica Permanente sobre Leptospiriosis. Buenos Aires, 1994.

Birnbaum, N.; Barr, S.C.; Center, S.A.; *et al.* Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs: serological and clinicopathological features. *J. Small Anim. Pract.* 1998; 39:231-236.

Bunch, S.E. Afecciones hepatobiliares y del páncreas exócrino. En: R.W. Nelson y C.G. Couto (Eds.). *Manual de medicina interna de pequeños animales.* Harcourt. Madrid, España, 2000:303-356.

Faine, S.; Adler, B.; Bolin, C.; Perolat, P. *Leptospira and leptospirosis. 2nd edition.* Melbourne: MedSci., Australia, 1999.

Freire, I.M.A ; Varges, R. ; Lilienbaum, W. Níveis séricos de uréia e creatinina em cães com leptospirose aguda determinada por amostras do sorogrupo Icterohaemorrhagiae. *Ciência Rural, Santa Maria.* 2008; 38 (4): 1172-1175.

Freire, IMA; Varges, R; Lilienbaum, W. Alterações na bioquímica hepática em cães com leptospirose aguda determinada por amostras do sorogrupo Icterohaemorrhagiae. *Ciência Rural, Santa Maria.* 2008; 38(9):2630-2632.

Greene, C.E. ; Sykes, J.E.; Brown, C.A.; *et al.* Leptospiriosis. In: Greene CE, ed. *Infectious diseases of the dog and cat. 3rd ed.* WB Saunders Co. Philadelphia, USA, 2006:402-417.

Greene CE, Miller MA, Brown CA. Leptospiriosis. En: Greene CE (ed). *Infectious Diseases of the Dog and Cat, 2ed,* Philadelphia, W. B. Saunders Company:273-281, 1998.

Gualtieri, C.; Marc, L.; Molteni, H.; Francois, S. Seroprevalencia de *Leptospira interrogans* en caninos de la ciudad de Rosario y alrededores. *Memorias 12º Simposio Internacional de WAVLD y 7º Seminario de la OIE de Biotecnología.* Noviembre 16-19, 2005. Montevideo, Uruguay.

Hagiwara, M.K. Leptospirose canina. *Vet News.* 2004; 11:7-8.

Hernandez Godoy, D. Determinación de parámetros bioquímicos, hemograma y de la prueba psp60 en caninos afectados con algún serovar de *Leptospira*

- spp.* 2010. En http://www.bibliodigital.udec.cl/sdx/UDEC4/tesis/2010/hernandez_d/doc/hernandez_d.pdf, consulta 8/2/12.
- Levett, P.N. Leptospirosis. *Clin Microbio Rev.* 2001; 14(2):296-326.
- Lucchesi, M.; Carlín, M.C.; Gualtieri, C.; François, S. Tasa de seropositividad para *Leptospira interrogans* en caninos de la ciudad de San Nicolás. Jornadas divulgación 2010. Agosto 6, 2010. Casilda, Argentina.
- Luna, A.M.A.; Moles, C.L.P.; Gavaldón, R.D.; Nava, V.C.; Salazar, G.F. La leptospirosis canina y su problemática en México. *Rev. Salud Anim.* 2008; 30(1):1-11.
- Myers, D. Leptospirosis: manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio. *Nota técnica 30. Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS.* 1985.
- Rubel, D.; Seijo, A.; Cernigoi, B.; Viale, A.; Wisnivesky-Colli, C. *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. *Rev Panam. Slud Pública/Pan Am J Public Health.* 1997; 2(2):102-106.
- Seijo, A.; Draghi, G.; Dorta de Mazzonelli, G.; *et al.* Informe sobre Leptospirosis en la República Argentina. *Publicación monográfica 3, serie Enfermedades transmisibles.* Comisión científica sobre Leptospirosis de la República Argentina, 2002.
- Sessions, J..K.; Greene, C.E.. Canine Leptospirosis: epidemiology, pathogenesis and diagnosis. *Comp Cont Educ Prac. Vet.* 2004; 26(8):606-624.
- Silva, R.F; Riedemann, S. Seroprevalencia de Leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. *Arch.Med.Vet.* 2007; 39(3):269-274.
- Tonin, A.A.; Pimentel, V.C.; da Silva, A.S.; *et al.* Adenosine deaminase activity in serum, erythrocytes and lymphocytes of rats infected with *Leptospira icterohaemorrhagiae*. *Res Vet Sci.* 2012; 92:197–201.
- Vijayachari, P.; Sugunan, A.P.; Shriram, A.N. Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J Biosci.* 2008; 33(4):557–569
- Wohl, J.S. Canine leptospirosis. *Comp Con. Ed Pract Vet.* 1996; 18(11):1215-1241
- World Health Organization. Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003.

