

Actualización en el diagnóstico de la leptospirosis humana

Updating on the diagnosis of human leptospirosis

MSc. Yendrys Pérez Elías^I; MSc. Ana Margarita Obregón Fuentes^{II};
MSc. Isabel del Carmen Rodríguez Reyes^{III}; Dra. Martha Julia Alfonso
González^I

^I Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil. Mayabeque, Cuba.

^{II} Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

^{III} Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". La Habana, Cuba.

RESUMEN

La leptospirosis humana es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, con frecuencia subdiagnosticada por presentar un amplio espectro de manifestaciones clínicas. El objetivo es presentar una actualización sobre el diagnóstico de la leptospirosis humana. Se consultó la bibliografía disponible sobre el tema en las bases de datos de Scielo, HINARI, Pubmed-Medline y diferentes textos y artículos en los que se profundizaba en el diagnóstico. Las técnicas microbiológicas son la base de la confirmación de la enfermedad. La observación por microscopía de campo oscuro es poco sensible, ya que las leptospiras se pueden confundir con filamentos proteicos u otros artefactos. El aislamiento del agente etiológico constituye la prueba de oro, aunque ofrece un resultado retrospectivo. La reacción en cadena de la polimerasa es un método útil para el diagnóstico rápido de la infección. El diagnóstico serológico cobra vital importancia en esta entidad, pues supera en rapidez, sencillez y bajo costo al cultivo. La microaglutinación con antígenos vivos es la técnica de referencia. Las pruebas rápidas basadas en la inmunocromatografía de flujo lateral son una variante muy útil, ya que ofrecen el resultado entre 5 y 30 minutos.

Palabras clave: leptospirosis, diagnóstico, muestra, fase clínica.

ABSTRACT

The human leptospirosis is zoonotic disease with worldwide distribution, frequently present a difficult diagnosis because have a wide spectrum of clinical manifestations. The objective of this work is to present an upgrade on the diagnosis of the human leptospirosis; for it was consulted it the available bibliography on the topic in the databases of Scielo, HINARI, Pubmed-Medline and different texts and articles of the last five years to deepen in the diagnosis. The microbiologic diagnostic is the base of the confirmation of the illness; it depends on the taking of sample in the appropriate moment and the correct indication of the complementary one according to the clinical phase. The observation for microscopy of dark field is not very sensitive since the leptospiras can made a mistake with poetics filaments or other devices. The etiologic agent's isolation constitutes the gold standard test; although offers a retrospective result. The polymerase chain reaction is a method used for the quick diagnosis of the infection, the quantitative variant in real time shows substantial advantages, because it allows the immediate reading and avoids the electrophoresis step, these techniques are not available for its high cost. The serologic diagnostic charges vital importance in this entity, it overcomes in speed, simplicity and low cost to the cultivation; the microagglutination with a live antigen is considered the reference technique. The detection of IgM for enzyme linked immunosorbent assay has been broadly used. The rapid tests based on the lateral flow immunochromatography, are a very useful variant, since they offer the result between 5 and 30 minutes.

Keywords: leptospirosis, diagnosis, sample, clinical phase.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, a menudo subdiagnosticada por presentar un cuadro clínico inespecífico con un amplio espectro de manifestaciones clínicas que oscilan desde una infección inaparente hasta una enfermedad fulminante y mortal conocida como síndrome de Weil. Es producida por bacterias incluidas en el complejo patogénico denominado *Leptospira interrogans sensu lato*, taxonómicamente ubicado en el *Phylum Spirochaetes*, Clase *Spirochaetes*, Orden *Spirochaetales*, Familia *Leptospiraceae* y Género *Leptospira*: constituido por dos especies: *Leptospira biflexa*, no patógena, de vida libre, saprófita de ambientes húmedos y aguas superficiales, y *L. interrogans*, a la que pertenecen las leptospiras patógenas causantes de la leptospirosis y que de acuerdo con sus características serológicas, se clasifican en serogrupos constituidos por serovares.¹⁻³

Las leptospiras son microorganismos helicoidales, con espiras 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 y con las extremidades generalmente incurvadas en forma de gancho.²⁻⁴

Esta enfermedad se conoce también como enfermedad de Weil, leptospirosis icterohemorrágica, fiebre del cieno, enfermedad de los cortadores de caña,

enfermedad de los arroceros, fiebre canícola, fiebre otoñal, fiebre del día siete, fiebre del pantano, fiebre del barro, enfermedad de los porqueros, enfermedad de Stuttgart y otros nombres locales.⁵

La Organización Mundial de la Salud (OMS) informa una incidencia anual de leptospirosis humana de 0,1 casos por 100 000 habitantes para climas templados, de 10 a 100 por 100 000 habitantes en climas tropicales y 100 por 100 000 habitantes en brotes y grupos de alto riesgo. Brasil, China y los países del sudeste asiático reportan la mayoría de los casos.^{6,7}

En Cuba, la leptospirosis es una enfermedad endémico-epidémica. Desde 1980 se han reportado centenares de casos confirmados. Actualmente ocupa el sexto lugar entre las enfermedades de declaración obligatoria. En el 2013 se reportaron 2,3 casos x 100 000 habitantes, se registraron 258 casos. En contraste con su baja tasa de morbilidad, la enfermedad implica una alta probabilidad de muerte. En el 2013 murieron más del 20 % de los pacientes que contrajeron la enfermedad (54 casos). En la actualidad esta afección clasifica entre las 35 primeras causas de muerte en nuestro país.^{7,8}

La Guía para el Diagnóstico, Vigilancia y Control de Leptospirosis Humana, publicada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS) y la *International Leptospirosis Society* (ILS) en el 2008, proporciona información suficiente, además de bibliografía para los detalles técnicos del diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad.^{3,9} En la actualidad están disponibles nuevas técnicas serológicas, rápidas, dirigidas al pesquaje de la leptospirosis; estas permiten realizar de forma más precisa la toma de decisiones efectivas desde el punto de vista clínico y terapéutico. Estos sistemas además de reducir el tiempo de espera por la respuesta del laboratorio, presentan valores aceptables de sensibilidad, especificidad y concordancia en comparación con el método de referencia, aunque ofrecen un diagnóstico presuntivo que obliga a confirmar por uno de los métodos convencionales. Por esta razón se decidió redactar este artículo que tiene como objetivo presentar una actualización sobre el diagnóstico de la leptospirosis humana.

MÉTODOS

Se consultó la bibliografía disponible sobre el tema en las bases de datos de Scielo, HINARI, Pubmed-Medline y diferentes textos y artículos en los que se profundizaba en el diagnóstico, desde la etapa de identificación clínica hasta la confirmación por las técnicas de laboratorio establecidas.

DESARROLLO

Manifestaciones clínicas

La leptospirosis puede cursar clínicamente de forma asintomática. Se ha reportado que del 15 al 40 % de las personas infectadas no presentan síntomas ni signos compatibles con la enfermedad. En los casos sintomáticos, las manifestaciones clínicas varían desde leves hasta graves, incluyendo las letales. Más del 90 % de los enfermos con síntomas sufren la variante leve, por lo general anictérica y del 5 al 15 % presentan la forma grave con ictericia, conocida como síndrome de Weil.^{3,10-12}

Clásicamente, se describen tres formas de presentación clínica para la leptospirosis humana. La primera es la forma monofásica, que se caracteriza por la presencia de un cuadro febril agudo, autolimitado durante el periodo septicémico (primera semana). La segunda es la forma febril bifásica que contempla la presencia de manifestaciones clínicas durante el periodo septicémico, seguida de un periodo de 24 a 72 horas asintomático y una segunda fase conocida como inmune caracterizada por uveítis, meningitis aséptica, mialgias y puede reaparecer la fiebre, con una duración de 4 a 30 días. La tercera es la forma grave de la enfermedad, donde se presentan síntomas y signos típicos como: fiebre, cefalea, escalofríos, mialgias, astenia, trastornos digestivos, disuria, coluria, sufusión conjuntival, íctero y la posterior disfunción de órganos como riñón e hígado, llevando a insuficiencia hepatorenal asociada o no a insuficiencia respiratoria, puede presentarse hemorragia pulmonar o coagulación intravascular diseminada (CID).¹³⁻¹⁶

Es importante el interrogatorio sobre los posibles antecedentes de exposición a materiales contaminados con el microorganismo causal. Los riachuelos, ríos, aguas estancadas y la tierra húmeda se pueden contaminar con la orina de animales infectados, estos microorganismos son capaces de sobrevivir hasta seis semanas en estas localizaciones. La mayor parte de las infecciones del ser humano son consecuencia de la exposición a aguas contaminadas o a la exposición profesional a animales infectados (granjeros, trabajadores de mataderos y veterinarios).¹⁰⁻¹³

Diagnóstico diferencial

La leptospirosis se debe distinguir de otras enfermedades febriles que cursan con cefalea y mialgias, como el paludismo, la hepatitis vírica, el dengue, la hantavirus y las enfermedades causadas por *Rickettsia*. Dada la gran similitud en la presentación epidemiológica y clínica de la leptospirosis y la hantaviriosis, así como la aparición concomitante de ambas, se recomienda efectuar pruebas serológicas para detectar este virus siempre que se sospeche leptospirosis en zonas endémicas.¹¹⁻¹⁸

Debe realizarse también diagnóstico diferencial con otras enfermedades que pueden presentar manifestaciones clínicas similares como: fiebre amarilla, íctero obstructivo y hemolítico, pielonefritis aguda, glomerulonefritis aguda, necrosis tubular aguda, meningoencefalitis, influenza, fiebre reumática, sarampión, fiebre tifoidea, tuberculosis, neumonía, toxoplasmosis, septicemia, brucelosis, mononucleosis infecciosa y fiebre hemorrágica epidémica.^{12,13}

La Organización mundial de la Salud (OMS) en la Nota descriptiva número 103 sobre la epidemia de Enfermedad por el virus del Ébola (EVE), emitida en abril de 2014, incluye a la leptospirosis como una de las patologías a descartar antes de establecer dicho diagnóstico.¹⁹ La Fiebre chikungunya es otro diagnóstico diferencial de la leptospirosis, para ello se debe tener en cuenta las características epidemiológicas del lugar de residencia, historia de viajes y exposición.²⁰

Diagnóstico de laboratorio clínico

Los exámenes de laboratorio clínico, a pesar de no ser específicos de la enfermedad, son determinantes en la orientación del médico de asistencia.¹² En el hemograma, la mayoría de las veces se observa leucocitosis (con una franca neutrofilia), aunque el conteo de leucocitos en algunos casos puede ser normal o bajo. La eritrosedimentación se presenta aumentada y el coagulograma puede ser normal aunque a veces la actividad de la protrombina plasmática puede estar disminuida, hasta 50 % de los enfermos presentan trombocitopenia leve, que se relaciona con la insuficiencia renal.^{13,21,22}

En la leptospirosis es característica la elevación de la bilirrubina y de la fosfatasa alcalina en suero, así como un incremento leve de las aminotransferasas. El tiempo de protrombina puede alargarse en el síndrome de Weil.^{12,13}

Cuando aparece reacción meníngea, predominan al principio leucocitos polimorfonucleares y más tarde células mononucleares. La concentración de proteínas en el LCR se eleva, pero la concentración de glucosa es normal.^{12,13}

En la orina aparecen alteraciones del sedimento (leucocitos, eritrocitos y cilindros hialinos o granulados), pudiendo existir desde una proteinuria leve, hasta una insuficiencia renal y azoemia en los casos graves.^{12,13,21}

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico microbiológico es la base de la confirmación de la enfermedad, este depende de la toma de muestra en el momento apropiado y la correcta indicación del complementario según la fase clínica, por lo que los médicos y enfermeras de asistencia deben estar bien entrenados en cuanto a patogenia y formas de presentación de la leptospirosis. Los métodos de laboratorio pueden dividirse en: directos (aislamiento, cultivo y técnicas moleculares) e indirectos o serológicos.¹¹

Toma de muestras

Durante el periodo septicémico los productos patológicos útiles son: sangre total y LCR para realizar técnicas de diagnóstico directo; el suero se utiliza para comparar el resultado de los estudios serológicos que se realicen en la fase inmune. Las muestras de sangre deben tomarse antes del tratamiento con antimicrobianos; no se utilizan medios de transporte, esta se inocula directamente en el medio de cultivo. El líquido de hemodiálisis es otra muestra útil durante esta fase clínica.^{2,11-13}

Durante la fase inmune las muestras clínicas útiles son: orina para cultivo y suero para detección de anticuerpos. Se utilizan sueros pareados tomando una segunda muestra de 7 a 10 días después de la primera (tomada en la fase septicémica), si es necesario se puede estudiar una tercera muestra colectada una semana después de la última extracción.¹²⁻¹⁶

Las muestras *post mortem* más adecuadas son: riñón (parte cortical), hígado y bazo, así como sangre del corazón o LCR. Pueden también obtenerse muestras de pulmones, cerebro y fetos abortados. Los cortes de tejidos no congelados deben enviarse lo más rápido posible al laboratorio de microbiología.^{9,11-13}

También son importantes las muestras de aguas y los suelos vinculados con la fuente de infección.^{2,10}

Examen microscópico directo

Los microorganismos pertenecientes al género *Leptospira* se encuentran en el límite del poder de resolución del microscopio óptico como consecuencia de su escaso grosor, por lo que se recomienda el uso de microscopía de campo oscuro a través de la cual las espiroquetas se observan como hebras de plata sobre el fondo oscuro.^{9,11,22}

La observación por microscopía de campo oscuro, de muestras de sangre tomadas durante la fase de leptospiremia, es relativamente poco sensible ya que las leptospiras se pueden confundir con filamentos proteicos u otros artefactos.⁸

Este método es útil para quienes tienen considerable experiencia, para observar estos microorganismos en cultivos,^{9,22} sin embargo es común encontrar diagnósticos falsos positivos y negativos.

Estos microorganismos pueden ser teñidos por una variedad de métodos de coloración, son débilmente coloreados por las tinciones convencionales, sin embargo, se tiñen bien con sales de plata, particularmente mediante la coloración de Warthin - Starry. Las preparaciones con anticuerpos marcados con fluoresceína se han usado, con menos éxito.^{4,19,22}

Aislamiento y Cultivo

El aislamiento del agente etiológico, constituye la prueba de oro para el diagnóstico microbiológico de la enfermedad. Este método ofrece un resultado retrospectivo y presenta un 100 % de especificidad. El género *Leptospira* se puede cultivar en medios especiales suplementados con suero de conejo, Tween-80, albúmina bovina y vitaminas del complejo B. Dentro de estos los más conocidos son: el Fletcher, el Korthoff y Ellinghausen-McCullough-Johnson- Harris (EMJH).^{1,9,11,23}

Estas bacterias crecen lentamente (tiempo de generación de 6 a 16 horas), requieren una incubación de 28 a 30 °C durante un período de hasta tres meses, sin embargo, en la mayor parte de los cultivos positivos se detecta crecimiento a las dos semanas. Para la siembra de los hemocultivos se inoculan una o dos gotas de sangre por cada 5 mL de medio de cultivo. Igualmente se siembra la orina, siempre diluyéndola desde 1:10 hasta 1:1000. El crecimiento in vitro se detecta mediante microscopía de campo oscuro.^{9,11}

La tipificación de los aislamientos resulta útil para la vigilancia de los serovares patógenos circulantes a nivel local, así como del reconocimiento de nuevos patrones de presentación de la enfermedad y la evaluación de la efectividad de las medidas de intervención, las técnicas utilizadas con este fin son: aglutinación-absorción cruzada, análisis de factor usando antisuero de conejo y la identificación de los aislamientos usando anticuerpos monoclonales.⁹

Inoculación de animales de laboratorio

La inoculación intraperitoneal de animales de laboratorio con plasma fresco, sangre u orina, es una técnica sensible para el aislamiento. Los animales más sensibles son: hámster, cobayos destetados, gazapos, pollitos y chinchillas. Esta técnica es poco usada por su complejidad y demora en los resultados.^{9,11}

Otros métodos directos para la detección de *Leptospira* o sus productos

La reacción en cadena de la polimerasa (RCP) es un método altamente sensible usado para el diagnóstico rápido de la infección, los blancos a amplificar son segmentos del ARNr 16S, 23S, genes *secY* y *flaB*.^{1,9}

A finales del siglo xx y principios del xxi, surge la variante cuantitativa de la RCP en tiempo real, que muestra ventajas sustanciales sobre otros métodos porque permite la lectura inmediata de los resultados y evita el paso de electroforesis en gel de agarosa. A pesar de las ventajas que ofrecen estas técnicas, aun no están disponibles para uso rutinario por su elevado costo tanto en equipos como en reactivos. Estas se han empleado para diagnóstico de leptospirosis, para identificación de aislamientos y la identificación de *Leptospira* en muestras ambientales.²⁴⁻²⁶

Otros métodos directos para la detección de *Leptospira* a partir de muestras clínicas son: el ensayo inmunoenzimático ligado a una enzima (ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay), directo de doble sándwich, que es el más estudiado, aunque también se han usado inmunoensayos quimioluminocentes y cromatografía en capa delgada.^{27,28}

Pruebas serológicas

Los cultivos de *Leptospira* tardan semanas en hacerse positivos, por lo que el diagnóstico serológico cobra vital importancia en esta entidad. La inmunoglobulina (Ig) M frente a *Leptospira* se detecta en sangre, después del quinto o séptimo día del inicio de los primeros síntomas. Las técnicas serológicas superan en rapidez, sencillez y bajo costo al cultivo, así como a otras técnicas bacteriológicas y moleculares.^{2,20,23,27,29}

Microaglutinación con antígenos vivos (MAT)

La MAT es considerada la técnica de referencia para el diagnóstico serológico de la leptospirosis. Esta prueba consiste en mezclar el suero a estudiar con cultivos de *Leptospira* y evaluar el grado de aglutinación. Se utilizan como antígenos cultivos de los serogrupos de mayor prevalencia en el área geográfica, los cuales se mezclan con diluciones seriadas del suero del paciente y posteriormente se examinan al microscopio de campo oscuro. Este examen se realiza exclusivamente en laboratorios de referencia.¹¹ Los anticuerpos por lo común no alcanzan niveles detectables hasta la segunda semana de la enfermedad y su respuesta puede ser modificada por el tratamiento temprano.^{6,23,27,30,31}

La lectura de la MAT es subjetiva y difícil. El punto de corte se define como la dilución del suero que muestre el 50 % de aglutinación, dejando 50 % de células libres. El incremento en dos diluciones del título del segundo suero respecto al primero indica un resultado positivo, y el intervalo de tiempo que media entre la toma del segundo suero con respecto al primero será de siete días como mínimo.^{27,29,30}

Análisis inmunoabsorbente ligado a una enzima

La detección de IgM por la técnica de ELISA, ha sido ampliamente usada para el diagnóstico de la leptospirosis. Existen métodos comerciales que detectan tanto IgM como IgG. Esta prueba se realiza casi exclusivamente en laboratorios especializados, para conocer el título de IgM, la cual se considera un marcador de infección reciente.^{23,32-34}

Hemoaglutinación Pasiva (HAT)

Esta técnica detecta anticuerpos de la clase IgM. Utiliza el antígeno polisacárido denominado Sustancia Sensibilizante de Eritrocitos (ESS), extraído de la especie *L. biflexa*. Se emplean eritrocitos de carnero que son sensibilizados con el antígeno, formando un complejo que reconoce y marca los anticuerpos específicos presentes en el suero del paciente. La sensibilidad de la HAT es del 92 % y la especificidad del 95 %. Este sistema es rápido y fácil de realizar.^{9,35}

Otras técnicas serológicas

Se describen también para el serodiagnóstico de esta enfermedad: la macroaglutinación con antígeno termorresistente, la contraelectroforesis (CIE) y la inmunofluorescencia indirecta (IFI).^{23,27}

Los métodos convencionales directos como: el examen microscópico y el cultivo, son muy útiles, pero las técnicas serológicas como: la microaglutinación con antígenos vivos, el análisis inmunoabsorbente ligado a una enzima y la hemoaglutinación pasiva, ofrecen resultados confiables en menos tiempo, siempre que se indiquen en el momento óptimo para la detección de anticuerpos.

Técnicas de diagnóstico rápido

A principios de los años 90, la agencia comercial PanBio INDX, INC, de los Estados Unidos comercializa la primera generación del sistema inmunocromatográfico cualitativo conocido como Dip-S-Ticks®-IgM.²⁷

En 1997, Holanda da a conocer el uso de un ensayo Dipstick. A partir de este momento, la agencia comercial Organon Tecknika, en colaboración con el Instituto de Medicina Tropical de Holanda, desarrolló la segunda variante de este sistema, conocida como LEPTO Dipstick.^{27,36}

La inmunocromatografía de flujo lateral es una técnica que tiene como principio la visualización de la reacción antígeno-anticuerpo, por la acumulación del conjugado anti-IgM humana con oro coloidal en zonas específicas del papel de nitrocelulosa, donde se encuentran absorbidos en una línea, el antígeno específico y sobre otra línea las sustancias controles como son la poli-L-lisina o el anticuerpo complementario al que forma parte del conjugado. En muestras negativas, se visualizará solo una línea correspondiente a la retención del conjugado sobre la zona control y en muestras positivas se visualizarán dos líneas paralelas. Las pruebas rápidas basadas en la inmunocromatografía de flujo lateral son una variante muy útil, ya que ofrecen el resultado entre 5 y 30 minutos.^{27,36,37}

Con el desarrollo tecnológico han aparecido otros sistemas para el pesquijaje de leptospirosis humana. Se destacan los comercializados por la compañía coreana BIO LINE SD Standard Diagnostics INC, que dispone de tres sistemas de ventanas basados en la detección de anticuerpos IgG (*Leptospira* IgG), IgM (*Leptospira* IgM) e IgM-IgG (*Leptospira* IgM-IgG).²⁷

La firma comercial Organon Tecknika, de Holanda, desarrolló otro sistema rápido dirigido a la pesquisa de la enfermedad, el Lepto Tek Dri Dot, sistema basado en la aglutinación con partículas látex. El método no requiere de equipamiento alguno para su realización y los resultados se obtienen a los 30 segundos. Los reactivos ofertados son muy estables y pueden almacenarse a temperatura ambiente. El antígeno acoplado al ensayo es obtenido a partir de la cepa Lely del serovar Hardjo, serogrupo Sejroe, de la especie *L. interrogans*. La mezcla del antígeno y las partículas de látex se absorben a una cartulina blanca, por congelación en seco. La presencia de una aglutinación granular fina y homogénea evidencia un resultado positivo. Por el contrario, cuando no existen anticuerpos específicos frente a *Leptospira*, no se formará aglutinación y la suspensión permanecerá azul, indicando un resultado negativo.²⁷

Los métodos moleculares, a pesar de su elevado costo, son los únicos que permiten el diagnóstico rápido durante la primera semana de la enfermedad; destacándose la variante de RCP en tiempo real, por la inmediatez de su resultado. Estudios recientes sobre la producción de proteínas recombinantes y anticuerpos monoclonales, abren nuevas puertas en el diagnóstico de esta enfermedad, ya que

permiten diseñar nuevos sistemas que detecten la presencia de antígenos de *Leptospira* en sangre durante la primera semana de la enfermedad y en orina durante la fase inmune.^{38,39}

CONCLUSIONES

En la actualidad el diagnóstico de la leptospirosis humana continúa siendo un reto, sus características clínicas comunes con otras enfermedades hacen que en ocasiones pase inadvertida; aun cuando el médico de asistencia la sospeche, la confirmación de laboratorio es difícil, sobre todo si las técnicas de diagnóstico no se emplean en el momento oportuno. Esta revisión muestra un compendio de los ensayos de diagnóstico disponibles, aclara el momento oportuno para emplearlos, según la etapa clínica de la enfermedad y hace énfasis en las técnicas inmunocromatográficas de flujo lateral, como nueva herramienta útil para el diagnóstico rápido de la enfermedad.

Métodos tan antiguos como el interrogatorio y el examen físico son imprescindibles para establecer el diagnóstico oportuno de la leptospirosis, de esto depende el manejo adecuado del paciente y en muchos casos su vida. Es importante que el médico de asistencia domine la disponibilidad de medios diagnósticos y el momento adecuado para emplearlos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adler B, De la Peña A. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology* 2010;140:287-96.
2. Guerra MA. Leptospirosis. *J Am Vet Med Assoc.* 2009;234:472-8.
3. García RG, Reyes AT, Basilio DH, Ramírez MP, Rivas BS. Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev Latinoamer Patol Clin.* 2013;60(1):57-70.
4. Ko AI, Goarant C, Picardeau M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:736-47.
5. Chin J. El control de las enfermedades transmisibles. 17a. ed. Washington DC: OPS; 2005.
6. Bello S, Rodríguez M, Paredes A, Mendivelso F, Walteros D, Rodríguez F, et al. Comportamiento de la vigilancia epidemiológica de la leptospirosis humana en Colombia, 2007-2011. *Biomédica* 2013 [citado 3 Nov 2014];33(S-1):53-60. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v33s1/v33s1a17.pdf>
7. Suárez Conejero AM, Otero Morales JM, Cruillas Miranda S, Otero Suárez M. Prevención de leptospirosis humana en la comunidad. *Rev Cub Med Mil.* 2015 [citado 12 Jun 2015];44(1):86-95. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572015000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es

8. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud en Cuba. La Habana: MINSAP; 2013 [citado 30 Abr 2014]. Disponible en: <http://files.sld.cu/dne/files/2014/05/anuario-2013-esp-e.pdf>
9. OMS. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2008 [citado 3 Nov 2014]. Disponible en: http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=19119&Itemid=2518&lang=en
10. Hartskeerl RA, Pereira MC, Ellis WA. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(4):494-501.
11. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 5ta ed. St. Louis: Mosby; 2007.
12. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, editors *Harrison's Principles of internal medicine*, et al. 7ma ed. New York: McGraw-Hill; 2008.
13. Goldman L, Ausiello D, editores *Cecil Medicine*. 23ra ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.
14. Evangelista K, Coburn J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology* 2010;5(9)1413-25.
15. Mesén AG, Sandí LV. Leptospirosis. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica* 2010;LXVII(592):115-21.
16. Seijo A, Romer Y, San Juan J, Prieto R, Noguerras M, De Vedia L, et al. Neumonía aguda de la comunidad y hemorragia pulmonar por leptospirosis en el área metropolitana Buenos Aires. *Medicina* 2011;71:127-34.
17. Kendall EA, La Rocque CR, Bui DM, Galloway R, Ari MD, Goswami D, et al. Leptospirosis as a Cause of Fever in Urban Bangladesh. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2010;82(6)1127-30.
18. Gallegos MA, Sandí VL. Leptospirosis. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica* 2010;LXVII(592)115-21.
19. OMS. Ébola virus Disease. Nota descriptiva número 103 [Internet]. 2014 [citado 27 Oct 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/es/>
20. OPS/OMS. Fiebre Chikungunya. Información para proveedores de asistencia sanitaria. Ayuda memoria [Internet]. 2014 [citado 3 Nov 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/es/>
21. De Francesco Daher E, Soares de Abreu K, da Silva Junior GB. Leptospirosis-associated acute kidney injury. *Jornal Brasileiro de Nefrologia* 2010;32(4):400-7.
22. Vijayachari P, Sugunan AP, Umapathi T, Sehgal SC. Evaluation of darkground microscopy as a rapid diagnostic procedure in leptospirosis. *Indian J Med Res.* 2001;114:54-8.

23. Musso D, La Scola B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: a challenge. *J Microbiol Immunol Infect.* 2013;46(4):245-52.
24. Balassiano IT, Vital-Brazil JM, Pereira MM. Leptospirosis diagnosis by immunocapture polymerase chain reaction: a new tool for early diagnosis and epidemiologic surveillance. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;74(1):11-5.
25. Moreno N, Agudelo P. Aplicación de las pruebas de PCR convencional simple y múltiple para la identificación de asilamientos de *Leptospira spp.* en Colombia. *Revista Peruana Medicina Experimental Salud Pública* 2010;27:548-56.
26. Vital J, Balassiano I, Oliveira F, Costa A, Hillen L, Pereira M. Multiplex PCR-based detection of *Leptospira* in environmental water samples obtained from a slum settlement. *Memoria Instituto Oswaldo Cruz* 2010;105(3):353-5.
27. Obregón Fuentes AM, Fernández Molina C, Martínez Motas I, Llop Hernández A, Rodríguez González I, Rodríguez Silveira J, et al. Sistemas serológicos rápidos utilizados para la pesquisa de leptospirosis humana en Cuba. *Rev Cubana Med Trop.* 2011 Dic [citado 17 May 2014];63(3):239-45. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S03757602011000300007&lng=es
28. Pol S, Bharadwaj R. Evaluation of high performance liquid chromatography purified leptospiral antigen for the diagnosis of leptospirosis. *Jpn J Infect Dis.* 2009;62:428-31.
29. Picardeau M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Med. Mal Infect.* 2013;43(1):1-9
30. Smythe LD, Wuthiekanun V, Chierakul W, Suputtamongkol Y, Tiengrim S, Dohnt, et al. The microscopic agglutination test (MAT) is an unreliable predictor of infecting *Leptospira* serovar in Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:695-7.
31. Dassanayake DL, Wimalaratna H, Agampodi SB, Liyanapathirana VC, Piyarathna TA, Goonapienuwala BL. Evaluation of surveillance case definition in the diagnosis of leptospirosis, using the Microscopic Agglutination Test: a validation study. *BMC Infect Dis.* 2009;9:48.
32. Sarkar J, Chopra A, Katageri B, Raj H, Goel A. Leptospirosis: a reemerging infection. *Asian Pac J Trop Med.* 2012;5(6):500-2.
33. Silpasakorn S, Waywa D, Hoontrakul S, Suttinont C, Losuwanaluk K, Suputtamongkol Y. Performance of *Leptospira* immunoglobulin M ELISA and rapid immunoglobulin G immunochromatographic assays for the diagnosis of leptospirosis. *J Med Assoc Thai.* 2011;94(1):203-6.
34. Vasconcellos FA, Coutinho ML, da Silva EF, Fernández CP, Monte LG, Seyffert N, et al. Testing different antigen capture ELISA formats for detection of *Leptospira spp.* in human blood serum. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009;24:29-34.
35. Obregón AM, Martell M. Diagnóstico serológico de la leptospirosis humana mediante tres variantes de la técnica de hemoaglutinación pasiva. *Rev. Cubana Med Trop.* 1999;51(1):60-2.

36. Gussenhoven GC, Hoorn WG, Goris GA, Terpstra WJ, Hartskeerl RA, Mol BW, et al. LEPTO dipstick, a dipstick assay for detection of *Leptospira* specific immunoglobulin M antibodies in human sera. J Clin Microbiol. 1997;35:92-7.

37. Goris MG, Leeflang MG, Loden M, Wagenaar JF, Klatser PR, Hartskeerl RA, et al. Prospective Evaluation of Three Rapid Diagnostic Tests for Diagnosis of Human Leptospirosis. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(7):2290.

38. Confer AW, Ayalew S. The OmpA family of proteins: Roles in bacterial pathogenesis and immunity. Vet Microbiol. 2013;163(3-4):207-22.

39. Murray GL. The lipoprotein LipL32, an enigma of leptospiral biology. Vet Microbiol. 2013;162(2-4):305-14.

Fecha de entrada: 03 de mayo de 2015.
Fecha de aprobación: 15 de junio de 2015.

Yendrys Pérez Elias. Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil.
E-mail: cicdc@infomed.sld.cu