

ARTÍCULO ORIGINAL

Asociación serológica de la infección por leptospira en humanos, porcinos y roedores en una granja de Villavicencio-Colombia

Serological association of the infection by leptospira in human, pigs and rodents in a farm of Villavicencio-Colombia

¹MORALES-CABEZAS R.J., ² BRAVO-TAMAYO D., ³MORENO-VELASQUEZ D., ⁴GÓNGORA A., ⁵OCAMPO, A.

¹⁻³Estudiantes IX Semestre de MVZ Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad de los Llanos

⁴MV, MSc, Dr Sci. Grupo de investigación en Reproducción y Genética Animal (GIRGA) Escuela de MVZ Universidad de los Llanos. agongora60@unillanos.edu.co

⁵Zoot. MSc. PhD. Grupo de investigación en Sistemas Sostenibles de Producción con énfasis en palmas tropicales. Escuela de MVZ Universidad de los Llanos

Recibido: Noviembre 13 de 2007. Aceptado: Noviembre 29 de 2007.

RESUMEN

Se estudió la asociación serológica de anticuerpos a *Leptospira spp* en trabajadores, porcinos y roedores capturados en una granja con antecedentes de abortos y nacimientos de lechones débiles. Se obtuvieron muestras de sangre de operarios de la granja ($n:5$), de porcinos de diferente edad y grupos etáreos ($n:11$) y de roedores ($n:15$). Se utilizó la técnica de Elisa indirecta en los sueros humanos y en los porcinos y roedores la prueba de aglutinación microscópica. El 100% de los sueros humanos fueron positivos. La reactividad serológica en los porcinos fue *bratislava* (91%), *canícola* (64%), *australis*, (55%), *autummalis* (55%), *copenhageni* (46%), *icterohaemorrhagiae* (18%) y *hardjo pratjino* (9%), no se encontraron reactores al serovar *pomona*. En los roedores se encontró reactividad serológica a *bratislava* (100%), *canícola* (42.8%), *pomona* (7.1%), no se encontró reactores al serovar *icterohaemorrhagiae*. La alta tasa de reactores en los 3 grupos estudiados, mas los antecedentes de no vacunación y hallazgos clínicos, sugieren un brote de leptospirosis. La presencia de anticuerpos tipo IgM en los humanos sugiere una infección reciente posiblemente adquirida a partir de los cerdos.

Palabras clave: Leptospirosis, porcinos, roedores, Villavicencio.

ABSTRACT

The association between serological antibodies to *leptospira spp* on pig workers and rodents captured in a farm with abortions and low weight piglets antecedents was studied. Blood samples from pig workers ($n:5$), pigs of different ages ($n:11$) and rodents ($n:15$) were taken. The Elisa indirect technique was used to analyze human serums and for pigs and rodents serums the microscopy agglutination test was used. The 100% of human serums were positive. The serological reactivity on pigs was positive to *bratislava* (91%), *canícola* (64%), *australis*, (55%), *autummalis* (55%), *copenhageni* (46%), *icterohaemorrhagiae* (18%) y *hardjo pratjino* (9%) and negative to *Pomona*. On rodents, a positive serological reaction to *bratislava* (100%), *canícola* (42.8%), *pomona* (7.1%) were found and negative to serovar *icterohaemorrhagiae*. The high positive reaction for the three groups studied, additional to the no previous vaccine use and clinical founds, suggest a leptospirosis outbreak. The antibodies type IgM founds in human suggest a recent infection possibly acquired due to pig infection.

Key words: Leptospirosis, pig, rodents, Villavicencio

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una antropozoonosis ocasionada por espiroquetas del género *Leptospira* que tienen una amplia distribución a nivel mundial (WHO, 1999). En la actualidad se reconoce como una enfermedad reemergente en varios países, especialmente aquellos ubicados en la región tropical dadas las condiciones ambientales que favorecen su presentación (Bharti *et al.*, 2003).

En Colombia la leptospirosis no es una enfermedad de notificación obligatoria y se presenta en forma endémica con brotes esporádicos asociados a cambios ambientales como las inundaciones (Sebek *et al.*, 1989; Ministerio de Salud de Colombia, 1997). La tasa de reactores en la población humana aparentemente sana oscila entre 5-20% (Sebek *et al.*, 1989), sin embargo en grupos de riesgo ocupacional puede ser ocasionalmente alta (Góngora, 2007). En Barranquilla, Buenaventura y Lérida se han reportado casos esporádicos de mortalidad en humanos (Ministerio de Salud de Colombia, 1997). En Villavicencio y otros municipios del departamento del Meta se tiene una alta prevalencia de leptospirosis en bovinos (Céspedes y Rincón, 1996; Barrera y Castaño, 1998), caninos (Ardila y Mojica, 1997) y porcinos (Montenegro y Puente, 1986), sin embargo los reportes en la población humana son escasos, debido al desconocimiento que se tiene de la enfermedad, y la similitud de los signos clínicos con otras enfermedades tropicales como dengue, malaria, fiebre amarilla e influenza entre otras (Tappero *et al.*, 2000), situación que podría inducir a que la enfermedad sea subdiagnosticada.

En humanos la mayoría de las infecciones por *Leptospira* se presentan en forma subclínica y tienen baja severidad,

Los signos clínicos son inespecíficos y cursan con fiebre, dolor de cabeza, prurito, mialgias, dolor abdominal, escalofríos y fotofobia, los cuales en su conjunto caracterizan el cuadro anictérico (Faine, 1993; Farr, 1995). La otra forma de presentación es la forma aguda, conocida como enfermedad de Weill que es altamente mortal cuando no se diagnostica a tiempo e inicia un tratamiento oportuno; cursa con un síndrome de ictericia, insuficiencia renal y hepática (Levett, 1999; Levett, 2001; Bharti *et al.*, 2003); ésta forma solo se presenta en un 7% de los casos (Levett, 2001).

En la cadena epidemiológica, los roedores son la principal fuente de infección, constituyéndose en los reservorios de la bacteria, mientras los bovinos y los porcinos se constituyen en huéspedes incidentales para algunos serovares, aunque pueden jugar un papel importante en la transmisión de la enfermedad al contaminar con la orina el alimento y las fuentes de agua (Bharti *et al.*, 2003). En el bovino la leptospirosis se asocia con abortos, nacimiento de terneros débiles, infertilidad temporal y con el "síndrome de caída de la leche" los cuales ocasionan severas pérdidas económicas (Góngora, 2007; Grooms, 2006). En los porcinos se reportan igualmente abortos, disminución en el número de lechones, nacimiento de lechones débiles, que mueren poco tiempo después de nacidos e infertilidad temporal (Bolin *et al.*, 1991).

Los objetivos de este estudio fueron determinar la posible causa de los problemas reproductivos de la explotación porcina en la granja Barcelona de la Universidad de los Llanos, relacionar los niveles de anticuerpos en la misma población con los anticuerpos presentes en humanos y roedores e identificar los principales serovares actuantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de la finca y antecedentes epidemiológicos.

El estudio se realizó en la granja Barcelona de la Universidad de los Llanos ubicada a 13 Km de Villavicencio departamento del Meta. La granja es una unidad de apoyo a la docencia e investigación de 17 hectáreas de extensión, en donde se tienen diversos sistemas de producción entre ellos bovinos de doble propósito, cerdos, ovinos, aves y piscicultura. Un antecedente epidemiológico fue el reporte de abortos y nacimientos de lechones débiles y un aumento inusitado de roedores alrededor de la granja. No se conocían antecedentes de vacunación en la piara para *Leptospira*.

Obtención de muestras sanguíneas en humanos y porcinos

Se obtuvo con consentimiento informado, muestras sanguíneas de la vena cubital de los trabajadores de la granja ($n:5$), los cuales participaban en un estudio sobre factores de riesgo ocupacional a la misma enfermedad (Díaz *et al.*, 2005) y detectados anticuerpos mediante un Kit comercial ELISA-IgM suministrado por Pambio (Pambio Pty LTd, Brisbane, Australia). Los sueros problema y los controles fueron diluidos 1:100 siguiendo las instrucciones del fabricante. La lectura de las microplacas se hizo un equipo DynexÒ a una densidad óptica de 450 nm la cual fue comparada con el punto

de corte de la curva de calibración suministrada por el fabricante. Se consideró valores > 1.1 positivo, < 0.9 negativo y entre 0.9 y 1.1 dudoso, resultados que se reportaron como negativos.

Se tomaron muestras sanguíneas de los porcinos en el 40% de la población total en diferentes grupos etáreos ($n: 11$) en tubos vacutainer[®] al vacío sin anticoagulante de la vena marginal de la oreja. Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas a 3000 RPM por 5 minutos, el suero fue extraído con pipeta Pasteur y mantenido a -20°C hasta su uso en la prueba de aglutinación microscópica (MAT).

Captura de roedores.

Se utilizaron trampas construidas artesanalmente en alambre que fueron ubicadas alrededor de la piara, galpón de las aves, estación piscícola, bodega para el concentrado y bodega de insumos. Los roedores capturados fueron clasificados de acuerdo a sus características morfológicas como *Mus musculus* (ratón común), *Ratus norvegicus* (rata gris) y *Ratus rattus* (rata negra) y sacrificados posteriormente con cloroformo.

Se obtuvo aproximadamente 3 ml de sangre por punción cardiaca de cada roedor en jeringas estériles,

RESULTADOS

La totalidad de los trabajadores de la granja ($n: 5$) fueron positivos por Elisa, 3 de los cuales manifestaron haber presentado alguna sintomatología clínica, la cual paso desapercibida y no requirió de atención médica.

En los porcinos el mayor porcentaje de reactores fue para el serovar *bratislava*, seguido respectivamente de *canícola*, *australis*, *autummalis*, *copenhageni*, *icterohaemorrhagiae* y *hardjo pratjino*, sin encontrar reactores al serovar *pomona* (Figura 1). Para todos los serovares se encontró una amplia variación de los títulos de 1:25 a 1:400. Un solo animal fue negativo a todos los 8 serovares estudiados, tres seropositivos a dos serovares y 7 positivos a más de tres serovares.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran una relación epidemiológica asociada al agente etiológico. Se encontraron títulos de anticuerpos en los cerdos, roedores y trabajadores de la granja, sugiriendo una

posteriormente envasados en tubos vacutainer y después de 1 hora centrifugados. El suero fue obtenido mediante pipeta Pasteur y conservados a -20°C hasta su uso en la prueba de MAT.

Prueba de aglutinación microscópica (MAT).

Se realizó en el laboratorio de Leptospira y Leptospirosis del Programa Nacional de investigación en Salud Animal de Corpoica-Ceisa (Bogotá). Los sueros porcinos se corrieron frente a 8 serovares entre ellos *L. hardjoprattjino*, *L. copenhageni*, *L. canícola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. bratislava*, *L. australis* y *L. pomona*. Para los roedores incluyeron 4 serovares *L. Canícola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. Bratislava*, *L. Pomona*

Todos los serovares empleados correspondían a la batería clásica, con garantía de identidad genómica empleada en el mismo laboratorio con fines diagnósticos. Los sueros se corrieron en diluciones dobles partiendo de una dilución inicial de 1: 25.

Análisis estadístico.

La información fue analizada mediante estadística descriptiva mediante el programa Epiinfo (Versión 3.3 2004).

El total de roedores capturados fue de 15, 8 machos y 7 hembras, que fueron clasificados como 8 *mus musculus* (53.3%), 4 *ratus rattus* (27%) y 3 *ratus norvegicus* (20%). En los roedores el porcentaje de reactores a MAT fue *pomona* (7.1%), *canícola* (42.8%), y *bratislava* (100%). No se encontraron reactores al serovar *icterohaemorrhagiae*. (Figura 2).

El número de capturas de acuerdo con el sitio de ubicación de las trampas fue 1 (6.6%) en la bodega de la granja, 5 (33.3%) en la bodega de insumos, 2 (13.3%) alrededor de la piara y 7 (46.6%) en la estación piscícola.

infección reciente a *leptospira*, que probablemente se originó por contaminación del alimento y el agua causada por orina de los roedores los cuales fueron capturados en mayor número alrededor de la piara.

Figura 1. Reactividad serológica a la prueba de aglutinación microscópica (MAT) en porcinos de la granja Barcelona de la Universidad de los Llanos (n:11)

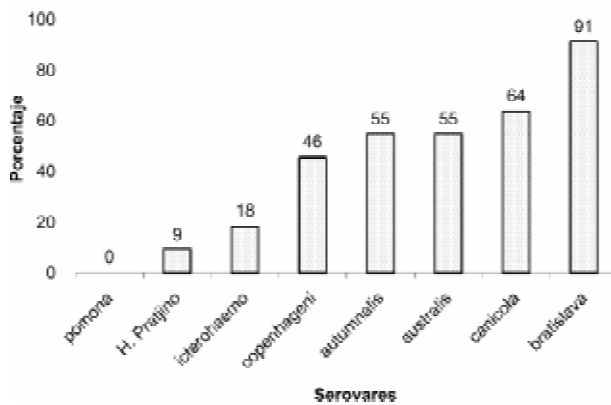
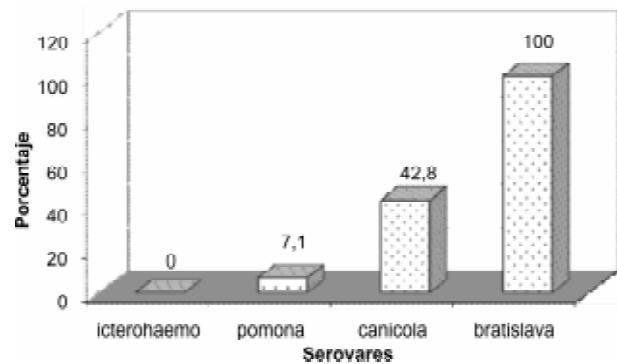


Figura 2. Reactividad serológica a MAT en roedores capturados en la granja Barcelona de la Universidad de los Llanos (n:15)



La alta seropositividad en los cerdos y los roedores al serovar *bratislava* y *canicola*, sugiere su asociación con los problemas reproductivos en la granja. El serovar *bratislava* ha sido implicado como causa de mortinatos, nacimiento de lechones débiles e infertilidad (Bolin *et al.*, 1991) cuadro clínico que coincide con lo observado en la piara. El serovar *bratislava* ha sido aislado de los riñones de cerdos en Vietnam y asociado con el riesgo ocupacional para los humanos, aunque no se encontró asociado a problemas reproductivos (Boqvist *et al.*, 2003). En cerdos silvestres de Oklahoma (EUA) los serovares de mayor prevalencia fueron *bratislava* y *pomona* (Saliki *et al.*, 1998), contrariamente en varios municipios del departamento de Córdoba (Colombia), el serovar mas prevalente fue *pomona*, mientras *canicola* y *bratislava* tuvieron una baja presentación (Almenteros *et al.*, 2004).

A pesar que no se conocían con anterioridad estudios en la granja ni en la región sobre los serovares mas prevalentes, se acepta la hipótesis que estos difieren de acuerdo con la características ambientales. Así en Rio de Janeiro (Brasil), los serovares de mayor importancia epidemiológica fueron en su orden *icterohaemorrhagiae*, *pomona* y *tarassovi* (Ramos *et al.*, 2006), que son distintos a los encontrados en este estudio. Se ha planteado, que la permanencia de los diferentes serovares en el cerdo varían dependiendo de factores como: tipo de explotación, medidas de higiene y desinfección, vacunación, compra de nuevos animales, convivencia con otras especie (perros, gatos, bovinos, ovinos) y la presencia de fauna silvestre (roedores), entre otros (López, 2001). Recientemente, se ha demostrado que la capacidad de la leptospira para adaptarse a las diversas condiciones dentro y fuera del

huésped depende del tamaño de su genoma y del alto porcentaje de las señales de transducción de sus genes, siendo una importante señal para la regulación de la expresión genética, el cambio de la osmolaridad fisiológica en el ambiente en que se encuentra, a las nuevas condiciones en los tejidos del huésped (Matsunaga *et al.*, 2007). Esto podría explicar la divergencia de los serovares entre estudios.

Respecto a los roedores capturados, el mayor numero de ellos correspondió a *mus musculus*, que coincide con un estudio realizado en la ciudad de Santa fe (Argentina) sobre un total de 214 capturas (Vanazco *et al.*, 2003). Distinto sucedió en 16 fincas de la zona cafetera colombiana, donde el mayor número de capturas correspondió a *Ratus rattus* (Giraldo de León *et al.*, 2002), mientras en Medellín (Colombia) en una central de alimentos en 254 capturas, la mayor frecuencia correspondió a la especie *rattus norvegicus* (Agudelo *et al.*, 2007). Las diferencias entre estos estudios pueden ser atribuibles a las condiciones medioambientales propias de cada lugar que favorece la mayor o menor abundancia y permanencia de cada una de estas especies.

Es válido especular que los roedores capturados debieron ser los huéspedes de mantenimiento para los principales serovares encontrados, mientras que para los restantes actuarían como huésped accidentales (Twiggs *et al.*, 1969; Hartskeerl y Terpstra, 1996). Existe discusión si las diferentes especies de roedores son reservorios específicos de algunos serovares, por ejemplo, la rata gris (*Ratus norvegicus*) se ha encontrado como reservorio de los serovares *icterohaemorrhagiae* y *copenhageni* (serogrupo *icterohaemorrhagiae*), sin em-

bargo puede ocasionalmente ser portador de otros serovares (Michna, 1970; Higa y Fujinaka, 1976; Thiermann, 1977; Cirone *et al.*, 1978; Shimizu, 1984; Pereira y Andrade, 1988; Hartskeerl and Terpstra, 1996). Se especula igual situación con el ratón común considerado reservorio del serovar *ballum* (serogrupo Ballum) y la rata negra de los serovares *ictheaemorrhagiae* y *ballum* (Higa and Fujinaka, 1976; Thiermann, 1977; Hathaway y Blackmore, 1981; Songer *et al.*, 1983; Shimizu, 1984; Hartskeerl y Terpstra, 1996).

Estudios realizados en países tropicales, han reportado la importancia de otras especies como reservorios de *leptospira* entre ellos *Oligoryzomys flavescens* (rata de los arrozales) y *Akodon azarae* (ratón de campo suramericano), especies que no fueron identificadas, a pesar que en áreas cercanas al sitio de estudio, es frecuente la siembra de arroz. Además de otros roedores neotropicales, se ha aislado leptospira patógenas en marsupiales y murciélagos (Bunnell *et al.*, 2002). La fauna silvestre que circunda la granja donde se realizó el estudio, obliga a realizar nuevas investigaciones orientadas a identificar nuevos reservorios de la bacteria.

La seropositividad observada en los trabajadores de la granja, sugiere una posible infección ocupacional. Similares resultados fueron encontrados entre los operarios en una explotación porcina del municipio de Don Matías (Antioquia) (Ochoa *et al.*, 2000). La prueba de Pambio-Elisa aunque no discrimina la seropositividad de acuerdo con los diferentes serovares detectó la presencia de anticuerpos en todos los trabajadores, esta característica puede ser atribuible a la sensibilidad (97.5%) y especificidad (96.4%) demostrada en otros estudios en una mayor población humana (Levett y Branch, 2002), similares resultados fueron reportados por esta prueba frente a otras tres pruebas serológicas (Bajani *et al.*, 2003). Contrariamente en adultos febriles en Laos la sensibilidad y especificidad fueron bajas (Blacksell *et al.*, 2006). Recientemente se ha probado la identificación de ciertas proteínas ligadas a la inmunoglobulina G, como marcador serodiagnóstico a leptospira, este marcador es altamente sensible y

específico y promete un gran avance en el diagnóstico temprano de la infección (Croda *et al.*, 2007).

Al margen que la leptospirosis continúa siendo reconocida como una enfermedad ocupacional, se han reportado brotes a nivel de la población urbana sin antecedentes ocupacionales o asociado con actividades recreacionales y deportivas (Vinetz *et al.*, 1996 CDC, 1977, 1998, 2000; St John *et al.*, 2000; Narita *et al.*, 2005).

Otro hecho que sugiere la presencia de un brote activo de leptospirosis en la granja fue la gran variabilidad de títulos en la población, especialmente para el serovar *bratislava*, en la cual no se tenía antecedentes de vacunación. En consecuencia los títulos encontrados son producto de una infección activa y no títulos postvacunales.

Respecto a las pruebas diagnósticas utilizadas, tanto MAT como Elisa, detectan anticuerpos IgM los cuales se forman en los estados iniciales de la infección (Torres *et al.*, 1994), hecho que corrobora la presencia de una infección reciente. El ELISA ha sido recomendada especialmente en humanos en donde se busca orientar rápidamente el diagnóstico. En igual sentido la prueba de MAT es la prueba de referencia recomendada por la organización mundial de la salud, la correlación entre ambas pruebas es alta, hecho que sustentan los resultados obtenidos en este estudio.

Se concluye que los problemas reproductivos en la pira fueron ocasionados por un brote de leptospirosis, cuya fuente de infección pudo provenir de los roedores al contaminar los alimentos. A su vez, los cerdos pudieron ser la fuente de infección para los humanos, según lo sugiere los hallazgos positivos a diferentes serovares de leptospira. Los principales serovares actuantes difirieron de otros estudios en Colombia y otros países debido seguramente a las condiciones medioambientales propias de cada sitio donde fueron realizados los estudios. La fauna silvestre que rodea la granja donde se realizó el estudio, sugiere la realización de nuevos estudios tendientes a identificar otros posibles reservorios de *leptospira*.

AGRADECIMIENTOS

Al instituto de investigaciones de la Orinoquia Colombiana (IIOC) de la Universidad de los Llanos por la financiación parcial de este proyecto.

REFERENCIAS

- Agudelo PM, Londoño AF, Quiroz VH, Muñoz AF, Angel JC, Loaiza ET, Rodas JD. Estudio de la prevalencia de leptospira spp en roedores de la central minorista de abastos de Medellín, Colombia. *Rev col cienc pec.* 20, 4:560 2007.
- Almenteros C, Arrieta G, Máttar S, Barguil A, Tamayo L, Padilla T, Bedoya Z, Mendoza S, Estereta F, Díaz N, Estrada C, Medina A, Rodríguez A, De la Ossa M, Pérez A, Ríos R. Seroprevalencia de leptospirosis porcina en el Departamento de Córdoba. *Rev Col Cienc Pec Vol.* 17, 2:141-147 2004
- Ardila RM, Mojica JD. Determinación de factores de riesgo a *L. canícola* en caninos de Clínicas Veterinarias en Villavicencio: Trabajo de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad de los Llanos. 1997
- Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, Plikaytis BD, Perkins BA, Phelan M, Levett PN, Weyant RS. Evaluation of Four Commercially Available Rapid Serologic Tests for Diagnosis of Leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology.* 41 (2) 803–809 2003
- Barrera MJ, Castaño LH. Estudio de antígenos y anticuerpos a *Leptospira spp* en vacas de abasto y sus fetos en el Municipio de Villavicencio: Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad de los Llanos 1998
- Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gilman RH, Willig MR, Gotuzzo E, Vinetz JM, Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis* 3: 757–771 2003
- Blacksell SD, Smythe L, Phetsouvanh R, Dohnt M, Hartskeerl R, Symonds M, Slack A, Vongsouvat M, Davong V, Lattana O, Phongmany S, Keoulouangkot V, White NJ, Day NPJ, Newton PN. Limited Diagnostic Capacities of Two Commercial Assays for the Detection of Leptospira Immunoglobulin M Antibodies in Laos. *Clin Diagn Lab Immunol* 13: 1166-1169 2006
- Bolin CA, Casells JA, Hill JA, Frantz JC, Mielsen JN. Reproductive failure associated with *Leptospira interrogans serovar bratislava* infection of swine. *J Vet Diagn Invest.* 3:152-154 1991.
- Boqvist S, Montgomery JM, Hurst M, Thi Viet Thu Ho, Olsson Engvall E, Gunnarsson A, Magnusson U. *Leptospira* in slaughtered fattening pigs in southern Vietnam: presence of the bacteria in the kidneys and association with morphological findings. *Veterinary Microbiology* 93: 361–368 2003
- Bunnell JE, Hice CL, Watts DM, Montrueil V, Tesh RB, Vinetz JM. Detection of pathogenic *Leptospira* spp infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *Am J Trop Med Hyg*; 63:255–258 2000
- Centers for Disease control and Prevention. Outbreak of leptospirosis among white-water rafters- Costa Rica, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 46, 25: 577-579 1977
- Centers for Disease control and Prevention. Outbreak of acute febrile illness among athletes participating in triathlons_ Wisconsin and Illinois, 1998. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 47 (28):585-588 1998
- Centers for Disease control and Prevention. Outbreak of acute febrile illness among participants in EcoChallenge Sabah 2000-Malaysia 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 49, 36:816-817 2000
- Céspedes DA, Rincón GA. Estudio serológico prospectivo de la leptospirosis bovina en dos fincas del Departamento del Meta. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad de los Llanos, 1996.
- Cirone SM, Rieman HP, Ruppner R, Behymer DE, Franti CE. Evaluation of hemagglutination test for epidemiologic studies of antibodies in wild mammals. *J. Wildl. Dis.* 14:193–202 1978
- Croda J, Ramos JGR, Matsunaga J, Queiroz A, Homma A, Riley LW, Haake DA, Reis MG, Ko AI. Leptospira Immunoglobulin-Like Proteins as a Serodiagnostic Marker for Acute Leptospirosis. *J Clin Microbiol* 45: 1528-1534 2007
- Díaz L, Zapata N, Góngora A, Parra JL, Gómez L. Determinación de anticuerpos a *Leptospira* por la técnica de ELISA en siete grupos humanos de alto riesgo ocupacional en el Municipio de Villavicencio. *Rev col cienc pec.* 18, 4:371 2005
- Faine S. *Leptospira* and leptospirosis. Baton Raton: CRC Press, 1993.

- Farr RW. Leptospirosis. *Clin Infect Dis* 21: 1–6 1995
- Giraldo de León G, Orrego-Urbe A, Betancurth AM. Los roedores como reservorios de *Leptospiras* en planteles porcinos de la zona central cafetera de Colombia. *Arch. med. vet.* 34, 1 2002
- Grooms DL. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology* 66:624–628 2006
- Góngora A. Leptospirosis bovina, efectos sobre la reproducción e impacto económico, estudios en Colombia. En: Memorias I Seminario Nacional de Sanidad Bovina. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Septiembre 20-21 de 2007.
- Hathaway S, Blackmore D. Ecological aspects of the epidemiology of infection with leptospires of the Ballum serogroup in the black rat (*Rattus rattus*) and the brown rat (*Rattus norvegicus*) in New Zealand. *J.Hyg. Camb.* 87: 427–436 1981
- Hartskeerl RA, Terpstra WJ. Leptospirosis in wild animals. *Vet. Quart.* 18: 149–150 1996
- Higa HH, Fujinaka IY. Prevalence of rodent and mongoose leptospirosis on the island of Oahu. *Pub.Health Rep.* 91:171–177 1976
- Levett PN. Leptospirosis: re-emerging or re-discovered disease? *J Med Microbiol* 48: 417–418 1999
- Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 14: 296–326 2001
- Levett PN, Branch SL. Evaluation of two Enzyme-linked immunosorbent assay methods for detection of immunoglobulin M antibodies in acute leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66, 6:745–748 2002
- López E. Diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis. Departamento de bacteriología. Sección de Inmunología bacteriana. Instituto Nacional de Higiene. Disponible en: <http://www.todocarabobo.com/jornadaLRAE/index.htm> [30/5/02] 2001
- Matsunaga J, Lo M, Bulach DM, Zuerner RL, Adler B, Haake DA. Response of *Leptospira interrogans* to Physiologic Osmolarity: Relevance in Signaling the Environment-to-Host Transition. *Infect Immun* 75: 2864-2874 2007.
- Ministerio de Salud de Colombia. Leptospirosis. Informe quincenal epidemiológico nacional 2:321 1997
- Michna SW. Leptospirosis. *Vet. Rec.* 86: 484–496 1970
- Montenegro T, Puente UP. Prevalencia de Leptospirosis en porcinos sacrificados en los mataderos de Villavicencio. Trabajo de grado Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de los Llanos, 1986.
- Narita M, Fujitani S, Haake DA, Patterson DL. Leptospirosis after recreational exposure to water in the yaeyama islands, Japan. *Am. J.Trop. Med. Hyg.* 73, 4:652-656 2005.
- Ochoa JE Sánchez A, Ruiz I. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health* 7, 5:325-331 2000
- Ramos ACF, Souza GN, Lilenbaum W. Influence of leptospirosis on reproductive performance of sows in Brazil. *Theriogenology* 66: 1021–1025 2006
- Saliki JT, Rodgers SJ, Eskew G. Serosurvey of selected viral and bacterial diseases in wild zwine from Oklahoma. *J. Wildl Dis.* 34, 4: 834-838 1998.
- Sebek Z, Sixl W, Valova M. Serological investigations for leptospirosis in humans in Colombia. *Geogr Med;* 3S: 51-60. 1989
- Shimizu, MM. Environmental and biological determinants for the prevalence of leptospirosis among wild small mammals hosts, islands of Hawaii. *Int. J. Zool.* 11, 173–188. 1984
- Songer JG, Chilelli CJ, Reed RE, Trautman RJ. Leptospirosis in rodents from an arid environment. *Am. J. Vet. Res.* 44: 1973–1976 1983
- St John MA, King S, Bullen SE, Cherian J, Levett PN. Leptospirosis occurring in two children after fresh water immersion. *West Indian Med J.* 49: 340–43 2000
- Tappero JW, Ashford DA and Perkins BA 2000. *Leptospira* species (leptospirosis), p. 2495–2501. In G. L. Mandell, J. E. Bennett, and R. Dolin (ed.), Principles and practice of infectious diseases, 5th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, Pa.

Thiermann AB. Incidence of leptospirosis in the Detroit rat population. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 26: 970-974 1977

Torres M, Hernández V, Valenzuela S, González G, Mogollón JD. La serología en enfermedades infecciosas de la especie porcina. *Revista del Ceisa.* 1:1-2:34-47 1994.

Twigg GI, Cuerden CM, Hughes DM, Medhurst O. The leptospirosis reservoir in British wild mammals. *Vet. Rec.* 84: 424-426 1969

Vanazco NB, Sequeira MD, Sequeira G, Tarabla HD. Associations between leptospiral infection and seropositivity in rodents and environmental characteristics in Argentina. *Preventive Veterinary Medicine* 60: 227-235 2003

Vinetz JM, Glass GE, Flexner CE, Muller P, Kaslow DC. Sporadic urban Leptospirosis. *125: 794-798* 1996.

World Health Organization. Leptospirosis worldwide. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 4:237-242 1999-