

## Evidencia serológica de leptospirosis canina en la comunidad indígena Kamentsá, Putumayo, Colombia

SEROLOGICAL EVIDENCE OF CANINE LEPTOSPIROSIS IN THE KAMENTSÁ INDIGENOUS COMMUNITY, PUTUMAYO, COLOMBIA

Marlyn H. Romero<sup>1,3</sup>, Myriam Astudillo<sup>2</sup>, Disney M. Aguillón<sup>1</sup>, Ileany D. Lucio<sup>1</sup>

### RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de leptospirosis canina e identificar factores asociados con la infección en una población indígena Kamentsá del departamento de Putumayo, Colombia. Se evaluaron 154 caninos de ambos sexos localizados en el área rural del Valle de Sibundoy. Se identificaron variables demográficas, sanitarias y de tenencia responsable mediante una encuesta estructurada. Se colectaron muestras de sangre a los canes y se procesaron mediante la técnica de microaglutinación macroscópica (MAT) usando un cepario de referencia conformado por 24 serogrupos de *Leptospira*. La prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp fue de 79.9%. Los serogrupos más frecuentes fueron Gripotyphosa (10.2%), Hursbridge (8.4%), Sarmin y Australis (7.2%), Canicola (6.8%) y Tarassovi (6.4%). Los factores de riesgo asociados fueron la edad del canino, la presencia de aguas servidas y la tenencia de más de un canino en la vivienda ( $p < 0.05$ ). En conclusión, la alta prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp en los caninos sugiere que existe un riesgo potencial de transmisión de la bacteria al hombre y, por tanto, es necesario fortalecer las medidas de promoción, prevención y vigilancia por parte de las autoridades de Salud Pública.

**Palabras clave:** epidemiología; leptospirosis; perros; serogrupos

### ABSTRACT

The objective of this study was to determine the prevalence of canine leptospirosis and identify factors associated with the infection in an indigenous Kamentsá population of the department of Putumayo, Colombia. Blood samples of dogs of both sexes ( $n=154$ )

<sup>1</sup> Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Valle, Colombia

<sup>3</sup> E-mail: marlyn.romero@ucaldas.edu.co

Recibido: 2 de octubre de 2017

Aceptado para publicación: 26 de enero de 2018

located in the rural area of Sibundoy Valley were collected. Demographic, sanitary, and responsible tenure variables were identified through a structured survey. Blood samples were processed by the macroscopic microagglutination test (MAT) using a reference strain collection composed of 24 serogroups of *Leptospira* serogroups. The prevalence of antibodies against *Leptospira* sp was 79.9%. The most frequent serogroups were Gripotyphosa (10.2%), Hursbridge (8.4%), Sarmin and Australis (7.2%), Canicola (6.8%) and Tarassovi (6.4%). The associated risk factors were the age of the dog, the presence of sewage and the possession of more than one dog in the house ( $p < 0.05$ ). In conclusion, the high prevalence of antibodies against *Leptospira* sp in dogs suggests that there is a potential risk of transmission of the bacteria to man and, therefore, it is necessary to strengthen the promotion, prevention and surveillance measures by Public Health authorities.

**Key words:** epidemiology; leptospiras; dogs; serogroups

## INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad sistémica causada por bacterias patógenas del género *Leptospira* que afecta a humanos, mamíferos silvestres y domésticos, de zonas urbanas y rurales (Ward y Kelman, 2011) y se considera una zoonosis de distribución mundial a excepción de la Antártida (Adler y de la Peña Moctezuma, 2010).

La fuente de infección de las leptospiras en humanos es el contacto directo o indirecto con la orina de animales infectados (Levett, 2004). Los caninos juegan un rol importante en la epidemiología de la leptospirosis humana como reservorios y fuentes de infección, por su estrecho vínculo con el hombre y su constante interacción en espacios comunes, aspectos que aumentan la probabilidad de infección entre especies (Romero *et al.*, 2012). Así mismo, los caninos pueden presentar la condición de portador durante años, al mantener las leptospiras viables y con capacidad de multiplicarse en sus riñones y excretarlas de manera intermitente por la orina (Levett, 2004).

En Colombia, el reporte de los casos y muertes por leptospirosis entre humanos se hace al Instituto Nacional de Salud, mediante el Sistema de Vigilancia en Salud Pública

(SIVIGILA) (Yusti *et al.*, 2013). No obstante, existe poca evidencia de la situación epidemiológica de la leptospirosis en poblaciones indígenas, debido al bajo acceso a los servicios de salud pública, la imposibilidad de contar con laboratorios de diagnóstico locales y a factores culturales que favorecen el tratamiento de síndromes febriles a través de la medicina no tradicional, entre otros, lo cual conlleva a un subregistro de los eventos en salud (Ortiz *et al.*, 2015).

En la comunidad indígena Kamentsá del Putumayo se desconoce la presencia de la infección en los caninos, los cuales, junto con los roedores sinantrópicos, son considerados como el principal enlace para la diseminación de las leptospiras en áreas urbanas y rurales (Oliveira-Lavinsky *et al.*, 2012). El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp en caninos e identificar factores asociados en la población indígena Kamentsá.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad de Caldas. Así mismo, se siguieron los lineamientos en cuanto a las normas éticas para el manejo de animales de laboratorio, además de los

expuestos en la Ley 84 de 1989 y el Decreto 2257 de 1986. Se coordinó con el gobernador de la comunidad indígena y se obtuvo el consentimiento informado de los propietarios de los animales, previo a la toma de las muestras sanguíneas.

### Área de Estudio

Se realizó un estudio descriptivo transversal en junio y julio de 2014 en el territorio habitado por la comunidad indígena Kamentsá, en el Valle de Sibundoy (Putumayo) (1°08'57"N 76°38'47"O), localizado a 2200 msnm. El área del valle es de 525 km<sup>2</sup>, la temperatura promedio de 16 °C y humedad relativa de 86%, con una precipitación anual de 1432 mm (IDEAM, Colombia). La comunidad está conformada por 4879 personas según la Organización de las Naciones Unidas (ONU).

### Factores de Riesgo

Se evaluaron variables demográficas, sanitarias y de tenencia responsable de las mascotas mediante la aplicación de una encuesta estructurada dirigida a los propietarios de los caninos.

### Muestras y Análisis de Laboratorio

Se hizo un muestreo por conveniencia de 154 caninos criollos del área rural, de las veredas Machindoy (n=6), Tabanoka (n=13), Sotanjoy (n=9), El Egido (n=11), Cabuyayaco (n=15), Sagrado Corazón (n=27), Leandro Agreda (n=17), Fátima Carrizallaco (n=20), Alto Resguardo (n=7) y Tamabioy (n=29). El criterio de exclusión fue la vacunación previa contra leptospirosis. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena cefálica (4 ml), se centrifugaron y los sueros resultantes se almacenaron a -20 °C hasta el momento de su análisis.

El procesamiento de las muestras se efectuó en el laboratorio de diagnóstico de leptospirosis de la Universidad del Valle, Cali. El mantenimiento de las cepas y el manejo

de la técnica de microaglutinación (MAT) se realizó bajo los parámetros convencionales (Astudillo *et al.*, 2009), utilizando un cepario de referencia suministrado por el laboratorio internacional de referencia para el diagnóstico de la leptospirosis del Royal Tropical Institute (Amsterdam, Holanda). Los serogrupos evaluados fueron: Bataviae, Mini, Autumnalis, Canicola, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Cynopteri, Australis, Celledoni, Grippytyphosa, Javanica, Manhao, Pomona, Pyrogenes, Sejroe, Tarassovi, Ballum, Louisiana, Djasiman, Semarang, Hursbridge, Ranarum, Panama y Sarmin. Se consideraron como positivos los sueros con títulos  $\geq 1:100$  (Romero *et al.*, 2009).

### Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de regresión logística multivariada que asumió como variable de respuesta binomial los resultados de la prueba MAT, donde 0 correspondió a los caninos con resultados negativos y 1 a los animales seropositivos. Se realizó la prueba de bondad de ajuste del modelo obtenido por medio del estadístico de Hosmer y Lemeshow. Los efectos de las variables predictoras sobre el resultado positivo o negativo de la prueba se expresaron por medio de las razones de disparidad (OR) y sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Los valores de  $p < 0.05$  fueron considerados como significativos. El análisis se efectuó utilizando el programa Stata v. 13.0 (College Station, Texas, EEUU).

## RESULTADOS

La seroprevalencia de la infección por *Leptospira* sp en caninos fue de 79.9% (123/154). Los sueros reaccionaron con la totalidad de los serogrupos incluidos en MAT y los más frecuentes fueron Grippytyphosa (10.2%), Hursbridge (8.4%), Sarmin y Australis (7.2%), Canicola (6.8%) y Tarassovi (6.4%) (Cuadro 1). El rango de los títulos de anticuerpos obtenido por la prueba MAT fue

Cuadro 1. Distribución de los sueros de caninos positivos a leptospirosis con la prueba de microaglutinación (MAT) de acuerdo con los serogrupos reaccionantes y el título (UI) alcanzado (Kamentsá, Valle de Sibundoy, Putumayo)

Serovar	Caninos seropositivos							Total	
	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	>1/1600	n	%
Australis	19	11	4	2				36	7.2
Automnalis	11	3	1					15	3.0
Ballum	19	8	3	1				31	6.2
Bataviae	3	3	1		1	1		9	1.8
Canicola	17	10	4	2	1			34	6.8
Celledoni	2	1						3	0.6
Cynopteri	5	4	1					10	2.0
Djasiman	10	3	3	1				17	3.4
Grippotyphosa	32	13	5	1				51	10.2
Hursbridge	21	11	6	4				42	8.4
Icterohaemorrhagie	6	2	4	1		1		14	2.8
Javanica	8	5	4				1	18	3.6
Louisiana	6	1	3					10	2.0
Manhao	3	4	1	3		1		12	2.4
Mini	11	7	5	3	1			27	5.4
Panama	17	8	1	1		2		29	5.8
Pomona	4	4	2					10	2.0
Pyrogenes	10	5	3	2				20	4.0
Ranarum	6	4						10	2.0
Sarmin	16	6	4	7	1	1	1	36	7.2
Sejroe	5	5	5					15	3.0
Semaranga	9	1						10	2.0
Shermani	6	1					1	8	1.6
Tarassovi	22	7	2		1			32	6.4
Total (n)	268	127	62	28	5	6	3	499	
(%)	53.7	25.5	12.4	5.6	1.0	1.2	0.6		100

de 1:100 hasta 1:1600. Se observaron coaglutinaciones en el 36.5% de los sueros positivos. Los títulos más altos de MAT se obtuvieron contra los serogrupos Javanica, Sharmani y Sarmin.

Se presentaron casos positivos a la infección en todas las veredas de la comunidad Kamentsá en un rango entre 44.4 y 100%. La comunidad se dedicaba a la producción de aves y cuyes (79.2%) y de bovinos y

porcinos (7.1%). El 63% (97/154) era propietario de más de un canino. De otra parte, el 40.9% (n=63) de las viviendas estaba habitada por 1 a 5 personas, el 52.6% (n=81) entre 6 y 10 y el 6.5% entre 11 y 20. El 84.1% (n=145) de los caninos era alimentado con sobras de alimentos, el 28.9% tenía un plan sanitario de vermifugación (n=24) y el 28.6% (n=23) fue vacunado contra la rabia. Otras variables que se consideraron como potenciales factores de riesgo para la transmisión

Cuadro 2. Factores potencialmente asociados con la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* sp en 154 caninos de la comunidad indígena Kamentsá (Valle de Sibundoy, Putumayo)

Variable	Positivo			Negativo		p
	N.º	n	%	n	%	
Edad del can (años)						0.02
< 1	28	17	13.82	11	35.5	
1-4	93	76	61.8	17	54.8	
5-8	24	22	17.9	2	6.5	
>9	9	8	6.5	1	3.2	
Sexo del can						ns
Machos	99	76	61.8	23	74.2	
Hembras	55	47	38.2	8	25.8	
Manejo aguas servidas						0.03
Sí	90	67	54.5	23	74.2	
No	64	56	45.5	8	25.8	
Densidad >1 can						0.04
Sí	122	94	76.4	28	90.3	
No	32	29	23.6	3	9.7	
Bovinos y porcinos						ns
Sí	11	9	7.3	2	6.5	
No	143	114	92.7	29	93.5	
Recolección de residuos sólidos						ns
Sí	49	37	30.08	12	38.7	
No	105	86	69.9	19	61.3	
Permanencia en la vivienda						ns
Sí	140	112	91.0	28	90.3	
No	14	11	8.9	3	9.7	
Roedores						ns
Sí	90	71	57.7	19	61.3	
No	64	52	42.3	12	38.7	

N.º: número total de caninos; ns: no significativo

de la leptospirosis canina se presentan en el Cuadro 2.

De acuerdo con el análisis de regresión logística multivariada, los caninos con edades comprendidas entre los 5 y 8 años tuvieron 7.7 veces más riesgo de ser seroreactivos

a MAT al compararse con los caninos menores de un año ( $OR > 1$ ;  $p < 0.05$ ). Tener una baja densidad de caninos en la vivienda y contar con tratamiento de aguas servidas se consideraron como factores protectores ( $OR < 1$ ) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Factores asociados con las tasas de incidencia de leptospirosis canina en la comunidad indígena Kamentsá (Valle de Sibundoy, Putumayo) por medio de un modelo de regresión logística multivariada

Variable/categoría	OR	EE	IC 95%	P
Edad (años)				
<1	Referencia			
1-4	2.5	0.07	0.9-3.3	0.04
5-8	7.7	0.05	1.3-7.9	0.01
>9	5.3	0.05	3.3-6.7	ns
Densidad (>1 can en la vivienda)				
Sí	Referencia			
No	0.26	0.05	0.61-0.8	0.04
Tratamiento de aguas servidas				
Sí	Referencia			
No	0.4	0.08	0.15-0.9	0.03

OR: razón de disparidad; ns: no significativo; EE: error estándar; IC: intervalo de confianza

## DISCUSIÓN

La seroprevalencia de 79.9% hallada en el presente estudio es la más alta reportada en población canina urbana y rural, así como en animales callejeros y localizados en barrios marginales de Colombia (Cuadro 4). Por otro lado, el registro de casos de leptospirosis humana en el departamento de Putumayo fue bajo, reporte que correspondió a 4, 1, 5 y 3 casos en 2012, 2013, 2014 y 2015, respectivamente (SIVIGILA, 2014). Estos hallazgos son desconcertantes y sugieren que existe un subregistro de la enfermedad, tanto en humanos como en caninos y otras especies animales, lo cual puede conllevar a un problema de salud pública grave. Se tiene que considerar que la mayor proporción de los propietarios de los animales encuestados moraban en viviendas compartidas entre 6 y 20 personas, aspecto que aumenta el riesgo de transmisión de la enfermedad (Lelu *et al.*, 2015), junto con otros factores, tales como deficiencias en el saneamiento básico por la falta de

tratamiento de las aguas servidas y de los residuos sólidos, así como una baja cobertura de inmunización canina.

De otra parte, los caninos evaluados no habían sido vacunados contra leptospirosis, por lo que la reactividad de los sueros a un *pool* de 24 serogrupos no se puede interpretar como una aglutinación cruzada entre estos, sino al posible contacto con varias especies de animales domésticos y silvestres que actúan como reservorios de leptospiras (Lelu *et al.*, 2015), ya que la transmisión directa de la infección entre caninos es infrecuente (Ward, 2002). Así mismo, las leptospiras no exhiben la misma virulencia y su asociación con los casos clínicos de la enfermedad es compleja, aspecto que dificulta la interpretación de los resultados (André-Fontaine, 2006). Por ejemplo, los serogrupos Grippotyphosa y Australis fueron aglutinados con frecuencia; no obstante, esta última ha sido responsable de más casos de leptospirosis subaguda y crónica que la primera (André-Fontaine, 2006).

Cuadro 4. Estudios de prevalencia de leptospirosis canina en Colombia (2004-2013)

Departamento	Prueba	Prevalencia (%)	Serogrupos	N.º	Área	Autor
Valle del Cauca	MAT	1.1	<i>Icterohaemorrhagiae</i> <i>Hardjo</i> <i>Gryppotyphosa</i> <i>Canicola</i>	197	Urbana Callejeros	(Rodríguez <i>et al.</i> , 2004)
Boyacá	MAT	29.0	<i>Canicola</i> <i>Gryppotyphosa</i>	51	Urbana Callejeros	(Astudillo <i>et al.</i> , 2009)
Valle del Cauca	MAT	31.0	<i>Icterohaemorrhagiae</i> <i>Autumnalis</i> <i>Australis</i>	100	Urbana	(Romero <i>et al.</i> , 2009)
Tolima	MAT	20.2	<i>Gryppotyphosa</i> <i>Pomona</i>	900	Urbana	(Romero y Sánchez, 2009)
Tolima	MAT	21.4	<i>Pomona</i> <i>Gryppotyphosa</i>	850	Urbana	(Romero <i>et al.</i> , 2010)
Córdoba	MAT	12.0	<i>Canicola</i> <i>Icterohaemorrhagiae</i> <i>Gryppotyphosa</i>	200	Rural	(Sánchez <i>et al.</i> , 2010)
Boyacá	MAT	67.2	<i>Canicola</i> <i>Icterohaemorrhagiae</i> <i>Hardjo</i> <i>Sejroe</i> <i>Pomona</i>	61	Urbana Barrios marginales	(Bermúdez <i>et al.</i> , 2010)
Cundinamarca	Dot-ELISA MAT	33.3	<i>Canicola</i> <i>Icterohaemorrhagiae</i> <i>Gryppotyphosa</i>	30	Urbana	(Medrano <i>et al.</i> , 2011)
Córdoba	MAT	47.1	<i>Gryppotyphosa</i> <i>Icterohaemorrhagiae</i> <i>Pomona</i>	70	Rural	(Álvarez <i>et al.</i> , 2011)
Atlántico	PCR MAT	22.9	<i>Fainei</i> <i>Tarassovi</i> <i>Louisiana</i>	83	Urbano	(Romero-Vivas <i>et al.</i> , 2013)

Los estudios serológicos de la leptospirosis canina en Colombia (Cuadro 4) han detectado serovares y serogrupos emergentes en la epidemiología de la enfermedad en los últimos años, diferentes a *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae*, aspecto que se obser-

vó en esta investigación. Estos resultados concuerdan con los hallados en otras regiones geográficas como Brasil, Nigeria, Estados Unidos, Canadá y Europa (Okewole y Ayoola, 2009; Oliveira-Lavinsky *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2014; Klaasen y Adler, 2015). Estos

cambios pueden estar influenciados por nuevos parámetros de transmisión de la infección que incluyen el contacto con transmisores potenciales silvestres y domésticos (Lee *et al.*, 2014), las condiciones sociodemográficas deficientes, la contaminación del ambiente peri-doméstico, la habilidad de los caninos de vagar libremente en un espacio limitado y la densidad de esta especie en las viviendas (Lelu *et al.*, 2015). En esta investigación, no tener más de un perro en la vivienda fue un factor protector que disminuyó la probabilidad de seroreactividad a las leptospiras.

En este estudio, el serogrupo *Gryppotyphosa* fue el más frecuente en los sueros analizados, coincidente con resultados hallados en los departamentos del Valle del Cauca, Boyacá, Tolima, Córdoba y Cundinamarca (Cuadro 4). Se requiere realizar estudios complementarios para tipificar las leptospiras aisladas de tejidos caninos, así como evaluar la eficacia de la vacuna bivalente utilizada para el control de la enfermedad; la cual incluye los serovares *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae*. Es importante indicar que en Europa y Estados Unidos se emplean vacunas trivalentes y tetravalentes que incluyen cepas de los serovares *Gryppotyphosa* y *Australis* y/o *Bratislava*, vinculadas con las formas latentes de la enfermedad (Klaasen y Adler, 2015). No obstante, existen limitaciones para seleccionar las mejores vacunas por la dificultad de identificar los serovares locales más importantes, la ineficacia detectada en los biológicos que incluyen un amplio rango de estos y la inmunidad parcial que confieren (Adler y de la Peña Moctezuma, 2010).

En el Valle de Sibundoy, los caninos evaluados presentaron una mayor probabilidad de ser seropositivos a la leptospirosis a medida que aumentó su edad. Similares hallazgos se han descrito en animales atendidos en hospitales veterinarios de Estados Unidos en las últimas tres décadas (Lee *et al.*, 2009), pero divergentes a los hallados en Bahía (Brasil)

en población urbana (Oliveira-Lavinsky, 2012). El menor riesgo de contraer la infección de los caninos con edades inferiores a un año puede estar relacionado con una baja o controlada actividad al aire libre, en comparación con otros grupos de mayor edad, o por la inmunidad pasiva conferida a los cachorros vía materna (Lee *et al.*, 2004). No obstante, otros autores han encontrado que los cachorros presentan mayor susceptibilidad a la enfermedad y una menor cobertura de vacunación (Ward y Kelman, 2011).

Un aspecto que llama la atención en el área de estudio es la producción de cuyes (*Cavia porcellus*), especie que se utiliza como el modelo experimental de elección para el estudio de la leptospirosis aguda y para dilucidar la patogénesis de la infección, la cual es similar a la presentada en la leptospirosis humana de curso grave (Zhang *et al.*, 2012). Dada la alta susceptibilidad de los cuyes a las leptospiras y a la posibilidad de transmisión de la enfermedad a los humanos y otras especies animales, es necesario desarrollar investigaciones complementarias para identificar su importancia en la cadena epidemiológica de la enfermedad.

La alta seroprevalencia de leptospirosis canina observada en este estudio es una evidencia de la transmisión activa de la infección, que puede ser un potencial problema de salud pública en el Valle de Sibundoy. La edad, la falta de tratamiento de las aguas servidas y la densidad de los caninos en la vivienda se relacionaron con la seroreactividad a las leptospiras. Los caninos en entornos suburbanos o rurales tienen un mayor riesgo de adquirir la leptospirosis, debido a la mayor probabilidad de contacto con los hábitats de la vida silvestre. Las autoridades de salud pública deben ser conscientes de los cambios en la dinámica de la transmisión, los serovares circulantes endémicos y de la necesidad del fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica de la enfermedad en Colombia, así como el desarrollo de estudios en otras especies animales y en la población humana a riesgo.



## LITERATURA CITADA

1. **Adler B, de la Peña Moctezuma A. 2010.** Leptospira and leptospirosis. *Vet Microbiol* 40: 287-296. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.03.012
2. **Álvarez L, Calderón A, Rodríguez V, Arrieta G. 2011.** Seroprevalencia de leptospirosis canina en una comunidad rural del municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba (Colombia). *Rev Udcaactual Divulg Cient* 2: 75-81.
3. **André-Fontaine G. 2006.** Canine leptospirosis - Do we have a problem? *Vet Microbiol* 117: 19-24. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.04.005
4. **Astudillo-Hernández M, González-Rodríguez A, Batista-Santiesteban N, Mirabal-Sosa M, Menéndez-Hernández J. 2009.** Estudio seroepidemiológico de la leptospirosis humana en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Rev Cubana Med Trop* 61(2): 1-10.
5. **Bermúdez S, Pulido M, Andrade R. 2010.** Seroprevalencia de *Leptospira* spp en caninos y humanos de tres barrios de Tunja, Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 3: 2185-2193.
6. **Klaasen HLB, Adler B. 2015.** Recent advances in canine leptospirosis: focus on vaccine development. *Vet Med Res Rep* 6: 245-260. doi: 10.2147/VMRR.S59521
7. **Lee LHS, Guptill L, Johnson AJ, Moore GE. 2014.** Signalment changes in canine leptospirosis between 1970 and 2009. *J Vet Intern Med* 28: 294-299. doi: 10.1111/jvim.12273
8. **Lelu M, Muñoz-Zanzi C, Higgins B, Galloway R. 2015.** Seroepidemiology of leptospirosis in dogs from rural and slum communities of Los Rios Region, Chile. *BMC Vet Res* 11: 31-38. doi: 10.1186/s12917-015-0341-9
9. **Levett P. 2004.** Leptospirosis: a forgotten zoonosis? *Clin Appl Immunol Rev* 4: 435-448. doi: 10.1016/j.cair.-2004.08.001
10. **Medrano C, Díaz CA, Dalmau EA. 2011.** Diagnóstico de leptospirosis canina por medio de las técnicas Dot-ELISA y MAT en perros con enfermedad renal en Bogotá. *Rev Med Vet* 21: 133-145. doi: 10.19052/mv.568
11. **Okewole EA, Ayoola MO. 2009.** Seroprevalence of leptospiral serovars other than Canicola and Icterohaemorrhagiae in dogs in the Southwestern Nigeria. *Vet Arhiv* 79: 87-96.
12. **Oliveira-Lavinsky M, Said RA, Strenzel GM, Langoni H. 2012.** Seroprevalence of anti-*Leptospira* spp antibodies in dogs in Bahia, Brazil. *Prev Vet Med* 106: 79-84. doi: 10.1016/j.prevetmed.2012.03.015
13. **Ortiz J, Miranda J, Ortiz L, Navarro Y, Mattar S. 2015.** Seroprevalencia de *Rickettsia* sp en indígenas Wayuü de la Guajira y Kankuamos del Cesar, Colombia. *Infectio* 19: 18-23. doi: 10.1016/j.infect.2014.11.003
14. **Rodríguez AL, Ferro BE, Varona MVI, Santafé M. 2004.** Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali. *Biomédica* 24: 291-295. doi: 10.7705/biomedica.v24i3.1275
15. **Romero MH, Astudillo M, Quintero ME. 2009.** Seroprevalencia y serotipificación de leptospirosis canina en el municipio de Buenaventura (Valle del Cauca). *Biosalud* 8: 71-76.
16. **Romero MH, Astudillo M, Sánchez J, González L, Varela N. 2012.** Títulos de anticuerpos contra *Leptospira* sp en primates del zoológico Matecaña, Pereira, Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 17: 3224-3230.
17. **Romero MH, Sánchez J. 2009.** Seroprevalencia de la leptospirosis canina de tres municipios del departamento del Tolima-Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 2: 1684-1689.
18. **Romero MH, Sánchez JA, Hayek LC. 2010.** Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en población urbana humana y canina del Departamento del

- Tolima. Rev Salud Pública 12: 268-275. doi: 10.1590/S0124-00642010000200010
19. **Romero-Vivas CME, Cuello-Pérez M, Agudelo-Flórez P, Thiry D, Levett PN, Falconar AK. 2013.** Cross-sectional study of *Leptospira* seroprevalence in humans, rats, mice, and dogs in a main tropical sea-port city. Am J Trop Med Hyg 88: 178-183. doi: 10.4269/ajtmh.2012.12-0232
  20. **Sánchez AE, Ballut JC, Calderón A, Rodríguez VC. 2010.** Leptospirosis: enfermedad endémica en caninos de áreas rurales de Montería (Córdoba). Orinoquia 14: 160-167.
  21. **[SIVIGILA] Subdirección de prevención Vigilancia y control en Salud Pública. 2014.** Protocolo de Vigilancia en salud Pública. SIVIGILA. 63 p. [Internet]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/SIVIGILA.aspx>
  22. **Ward MP, Kelman M. 2011.** Companion animal disease surveillance: a new solution to an old problem? Spat Spatiotemporal Epidemiol 2: 147-157. doi: 10.1016/j.sste.2011.07.009
  23. **Ward MP. 2002.** Clustering of reported cases of leptospirosis among dogs in the United States and Canada. Prev Vet Med 56: 215-226. doi: 10.1016/S0167-5877(02)00160-5
  24. **Yusti D, Arboleda M, Agudelo-Flórez P. 2013.** Factores de riesgo sociales y ambientales relacionados con casos de leptospirosis de manejo ambulatorio y hospitalario, Turbo, Colombia. Biomédica 33: 117-129. doi: 10.7705/biomedica.v33i0.1457
  25. **Zhang Y, Lou XL, Yang HL, Guo XK, Zhang XY, He P, Jiang XCH. 2012.** Establishment of a leptospirosis model in guinea pigs using an epicutaneous inoculations route. BMC Infectio Dis 12: 20-30. doi: 10.1186/1471-2334-12-20