

Anticuerpos contra *Leptospira* sp. en primates neotropicales y trabajadores de un zoológico colombiano

Leptospiral antibodies in a Colombian zoo's Neotropical primates and workers

Marlyn H. Romero¹, Miryam Astudillo², Jorge A. Sánchez¹,
Lina M. González³ y Néstor Varela⁴

1 Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. marlyn.romero@ucaldas.edu.co, jorge.sanchez@ucaldas.edu.co

2 Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia. myrastud@correounivalle.edu.co

3 Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. linagonzalez14@hotmail.com

4 Zoológico Matecaña. Pereira, Colombia. nestorvarelaa@gmail.com

Recibido 20 Enero 2011/Enviado para Modificaciones 3 Octubre 2011/Aceptado 20 Octubre 2011

RESUMEN

Objetivo Detectar anticuerpos contra *Leptospira* sp. en primates neotropicales y funcionarios de un zoológico colombiano e identificar factores de riesgo de la enfermedad.

Métodos Se realizó un estudio transversal analítico en 65 primates y 20 funcionarios del Zoológico. Las muestras fueron procesadas mediante la técnica de Microaglutinación macroscópica (MAT) usando un cepario de referencia conformado por 21 serovares de *Leptospira* sp. Se aplicó un instrumento estructurado al personal evaluado para identificar factores de riesgo.

Resultados La seroprevalencia de la infección por *Leptospira* sp. fue del 25 % (5/20) en el personal y 23,07 % (15/65) en los monos neotropicales. Los serovares más frecuentes entre los funcionarios fueron bataviae, gryppotyphosa y hurstbridge. En los monos neotropicales predominaron los serovares icterohaemorrhagiae, pomona y ranarum. Las especies mono araña negro (*Ateles fusciceps*), mono cariblanco (*Cebus albifrons*) y tití gris (*Saguinus leucopus*), presentaron mayor reactividad. La mayor proporción del personal usaba dotación de protección.

Conclusiones Se evidenció el contacto de los primates neotropicales y del personal con diferentes serovares de *Leptospira*. El uso de la dotación de protección y el tiempo de experiencia de los funcionarios del zoológico se consideraron como factores protectores de la enfermedad. Se sugiere que existe un riesgo de transmisión de leptospirosis, en los animales del zoológico y el personal, siendo por lo tanto importante fortalecer la vigilancia epidemiológica activa e implementar programas de promoción y prevención.

Palabras Clave: Animales de zoológico, zoológico, *Leptospira*, enfermedades profesionales, primates (fuente: DeCS, BIREME)

ABSTRACT

Objective Detecting antibodies against *Leptospira* spp. in Neotropical primates and workers in a Colombian Zoo and identifying the risk factors associated with the disease.

Methods A cross-sectional study was performed regarding 65 Neotropical primates and 20 zookeepers. The samples were processed by microagglutination test (MAT) using a reference strain collection consisting of 21 *Leptospira* serovars. The people being evaluated were given a structured survey to identify risk factors.

Results There was 25 % (5/20) *Leptospira* spp. infection seroprevalence in the staff and 23.07 % (15/65) in Neotropical monkeys. The most frequently occurring serovars in workers were bataviae, gryppotyphosa and ranarum; icterohaemorrhagiae, pomona and ranarum were the predominant serovars in non-human primates. The black spider monkey (*Ateles fusciceps*), white-fronted capuchin (*Cebus albifrons*) and white-footed tamarin (*Saguinus leucopus*) showed the highest reactivity. Most of the personnel were using protective clothing.

Conclusions The contact between primates and zookeepers involving different *Leptospira* sp. serovars was evident. Zoo personnel using protective clothing and their length of experience were considered to be protective factors for the disease. There may be a risk of *Leptospira* transmission between zoo animals and staff, and it is therefore important to strengthen active surveillance and implement promotion and prevention programs.

Key Words: Zoo animals, zoo, leptospira, professional diseases, primates (source: MeSH, NLM).

Se ha descrito la importancia de los animales silvestres como componentes vitales en el ciclo epidemiológico de enfermedades que afectan a los seres humanos y a los animales domésticos (1,2). Algunos estudios han estimado que el 60 % de los patógenos emergentes que afectan al hombre son zoonóticos y que de éstos, más del 70 % tienen origen en la fauna silvestre (1). La leptospirosis ha sido considerada como una zoonosis que puede afectar cerca de 131 familias de animales silvestres que son comercializados en Estados Unidos (2). Las especies silvestres son susceptibles a la infección con una amplia variedad de serovares de *Leptospira*, participando como hospedadores accidentales, portadores u hospedadores de mantenimiento, dependiendo de determinantes que tienen que ver con el agente, los hospederos y factores ambientales (3).

Los primates antropoides (que incluye los humanos, Primates del viejo y del Nuevo mundo) y en un menor grado los prosimios, comparten características fisiológicas y genéticas que les hacen susceptibles a virus, bacterias, hongos, protozoos, helmintos, y ectoparásitos que tienen el potencial de cruzar las fronteras de especie en doble vía, aumentando el riesgo ocupacional en la transmisión de infecciones (2,4). Existe una amplia gama

de enfermedades que los primates no humanos y las personas comparten, entre las cuales se ha descrito la leptospirosis (4). Varios estudios efectuados en zoológicos han demostrado la presencia de la enfermedad en primates y otros animales silvestres (3,5). La leptospirosis es considerada tradicionalmente como una enfermedad ocupacional. Algunos grupos profesionales tienen más riesgo de contraer la infección debido al frecuente contacto con animales portadores, sus secreciones y ambiente de trabajo. Las personas que manejan animales silvestres tienen el mismo riesgo, porque muchas especies participan como hospedadores de mantenimiento de las leptospirosis durante toda su vida. En consecuencia, se convierten en fuentes de infección para humanos y animales domésticos, siendo a su vez causa de emergencia y reemergencia de esta enfermedad. La información sobre la epidemiología de la leptospirosis en poblaciones de primates y en personal ocupacionalmente expuesto, en zoológicos colombianos es escasa, siendo importante su estudio para fortalecer los programas de prevención y control de la enfermedad. En el presente trabajo se estableció la seroprevalencia de *Leptospira* sp. en una colonia de primates y de funcionarios del zoológico evaluado, y se identificaron algunos determinantes de la enfermedad en la población animal y humana.

MÉTODOS

Localización

El zoológico de Matecaña se encuentra localizado en la ciudad de Pereira, Departamento de Risaralda, Colombia. El municipio se encuentra localizado a 4°49 minutos de latitud norte y 75°45 minutos de latitud oeste de Greenwich, con una temperatura promedio de 21°C.

Población de Primates neotropicales

Se evaluaron 65 primates neotropicales que hacen parte de la colección de animales silvestres del zoológico, pertenecientes a nueve especies taxonómicas: *Ateles fusciceps*, *Cebus albifrons*, *Cebus apella*, *Cebus capucinus*, *Saimiri sciureus*, *Ateles hybridus*, *Lagothrix lagotricha*, *Saguinus oedipus* y *Saguinus leucopus*.

Población ocupacionalmente expuesta

En el estudio participaron veinte trabajadores del zoológico (n=20), que efectuaban labores que implicaban contacto directo o indirecto con las especies.

Evaluación de factores de riesgo

Se elaboró un instrumento estructurado para evaluar los factores de riesgo que podrían estar relacionados con la presentación de la leptospirosis.

Normas de ética

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Caldas y contó con el consentimiento informado para la toma de las muestras.

Muestras sanguíneas de los primates

La toma de las muestras se realizó en los meses de junio y julio de 2009, y enero de 2010. Los primates fueron sometidos a un procedimiento de contención química, para lo cual se utilizó como protocolo anestésico una mezcla de Ketamina (10 mg/kg) y Xilacina (1mg/kg) vía intramuscular. Se monitorearon cada 10 minutos el pulso, la frecuencia respiratoria y cardíaca, la relajación muscular, analgesia, reflejos (palpebral, corneal, interdigital y genital). La vena de elección para la colecta, cantidad de sangre y el tamaño de la aguja, se seleccionó de acuerdo con la edad y la condición corporal de cada animal. Las muestras se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto (rpm) durante cinco minutos y el suero obtenido se almacenó a -20 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio.

Muestras del personal

Se tomaron 5 ml de sangre venosa periférica recolectada de la vena cefálica usando una jeringa y aguja calibre 21G. El almacenamiento de la muestra se realizó con los mismos parámetros descritos para los primates.

Técnica de Microaglutinación MAT

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 se realizaron bajo los parámetros convencionales (6), 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 21 serovares de *Leptospira* evaluados fueron: bataviae, mini, autumnalis, canicola, shermani, icterohaemorrhagiae, cynopteri, australis, celledoni, gryppotyphosa, hebdomanis, javanica, manhao, pomona, pyrogenes, sejroe, tarassovi, bataviae, patoc, hurstbridge y djasiman. Se consideraron como positivos los sueros con títulos $\geq 1:100$, tanto para la población humana como para la animal. Entre los sueros positivos que presentaron al mismo tiempo reacciones frente a diferentes serovares, se consideró como causante de la reacción el de

mayor título, y como coaglutinaciones a los que presentaron títulos iguales frente a diferentes serovares (7).

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico Epidemiology Program Office Epi Info™ versión 6. La comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba de *ji cuadrado*, con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La seroprevalencia de la infección por leptospirosis fue del 25 % (5/20) y 23,07 % (15/65), para el personal y los primates respectivamente. Los sueros humanos fueron reactivos a los serovares bataviae, gryppotyphosa y hurstbridge, en las diluciones 1:100. Las coaglutinaciones ($n=2$) se observaron para los serovares australis/ icterohaemorrhagiae y bataviae/hebdomanis, en diluciones 1:200. Los serovares reaccionantes más frecuentes en los sueros de los primates fueron icterohaemorrhagiae, pomona y ranarum; las coaglutinaciones se presentaron en el 15 % de las reacciones positivas (3/15) (Tabla 1). Los monos araña negros (*Ateles fusciceps*), monos cariblanco (*Cebus albifrons*) y titís grises (*Saguinus leucopus*), fueron los que presentaron mayor reactividad (Tabla 3). El 70 % del personal del zoológico presentó edades comprendidas entre los 35 y 54 años; la mayor proporción de éstos usaba dotación de protección como guantes, tapabocas y botas, y tenían experiencia superior a cuatro años en las labores a su cargo. Al evaluar los factores de riesgo relacionados con la presentación de leptospirosis, no se encontró diferencias significativas al comparar los sueros seropositivos y no reactivos ($p \geq 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 1. Distribución de los sueros de primates positivos a leptospirosis con la prueba de microaglutinación (MAT) detallando los serovares reaccionantes y título alcanzado

	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	>1/1600	Total	%
Au	2						2	13,3
Ic		2		1		1	4	26,7
Po	1		1	1	1		4	26,7
Ra	2						2	13,3
Coaglutinaciones								
Ca-Ic			1				1	6,7
Au-Ra	1						1	6,7
Po-Ra	1						1	6,7
Total	7	2	2	2	1	1	15	
%	46,7	13,3	13,3	13,3	6,7	6,7		100

autumnalis^{Au}, icterohaemorrhagiae^{Ic}, pomona^{Po}, ranarum^{Ra}, canicola^{Ca}

Tabla 2. Factores potencialmente asociados con la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira sp.* en el personal del Zoológico

Variable	Personas n	Positivos N	%	Negativos n	%
Contacto con					
Roedores	19	5	26,3	14	73,7
Caninos	9	1	11,1	8	88,9
Bovinos	3	1	33,3	2	66,7
Equinos	10	4	40	6	60
Felinos	2	0	0	2	100
Otros	3	0	0	3	100
Edad (años)					
15-24	3	0	0	3	100
25-34	1	0	0	1	100
35-44	6	1	16,7	5	83,3
45-54	8	4	50	4	50
55-64	2	0	0	2	100
Contacto rutinario con aguas					
Si	11	4	36,4	7	63,6
No	9	1	11,1	8	88,9
Contacto con excreciones					
Si	17	4	23,5	13	76,5
No	3	1	33,3	2	66,7
Tiempo de labor zoológico					
< 1 año	3	0	0	3	100
1-9 años	4	1	25	3	75
10-19 años	9	2	22,2	7	77,8
> 20 años	4	2	50	2	50
Elementos de bioseguridad					
Si					
Tapabocas	19	4	21	15	79
Guantes	17	4	23,5	13	76,5
Botas	19	4	21	15	79
Overol	14	3	21,4	11	78,6
No	2	1	50,0	1	50,0

Tabla 3. Descripción de los géneros y especies de los primates evaluados y el número de animales seroreactivos, 2010

Nombre científico	Nombre vulgar	Muestreados	Reactivos	% Reactivos
<i>Ateles fusciceps</i>	Mono araña negro	19	5	33,3
<i>Cebus apella</i>	Mono cornudo	14	1	6,7
<i>Cebus capucinus</i>	Mono capuchino	3	1	6,7
<i>Cebus albifrons</i>	Mono cariblanco	6	5	33,3
<i>Saimiri sciureus</i>	Mono ardilla	4	0	0
<i>Ateles hybridus</i>	Mono araña mulato	6	1	6,7
<i>Lagothrix lagotricha</i>	Mono lanudo	2	0	0
<i>Saguinus oedipus</i>	Tití piel roja	6	0	0
<i>Saguinus leucopus</i>	Tití gris	5	2	13,3
Total		65	15	100

DISCUSIÓN

Se ha descrito que la infección natural por *Leptospira* sp. de los primates no humanos es un evento poco usual; sin embargo, son susceptibles a las infecciones experimentales con diferentes serovares de *Leptospira*, las cuales producen resultados variables en cuanto a la patogenicidad y signos clínicos (8,9). Escasos reportes de leptospirosis en primates se han realizado en condiciones de cautividad, como es el caso de los zoológicos (3,10). La seroprevalencia encontrada en el presente estudio (23,07 %) fue similar a la reportada en el Zoológico de Rio de Janeiro (20,6 %) (11), superior a la encontrada en 286 muestras de *Cebus apella* (16,1 %) por Souza Júnior (12) en Brasil, e inferior a la detectada en el zoológico de Sao Paulo del 79,6 % (19 /21) (13). La importancia de realizar estudios epidemiológicos sobre la leptospirosis en zoológicos, se debe a que presentan condiciones que facilitan la exposición de los animales con roedores, mapaches, zarigüeyas y otras especies silvestres, así como especies domésticas y sinantrópicas como gatos domésticos y roedores, entre otros (3,10,14). De otra parte, el estrecho contacto entre diversas especies con origen ecológico distinto, puede crear condiciones que permiten la diseminación de diferentes serovares de *Leptospira* (3).

Los títulos serológicos encontrados en los primates del zoológico evaluados oscilaron entre 1:100 y 1:1600 (Tabla 3). Predominaron los títulos bajos de 1:100 (46,7 %), lo que sugiere una baja intensidad de la infección, pero hace evidente la circulación del agente y el contacto previo de los animales con leptospiras. Los títulos ≥ 1600 (13,4 % de los sueros reaccionantes), pueden indicar una infección activa, sin presentar manifestaciones clínicas de la infección, siendo viable también la eliminación del agente por la orina, aspecto que indica la importancia de hacer estudios complementarios (como el aislamiento, cultivo, tipificación y uso de técnicas moleculares) para confirmar el diagnóstico.

El serovar icterohaemorrhagiae fue el más frecuentemente aglutinado por los sueros de los primates (Tabla 1). Los hospedadores de mantenimiento más importantes de este serovar son los roedores, especialmente los sinantrópicos como la rata parda (*Rattus norvegicus*) (10). Este serovar infecta al hombre y a los animales domésticos en áreas urbanas y rurales de América Latina y Colombia (15-17). Se comprobó por serología y genotipificación el compromiso de *Leptospira* serovar icterohaemorrhagiae en un brote de leptospirosis severa en monos capuchinos confiscados y mantenidos en un centro de rehabilitación de fauna silvestre colombiano, con

una tasa de incidencia del 71 % (37/52) y una letalidad del 44 % (16/37) (9). De igual forma se aisló *Leptospira* serovar icterohaemorrhagiae en 3 casos fatales en primates en cautiverio macaco de Gibraltar (*Macaca sylvanus*) en el Parque Zoológico Nacional de Washington, D.C¹. A pesar de que los hallazgos serológicos del presente estudio sólo indican que los primates evaluados estuvieron expuestos a la infección por *Leptospira*, se sugiere que existe un riesgo de transmisión del agente a las especies susceptibles, incluidos los operarios responsables de su cuidado, porque se ha propuesto que los primates son portadores renales del patógeno.

Estudios realizados sobre factores de riesgo relacionados con la leptospirosis en poblaciones de primates neotropicales, indican que puede existir una asociación positiva entre la infección y los hábitos arborícolas o terrestres de éstos (11). Los primates incluidos en el estudio (Tabla 3) tienen hábitos arborícolas en su medio natural, lo cual minimiza el contacto tanto con suelo o alimento contaminado, como con ratas infectadas (11). Sin embargo, bajo condiciones de cautividad los primates se ven forzados a tener mayor relación con el piso, incrementándose el riesgo de contacto con los roedores o ambientes contaminados con su orina (9). La detección del serovar icterohaemorrhagiae en la población evaluada, permite proponer como medidas preventivas: suministrar el agua en recipientes localizados en estructuras elevadas, proporcionar suficientes plataformas para que los animales descansen, limpiar frecuentemente el piso de las instalaciones, recubrimiento del piso con cemento para evitar acumulaciones de agua, y mantenimiento preventivo de instalaciones, entre otras medidas (9).

El 25 % de los sueros humanos fueron reactivos ante antígenos de *Leptospira*, resultados superiores a los hallados por Silva (14) en el Zoológico de Ribeirão Preto, y por Esteves (5) en el Zoológico Municipal de Uberaba, quienes evaluaron la reactividad de los sueros de 15 y 35 trabajadores respectivamente, ante 22 serovares de *Leptospira*, los cuales en su totalidad fueron negativos. En el presente estudio todo el personal usaba elementos de protección, a excepción de un funcionario, que realizaba labores administrativas (Tabla 2). Esta función se puede considerar como un factor protector para la transmisión de la infección. Es de resaltar que los serovares encontrados en los animales y en el personal fueron diferentes, siendo por lo tanto posible,

¹ Morosini de Andrade T. Títulos de Anticorpos contra *Leptospira* spp e análise bioquímica no soro sangüíneo em macaco Pregó (*Cebus apella nigritus*) [Tesis Doctoral]. Jaboticabal: Universidad Estatal Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias; 2007.

que las cinco personas positivas a la técnica MAT, tuvieron contacto con especies de animales diferentes, o con aguas contaminadas, lo cual se evidenció en la encuesta de factores de riesgo (Tabla 2). Así mismo, los funcionarios evaluados llevaban más de cuatro años realizando su labor, contando con experiencia en el manejo de los animales, y autocuidado para evitar riesgos ocupacionales.

Los primates neotropicales no son frecuentemente incluidos en los estudios serológicos y en programas preventivos de la leptospirosis. Por este motivo los médicos veterinarios asumen que no son susceptibles a la infección por *Leptospira*, ni muchos menos detectan las formas clínicas fatales de la enfermedad, porque por lo general su presentación es inaparente. Esta apreciación puede llevar a que los casos clínicos puedan ser incorrectamente diagnosticados y tratados. Los resultados del presente trabajo y los obtenidos en el brote de leptospirosis en monos capuchinos confiscados en Colombia, permiten sugerir que es necesario monitorear rutinariamente la infección en las poblaciones de primates y en otras especies susceptibles en los zoológicos (11). Así mismo, es conveniente incluir programas de promoción para el control de la enfermedad en el personal responsable de su manejo, porque se ha propuesto que esta especie puede ser reservorio de *Leptospira* sp., incluso se ha demostrado su participación como portadores asintomáticos, lo cual podría ofrecer riesgos en la transmisión de la infección a los seres humanos. Sin embargo, en la cadena epidemiológica de la leptospirosis se desconoce si es posible la transmisión directa entre las personas y primates no humanos, aspecto que hace necesario el desarrollo de estudios más profundos que permitan entender con mayor claridad esta relación (9).

Se puede concluir que ante la existencia de la infección por *Leptospira* en los primates del zoológico, existe un riesgo potencial de diseminación de la bacteria por medio de la orina, a los primates, a otras especies animales y al personal que tiene estrecho contacto con ellos, siendo por lo tanto importante, hacer estudios más detallados que permitan dilucidar el papel real de esta especie en la epidemiología de la enfermedad ♦

Agradecimientos: Los autores quieren expresar su agradecimiento a la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas, al Zoológico Matecaña de Pereira y al Laboratorio de Diagnóstico de Leptospirosis de la Universidad del Valle, por el financiamiento de esta investigación.

REFERENCIAS

1. Cutler SJ, Fooks AR, Van der Poel WHM. Public Health threat of new, reemerging and neglected zoonoses in the industrialized world. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(1):1-7.
2. Pavlin BI, Schloegel LM, Daszak P. Risk of importing zoonotic diseases through wildlife trades, United States. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(11):1721-1726.
3. Lilienbaum W, Monteiro RV, Albuquerque CE, Ristow P, Fraguas S, Cardoso VS, Fedullo LPL. Leptospiral antibodies in wild felines from Rio de Janeiro Zoo, Brazil. *Vet J.* 2004; 168:191-193.
4. Chapman CA, Gillespie TR, Goldberg TL. Primates and the ecology of their infectious diseases: How will anthropogenic change affect host- parasite interactions? *Evolutionary Anthropology.* 2005; 14:134-144.
5. Esteves FM, Guerra-Neto G, Gírio RJ da S, Silva-Vergara ML, Carvalho AC de FB. Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp em animais e funcionarios do zoológico municipal de Uberaba, MG. *Arq. Inst Biol.* 2005; 72(3):283-288.
6. Astudillo M, González A, Batista N, Mirabal M, Menéndez J. Estudio seroepidemiológico de la leptospirosis humana en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Revista Cubana de Medicina Tropical.* 2009; 61(2):1-10.
7. Romero MH, Sánchez JA, Hayek LC. Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en población urbana humana y canina del departamento del Tolima. *Rev. salud pública (Bogotá)* 2010; 12(2):268-275.
8. Pereira MM, da Silva JJP, Pinto MA, da Silva MF, Machado MP, Lenzi HL, et al. Experimental leptospirosis in marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*): A new model for studies of severe pulmonary leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg.* 2005; 72(1):13-20.
9. Szonyi B, Agudelo-Flórez P, Ramírez M, Moreno N, Ko Albert I. An outbreak of severe leptospirosis in capuchin (*Cebus*) monkeys. *Vet J.* 2011; 188(2):237-239.
10. Pimentel JS, Gennari SM, Dubey J, Marvulo MFV, Vasconcellos SA, Morais ZM, et al. Inquérito sorológico para toxoplasmosis e leptospirose em mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. *Pesq Vet Bras.* 2009; 29(12):1009-1014.
11. Lilienbaum W, Vargas R, Moraes IA, Ferreira AMR, Pissinatti, A. Leptospiral antibodies in captive lion tamarins (*Leontopithecus* sp) in Brazil. *Vet J.* 2005; 169:462-464.
12. Souza Júnior MF, Lobato ZIP, Lobato FCF, Moreira EC, de Oliveira RR, Leite GG, et al. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do Estado do Tocantins, 2002. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006; 39(3): 292-294.
13. Correa SHR, Vasconcellos SA, Morais Z, Teixeira AA, Dias RA, Guimarães MADB, et al. Epidemiologia da leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2004; 41:189-193.
14. Silva C, Gírio RJ da S, Guerra-Neto G, Brich M, Santana LA, Amâncio FH, Mariani JR, et al. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. Em animais selvagens do zoológico municipal de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo State, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2010; 47(3):237-242.
15. Romero MH, Astudillo M, Quintero ME. Seroprevalencia y serotipificación de leptospirosis canina en el municipio de Buenaventura (Valle del Cauca). *Biosalud.* 2007; 8:71-76.
16. Céspedes M, Chun M, Cano E, Huaranca I, Atoche H, Ortiz H et al. Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en personas asintomáticas y en perros de chancay, Lima 2001. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2007; 24(4):343-349.
17. Agudelo-Flórez P, Restrepo-Jaramillo BN, Arboleda-Naranjo M. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. *Cad. Saúde Pública.* 2007; 23(9):2094-2102.