

Seroprevalencia de *Leptospira spp.* en Grupos de Población de Villavicencio, Colombia

Seroprevalence of *Leptospira spp* in population groups of Villavicencio, Colombia

Agustín Góngora¹, Jorge L. Parra², Luz H. Aponte³ y Luz A. Gómez¹

1 Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. agongora@unillanos.edu.co, luzago@unillanos.edu.co

2 Corpoica-La Libertad. Villavicencio, Meta. jparra@corpoica.org.co

3 Programa de Enfermería. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. lhaponte@unillanos.edu.co

Recibido 26 Julio 2007 Enviado para Modificación 18 Marzo 2008/Aceptado 10 Abril 2008

RESUMEN

Objetivo Determinar la seroprevalencia de anticuerpos a *Leptospira spp.* en población humana aparentemente sana y en grupos a riesgo y los factores asociados en el Municipio de Villavicencio, Meta, Colombia.

Materiales y Métodos Se utilizó un modelo epidemiológico transversal con selección de sujetos por conveniencia. Se obtuvieron muestras de sangre por punción cubital de (n: 503) personas, 230 estudiantes de primer semestre de diversos programas de la Universidad de los Llanos y 273 que correspondían a 8 grupos de riesgo. Se obtuvo información de factores de riesgo mediante entrevista. Se determinaron anticuerpos IgM mediante un Kit comercial de ELISA indirecto (Pambio).

Resultados La seroprevalencia en el grupo de bajo riesgo fue 5,2 %. La seroprevalencia para los grupos de riesgo fue 19 %, por grupos trabajadores de matadero 7 %, veterinarios y auxiliares de clínica de pequeños animales 17 %, estudiantes de último año de Medicina Veterinaria y Zootecnia 17 %, ordeñadores de granjas de ganado doble propósito 21 %, trabajadores de arrozales 23 %, trabajadores de granjas porcícolas 35 %, trabajadores de piscícolas 48 %. Se encontraron tres factores asociados: estrato rural, tenencia de mascota canina y contacto con roedores en el trabajo.

Conclusiones Se encontró una alta seroprevalencia para *Leptospira spp* en grupos de riesgo, siendo los más afectados los trabajadores piscícolas y de granjas porcícolas. El riesgo relativo de 1,86 entre los dos grupos señalan mayor riesgo de contagio en la población con exposición ocupacional.

Palabras Clave: *Leptospira*, prueba Elisa, estudios seroepidemiológicos, factores de riesgo (fuente: DeCS, BIREME).

ABSTRACT

Objective Determining *Leptospira spp.* antibody seroprevalence in an apparently healthy population and in groups at risk plus their associated factors in the town of Villavicencio in the Meta department of Colombia

Materials and Methods A cross-sectional epidemiological model was used (subjects being selected by convenience sampling). Blood-samples were obtained by cubital puncture from (n: 503) people, consisting of 230 first semester students from different programmes at the Universidad de los Llanos and 273 people corresponding to 8 groups at risk. Information regarding risk factor was obtained from interviewing the 503 people. A commercial indirect ELISA kit (Pambio) was used for determining IgM antibodies.

Results Seroprevalence was 5,2 % in the low risk group. There was 19 % seroprevalence for groups at risk, 7 % for the group of people working in slaughterhouses, 17 % for vets and small animal clinic assistants, 17 % for students in their last year of Veterinary Medicine and Zootechnia, 21 % for people milking cows on dual-purpose farms, 23 % for people working in rice-fields, 35 % for people working on pig-farms and 48 % for those working on fish-farms. Three factors were found to be associated: rural social level, having a pet dog and coming into contact with rodents in the workplace.

Conclusions A high seroprevalence for *Leptospira spp.* was found in the groups at risk, people working on pig-farms and fish-farms being those most affected. There was a 1,86 relative risk in both groups indicated as having a greater risk of contagion amongst the population suffering occupational exposure.

Key Words: *Leptospira*, ELISA, sero-epidemiological study, risk factor (source: MeSH, NLM).

La leptospirosis es una zoonosis causada por una espiroqueta del género *leptospira*, de amplia distribución mundial (1). En muchas regiones se presentan brotes en áreas endémicas o epidemias urbanas (2). Se reconoce actualmente como una enfermedad reemergente en varios países, incluidos los desarrollados, sin embargo en la región tropical se reportan los mayores casos, posiblemente por las condiciones ambientales y la dinámica de crecimiento de las poblaciones urbanas asociada con la mala disposición de basuras y aumento de roedores (2-5). La presentación clínica en humanos es similar al dengue, fiebre amarilla, malaria, influenza y muchas otras enfermedades tropicales y se caracterizan por fiebre, dolor de cabeza y mialgias, lo que hace difícil el diagnóstico y la orientación de un tratamiento oportuno (4,6).

La enfermedad es endémica en muchos países con presentación de brotes esporádicos. La infección tiene un alto riesgo ocupacional (7). Independiente de éste, se reportan infecciones asociadas a actividades recreacionales o deportivas (8-10) dada la capacidad de la bacteria de penetrar la piel intacta (5).

La prueba de aglutinación microscópica (MAT) por su alta sensibilidad y especificidad es la prueba de referencia (11). Sin embargo, presenta reacción cruzada con otros serovares y requiere el uso de sueros pareados que confirmen el aumento en los títulos, además del mantenimiento de cepas vivas que pueden contaminarse, siendo necesaria su realización por laboratorios especializados (5,12). Contrariamente las pruebas de ELISA ofrecen mayores ventajas para establecer un diagnóstico rápido y oportuno (12).

En Colombia, la leptospirosis es una zoonosis sin notificación obligatoria. Algunos brotes epidémicos se han reportado en Barranquilla, Buenaventura y Lérica (13). En Villavicencio, una ciudad con una población de 350.000 habitantes se tienen todas las condiciones ambientales para que la enfermedad se presente. El objetivo de este estudio fue conocer la seroprevalencia en grupos humanos de bajo riesgo y a riesgo en habitantes de Villavicencio, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Encuesta serológica

A partir de un muestreo por conveniencia, se seleccionaron dos grupos de sujetos. Uno, considerado de bajo riesgo para exposición a *Leptospira*, estaba conformado por 230 estudiantes de pregrado, matriculados en diferentes programas, en el primer semestre académico de 2003 de la Universidad de los Llanos, en Colombia. La distribución de los estudiantes participantes por programa matriculado es la siguiente: Ingeniería agronómica 21, Licenciatura en Producción Agropecuaria 19, Medicina Veterinaria y Zootecnia 38, Enfermería 26, Economía 27, Ingeniería de sistemas 16, Ingeniería electrónica 29 y Administración de Empresas 54.

El segundo grupo, con 273 sujetos, estaba conformado por personas que desarrollaban actividades asociadas con mayor exposición a *Leptospira spp.* y se distribuían en: Trabajadores de matadero 70, Médicos veterinarios y auxiliares de clínicas de pequeños animales de Villavicencio 76, Estudiantes de último año de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de los Llanos 51, trabajadores de arrozales 13, ordeñadores de explotaciones del sistema doble propósito 19, trabajadores de granjas porcícolas 17 y trabajadores de granjas piscícolas 27.

De cada sujeto se obtuvo muestra sanguínea de la vena cubital en tubos estériles al vacío (vacutainer®). Una hora después de su obtención, las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3 500 G x 5 minutos, obtenido el suero

mediante pipeta pasteur, fraccionado en alícuotas de 1 ml y conservados a -20° C. hasta su análisis mediante la prueba de ELISA.

En el momento de la obtención de las muestra de sangre se aplicó un cuestionario mediante entrevista estructurada, previa prueba piloto, con el fin de recoger información sobre datos personales, ocupacionales, hábitos recreacionales y variables socioeconómicas.

ELISA-IgM

Se utilizó 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 Dynex 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 consideraron valores >1.1 positivo, <0.9 negativo y entre 0.9 y 1.1 dudoso, resultados que se reportaron como negativos

Análisis estadístico

Se utilizó una prueba de independencia mediante χ^2 para evaluar el grado de asociación o independencia entre la reactividad serológica y los factores de riesgo consignados en la encuesta. La fuerza de asociación, se calculó mediante el riesgo relativo. Toda la información se analizó mediante el programa EpiInfo (Versión 3.3 2004).

RESULTADOS

Seroprevalencia en población de bajo riesgo

La seropositividad general de este grupo fue 5,2 % (12/230). De acuerdo con los grupos estudiados para Ingeniería agronómica 2/21 (9,5 %), licenciatura en Producción Agropecuaria 2/19 (10,5 %), Ingeniería de sistemas 2/16 (12,5 %), enfermería 4/26 (15,3 %), Administración de Empresas 1/54 (1,8 %) y Economía 1/27 (3,7 %), no se encontraron reactores en Ingeniería electrónica y Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Seroprevalencia en grupos a riesgo

Las características de la población por grupo de riesgo ocupacional se observa en la Tabla 1.

La seropositividad fue de 19,4 % (53/273). La seroprevalencia por grupos fue en orden de mayor a menor para trabajadores de estanque piscícolas 48 % (13/27), trabajadores de granjas porcícolas 35 % (6/17), Trabajadores de arrozales 23 % (3/13), ordeñadores del sistema doble propósito 21 % (4/19), Estudiantes de último año de MVZ 17 % (9/53), Médicos Veterinarios y auxiliares de clínicas de pequeños 17 % (13/76) y trabajadores de matadero 7 % (5/70).

Tabla 1. Características (%) de los grupos de riesgo ocupacional

		MV	TP	Or	TF	TPi	TA	EM	General
Edad	< 25	15	18	0	26	15	23	71	24
	26- 35	55	23	31	41	34	8	27	32
	36- 45	22	18	32	27	44	0	2	21
	46- 65	8	35	37	6	7	54	0	21
	> 66	0	6	0	0	0	15	0	2
Género	F	46	47	21	20	19	0	73	33
	M	54	53	79	80	81	100	27	67
Estrato	Rural	0	100	95	1	70	92	16	53
	Urbano	100	0	5	99	30	8	84	47
MA	SI	99	100	100	100	100	0	100	95
	NO	1	0	0	0	0	100	0	5
TM	SI	79	94	89	39	89	77	63	76
	NO	21	6	11	61	11	23	37	24
CR	SI	70	59	79	59	96	77	64	72
	NO	30	41	21	41	4	23	36	28

MV: Médico Veterinario; TP: Trabajadores porcícolas; Or: ordeñadores; TF: Trabajadores frigoríficos; Tpi: Trabajadores piscícolas; TA: Trabajadores arrozales; EM: Estudiantes Medicina Veterinaria; MA: Manipula animales; TM: Tenencia de mascotas; CR: Contacto con roedores

Los factores de riesgo que se encontraron asociados a la presentación de anticuerpos a IgM *Leptospira* spp mediante la prueba de independencia ($P < 0.05$) fueron: contacto con roedores en el trabajo, tenencia de mascota canina y el estrato de la vivienda, donde la probabilidad de asociación fue < 0.05 y el límite inferior del intervalo de confianza del riesgo relativo ICRR > 1 (Tabla 2).

Tabla 2. Factores de Riesgo en grupos humanos de mayor riesgo ocupacional

Factor de Riesgo	Chi ²	GL	P	RR	ICRR
Contacto roedores en el trabajo	17.02	1	0.000037	2.86	1.73 a 4.75
Estrato rural	12.06	1	0.0005	2.4	1.50 a 3.83
Tenencia mascota canina	3.97	1	0.046	1.84	1.03 a 3.26

GL: Grados de Libertad; P: Probabilidad; RR: Riesgo Relativo; ICRR: Intervalo de Confianza de Riesgo Relativo.

El riesgo relativo entre el grupo de bajo riesgo y alto riesgo fue de 1,86 (< 0.007 , ICRR: 1,19-2,92), lo que indica mayor riesgo de contagio en la población con exposición ocupacional.

DISCUSIÓN

La seroprevalencia general de anticuerpos por ELISA-IgM en este estudio es alta, y coincide con la reportada en el Sur de Colombia (18,4 %) en adultos clínicamente sanos (14) y en otros países. En la región de Tingo Maria (Perú) se encontró una seroprevalencia de 19 %, (15) siendo mayor a la reportada en el área urbana de Sao Paulo, Brasil (11 %) en donde la enfermedad es endémica (7).

La seroprevalencia en trabajadores de matadero (7 %) es menor a la reportada en veterinarios y operarios de matadero (15 %) (16) y difiere de lo observado en otro estudio donde se reportan incidencias hasta 40 % (17). La baja prevalencia encontrada en este grupo puede ser explicado por las medidas de protección laboral de carácter obligatorio impuestas por la empresa en donde se realizó el muestreo, reflejando de esta forma que a pesar de ser el grupo más expuesto al contacto con aguas servidas y secreciones de animales, la protección industrial es vital importancia para evitar la transmisión de la bacteria. En un estudio en 45 trabajadores del matadero de Manizales, no se encontraron seroreactores a leptospira por la prueba de MAT, pero sí de 14.3 % y 4 % para la prueba de inhibición del crecimiento (IC), sin que diera una explicación del tal hallazgo (18). En porcinos sacrificados en el matadero de Villavicencio se encontró una prevalencia de 16,2 % lo que demuestra un presentación endémica de la enfermedad en esta especie¹.

En lo referente al grupo de veterinarios y auxiliares y los estudiantes de MVZ de último año, dichos resultados podrían sugerir una falla en las medidas de protección dentro del ejercicio profesional. Es claro que en los consultorios y hospitales veterinarios deben existir ciertos procedimientos y acciones respecto al control de las posibles formas de exposición a las más importantes zoonosis, sin embargo en la práctica esto no ocurre, tal como lo demuestra un brote de leptospirosis presentado en el Hospital Veterinario de la Universidad Federal de Santa María (HV-UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil, en donde se infectaron 37 personas de los cuales 32 (85,5 %) fueron serológicamente posi-

¹ Montenegro T, Puente UP. [Prevalencia de Leptospirosis en porcinos sacrificados en los mataderos de Villavicencio]. Trabajo de grado en Medicina Veterinaria [1986] Se localiza en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de los Llanos.

tivas y 5 (13,5 %) presentaron cuadro clínico compatible con la enfermedad. En este caso los serotipos encontrados fue *bratislava* en 25 casos (43,1 %), *australis* 24 (41,4 %), *patoc* 5 (8,6 %), *canícola* 2 (3,4 %), *icterohaemorrhagiae* 1 (1,7 %) y *pyogena* 1 (1,7 %) (19). Se ha encontrado que la infección por leptospira proveniente de la manipulación de pequeñas especies principalmente perros y gatos, ocurren a través de piel o mucosas por contacto con secreciones de tejidos o orina (20).

De acuerdo con la OMS, deberían hacerse exámenes periódicos para enfermedades zoonóticas en grupos ocupacionales incluidos los veterinarios. En 102 de ellos y 191 trabajadores porcícolas, examinados en Holanda, para *Estropctocous suis* tipo II, *Brucela abortus*, *Leptospira* y virus de la *Coriomeningitis linfocíticas*, se encontró una mayor seroconversión en los veterinarios a *Streptococ suis* (6 %), *Brucela abortus* (4,9 %) y *Leptospira* (3,9 %) (21). En igual sentido, en Estados Unidos se reportó una prevalencia de infecciones zoonóticas de 13,2 % a 64,5 %. En este mismo estudio, realizado en veterinarios de zoológicos, el 30,2 % fueron hospitalizados por leptospirosis, campilobacteriosis, echinococosis, herpesvirus tipo A1, giardiasis y psitacosis (22). En Australia, 4 % de los veterinarios reportaron haber adquirido una enfermedad zoonótica (23).

En un encuesta aplicada a 211 veterinarios de la provincia de Ciego de Ávila (Cuba) sobre el nivel de conocimiento de las más importantes zoonosis de importancia médica, solo el 31 % aprobaron el cuestionario. Los niveles más bajos de conocimientos fueron para leptospirosis y Toxoplasmosis (24).

Se ha considerado que en Colombia se le da poca importancia al riesgo biológico de origen animal subestimando la magnitud y lo que es más grave una actitud pasiva de los profesionales del sector agropecuario por esta problemática (25).

La prevalencia en ordeñadores (23 %) y trabajadores de granjas porcícolas (35 %) es alta, aunque menor a la reportada en el municipio de Don Matías (Antioquia) (60,9 %) bajo un sistema de producción "Cerdos-pastos-leche" en donde el estiércol de los cerdos se utilizaba como fertilizante de las praderas de las vacas (26). Contrasta los anteriores resultados con los obtenidos en trabajadores de 15 explotaciones porcinas de la zona cafetera en donde se encontró una prevalencia baja de 3,9 % (18). La fuente de infección para los ordeñadores podría provenir por contacto ya sea con orina o leche de vacas con enfermedad clínica.

Respecto al grupo de los trabajadores de arrozales la prevalencia es similar a la observada en el Departamento de San Martín (Perú) que fue 25,2 % , los factores asociados fueron, la edad, la actividad, habitación en piso de tierra, eliminación de excretas a campo abierto y no guardar la comida tapada (27). Es posible que en este grupo la enfermedad pueda estar siendo sub-diagnosticada ya que Villavicencio es uno de los municipios productores de arroz en el Departamento del Meta.

En el Departamento de Córdoba (Colombia) la seroprevalencia general en 344 trabajadores agrícolas, carniceros y recolectores de basura fue de 13,1 % (28), menor a la observada en este estudio, mientras en Chile en cultivadores de arroz, trabajadores de matadero y agropecuarios fue mayor (22 %) (29).

Llama la atención la alta seroprevalencia en el grupo de trabajadores de granjas piscícolas, lo cual este posiblemente relacionado con la proliferación de roedores y animales silvestres alrededor de los estanques, en busca de la comida de los peces. Con anterioridad, entre 1934-1948 en Escocia se observó que 86 % de todos los casos de leptospirosis en este país correspondía a este grupo humano (30). Esto exige en forma inmediata emprender acciones de divulgación y extremar las medidas de protección laboral máxime cuando en la región aumenta en forma acelerada la producción piscícola.

A diferencia de lo que ocurre en otros países en donde la enfermedad se presenta en forma de brotes o en forma esporádica esto no ocurre regularmente en Villavicencio en donde la enfermedad puede estar siendo subnotificada por el cuerpo medico dada su similitud en los signos clínicos con muchas otras enfermedades tropicales. El porqué de esta situación ha sido asociado a factores relacionados con la resistencia del huésped, las condiciones del medio ambiente y las características del agente (31). En Colombia en un brote ocurrido en la ciudad de Barranquilla en 1995 en 23 pacientes, 6 de ellos murieron y fue asociado con las inundaciones que se presentaron por aquella época (32).

Contrasta la información analizada anteriormente, respecto a la leptospirosis como enfermedad ocupacional frente a crecientes hallazgos de la infección asociada a actividades recreacionales o deportivas, en donde el agua estaba contaminada con la bacteria (33-36) En un reciente estudio esta actividad fue mas importante que otro tipo de ocupación (9).

Los tres factores asociados a la infección para todos los grupos coinciden con algunos estudios realizados con anterioridad. En Villavicencio se encontró

una seroprevalencia de anticuerpos por MAT en caninos de 73,8 % al serovar canícola, lo que sugiere una alta probabilidad de infección si se tiene contacto con caninos en fase clínica de la enfermedad². Igual situación ocurre si se tiene contacto con roedores, especialmente la orina ♦

Agradecimientos. Al Instituto de Investigaciones de la Orinoquia Colombiana (IIOC) y la Secretaría Municipal de Salud Municipal por el apoyo financiero a este proyecto. Igualmente a todos los profesionales, estudiantes, trabajadores y productores que participaron en forma voluntaria en este estudio.

REFERENCIAS

1. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gilman RH, Willig MR, Gotuzzo E, and Vinetz JM. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 2003; 3: 757-771.
2. Vinetz JM, Glass GE, Flexner CE, Muller P, Kaslow DC. Sporadic urban Leptospirosis. 1996; 125: 794-798.
3. Levett PN. Leptospirosis: re-emerging or re-discovered disease? *J Med Microbiol* 1999; 48: 417-418.
4. Levett PN, Branch SL, Edwards CN. Detection of dengue infection in patients investigated for leptospirosis in Barbados. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62: 112-114.
5. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14: 296-326.
6. Tappero JW, Ashford DA, Perkins BA. *Leptospira* species (leptospirosis), p. 2495-2501. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (ed.). Principles and practice of infectious diseases, 5th ed. Philadelphia, Pa: Churchill Livingstone; 2000.
7. Berardis ÉG, Soares dos Santos M, Franco TÁ, Oliveira ML. Human and canine leptospirosis: serological data of São Paulo City, Brazil, 2000 to 2003. *Rev Cubana Med Trop.* 2005; 57(1):61-62.
8. Morgan J, Bornstein SL, Karpati AM, Bruce MI, Bolin CA, Austin CC, Woods CW, Lingappa J, Langkop C, Davis B, Graham DR, Proctor M, Ashford DA, Bajani M, Bragg SL, Shutt K, Perkins BA, Tappero JW. Outbreak of leptospirosis among triathlon participants and community residents in Springfield, Illinois, 1998. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1593-1599.
9. Narita M, Fujitani S, Haake DA, Patterson DL. Leptospirosis after recreational exposure to water in the yaeyama islands, Japan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2005; 73 (4):652-656.
10. St John MA, King S, Bullen SE, Cherian J, Levett PN. Leptospirosis occurring in two children after fresh water immersion. *West Indian Med J* 2000; 49:340-43.
11. Cole JR., Sulzer CR, Pursell AR. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl. Microbiol.* 1973; 25:976-980.
12. Bajan MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, Plikaytis BD, Perkins BA, Phelan M, Levett PN and Weyant RS. Evaluation of Four Commercially Available Rapid Serologic Tests for Diagnosis of Leptospirosis, *Journal of Clinical Microbiology.* 2003; 41 (2) : 803-809
13. Ministerio de Salud de Colombia. Leptospirosis. Informe Quincenal Epidemiológico Nacional. 1997; 2:321.
14. Sebek Z, Sixl W, Valova M. Serological investigations for leptospirosis in humans in Colombia. *Geogr Med.* 1989; 3S: 51-60.

² Ardila RM, Mojica JD. [Determinación de factores de riesgo a *L. canícola* en caninos de Clínicas Veterinarias en Villavicencio]. Trabajo de Grado en Medicina Veterinaria [1997] Se localiza en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de los Llanos.

15. Oficina General de Epidemiología/Instituto Nacional de Salud. Leptospirosis. Módulos Técnicos Serie Documentos Monográficos No 2 Lima (Peru); 2000
16. Farrar WE. Especies de *Leptospira* (Leptospirosis) En: Mandell G, Douglas R, y Benett J. Primera edición 1991, Enfermedades infecciosas principios y prácticas. Tomo II Editorial Médica Panamericana, S.A., Buenos Aires, Argentina pp 1916-1920.
17. Andreescu N, Tacorian D, Duminica M, Filip M, Sosin A. Investigarea serologica in complicatiile oculare ale leptospirozei la om. *Bacteriol Virusol Parazitol. Epidemiol.* 1988; 33:41-46.
18. Orrego-Uribe A, Giraldo de León G, Ríos-Arango B, Valencia-Prada PA. Leptospirosis en personas de riesgo de quince explotaciones porcinas y de la central de sacrificio de Manizales, Colombia *Arch. Med. Vet.* 2003; 35 (2):205-213.
19. Carneiro M, Giacomini M, Costa JM. Leptospirosis asociada a la exposición ocupacional: Estudio clínico y epidemiológico. *Rev Chil Infect.* 2004; 21 (4): 339-344.
20. Tan JS. Human zoonotic infections transmitted by dogs and cats. *Arch Intern Med.* 1997;157:1933-1943.
21. Elbers A, Diepersloot R, Vecht U, Wisselink H, Tielen M. Occupational exposure to *Streptococcus suis* II, Hantavirus, *Brucella abortus*, Lymphocyte choriomeningitis virus, and leptospira in veterinarians and pig farmers in the southern Netherlands. *Epidemiol. Santé Anim.* 1997; 31-32.
22. Hill D, Langley R, Morrow M. Occupational Injuries and illnesses reported by zoo veterinarians in the United States. *Journal of zoo and wildlife medicine.* 1998; 29 (4):371-385.
23. Weese JS, Peregrine AS, Armstrong J. Occupational health and safety in small animal veterinary practice: Part I - Nonparasitic zoonotic diseases *Can Vet J.* 2002; 43:631-636
24. Suárez-Hernández M, Llorens-Blanco F, Cepero-Rodríguez O, Retureta-Milian M, González-Martí T. Conocimientos que tienen médicos veterinarios no vinculados a la salud pública en la provincia Ciego de Ávila, Cuba sobre algunas zoonosis. *Rev Biomed.* 2005; 16:221-226.
25. Cediel B, Natalia M, Villamil LC. Riesgo biológico ocupacional en la medicina veterinaria, área de intervención prioritaria. *Rev. Salud Pública.* 2004; 6 (1):28-43.
26. 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* 2007; (5):325-331
27. Rollin CM, Fernández F, Arévalo H. Hiperendemicidad de leptospirosis y factores de riesgo asociados en localidades arroceras del departamento de San Martín - Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública;* 2002, 19 (1):10-16.
28. Nájera S, Alvis N, Babilonia D, Alvarez L, Máttar S. Leptospirosis ocupacional en una región del caribe Colombiano. *Salud Pública Méx.* 2005; 47(3):240-244.
29. Zamora J, Riedmann S. Encuesta Serológica de Leptospirosis Humana en Ocupaciones de alto riesgo en Chile. *Rev. Med. Chile.* 1990; 118:247-252.
30. Smith J. Weil's diseases in the north-east of Scotland. *Br J Ind Med.* 1949; 6:213-220
31. Atienzar E, Espino R, López C, Sed O, Alonso L. Brote de leptospirosis en la provincia de Camaguey y Las Tunas. Diagnóstico serológico, características clínicas y aislamiento microbiológico. *Revista Cubana Medicina Tropical.* 1985; 37:105-112.
32. Pérez-García JA. Hallazgos histopatológicos en necropsias de leptospirosis. *Colombia Médica* 1997; 28 (1):4-9.
33. Centers for Disease control and Prevention. 1977. Outbreak of leptospirosis among white-water rafters- Costa Rica., *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1996, 46 (25): 577-579
34. Centres for Disease control and Prevention. 1998. Outbreak of acute febrile illness among athletes participating in triathlons Wisconsin and Illinois. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1998; 47 (28):585-588.
35. Centers for Disease control and Prevention. 2000. Oubreak of acute febrile illness among participantes in EcoChallenge Sabah 2000-Malasya. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2000; 49 (36):816-817.
36. Morgan J, Bornstein SL, Karpati AM, Bruce MI, Bolin CA, Austin CC, Woods CW, Lingappa J, Langkop C, Davis B, Graham DR, Proctor M, Ashford DA, Bajani M, Bragg SL, Shutt K, Perkins BA, Tappero JW. Outbreak of leptospirosis among triathlon participants and community residents in Springfield, Illinois, 1998. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1593-1599.