

Determinación de la seroprevalencia de *Leptospira* spp. y los principales serovares circulantes en el ganado bovino en la provincia de Manabí, Ecuador

Este artículo (n.º 14032019-00143-ES) ha sido revisado por expertos, aceptado y sometido a una revisión lingüística aprobada por los autores. Todavía no se ha finalizado el diseño para la impresión. Será publicado en diciembre de 2019, en el volumen 38 (3) de la *Revista científica y técnica*.

D.I. Burgos Macías ⁽¹⁾, M. Pérez Ruano ^{(2)*}, C.A. Bulnes Goicochea ⁽¹⁾, M.D. Zambrano Aguayo ⁽¹⁾, H.P. Sandoval Valencia ⁽³⁾, M.A. Falconí Flores ⁽³⁾, L. Vera Loor ⁽⁴⁾, A.P. Revelo Ruales ⁽⁵⁾ & O. Fonseca Rodríguez ⁽⁶⁾

(1) Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí (UTM), Portoviejo, Ecuador. E-mail: dburgos@utm.edu.ec

(2) Cátedra «Una Salud» UNAH-CENSA, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de la Habana (UNAH), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. E-mail: migperez@unah.edu.cu

(3) Laboratorios de la Dirección de Diagnóstico Animal, Tumbaco, Quito, Ecuador

(4) Agencia Ecuatoriana para la Calidad del Agro (AGROCALIDAD), Manabí, Ecuador

(5) Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI), Av. Huayna Capac 1–212 y Píasar Capac, Código postal: 010104, Cuenca, Ecuador. E-mail: paolarevelo494@gmail.com

(6) Epidemiology and Global Health, Umeå University, SE-901 87 Umeå, Sweden. E-mail: osvaldo.fonseca@umu.se

*Autor encargado de la correspondencia: migperez@unah.edu.cu

Resumen

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica infectocontagiosa causada por cepas patógenas del género *Leptospira*. En el ganado bovino, clínicamente se caracteriza por fiebre, hematuria, hemoglobinuria, meningitis, abortos y/o nacimiento de animales débiles e infertilidad, y, en los casos más graves, puede provocar la muerte de los animales. En Ecuador, y en concreto en la provincia de Manabí, los escasos estudios realizados denotan prevalencias variables, que van del 35,8% al 75%. El objetivo del presente estudio es determinar la seroprevalencia de la leptospirosis en el ganado bovino y conocer los principales serovares circulantes en la provincia de Manabí. Se realizó un estudio epidemiológico de tipo transversal en el período comprendido entre noviembre de 2015 y marzo de 2016, para el cual se seleccionaron siete cantones al azar y se investigaron un total 854 animales pertenecientes a 67 hatos. Las muestras se procesaron en los Laboratorios de la Dirección de Diagnóstico Animal de la Agencia Ecuatoriana para la Calidad del Agro (AGROCALIDAD) de Tumbaco utilizando la técnica de aglutinación microscópica (MAT), y los sueros se analizaron para comprobar si contenían cada uno de los ocho serovares de *Leptospira interrogans* de mayor circulación en el país: Canicola, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Wolffi, Bratislava y Copenhageni. La seroprevalencia general a nivel de hatos fue del 97,01%, siendo los más frecuentes los serovares Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Bratislava y Canicola. Se llegó a la conclusión que en la provincia de Manabí existe una alta seroprevalencia a nivel de hatos.

Palabras clave

Ecuador – Ganado bovino – *Leptospira* spp. – Seroprevalencia – Serovar – Zoonosis.

Introducción

La leptospirosis se considera una de las enfermedades de mayor distribución mundial (1). Esta enfermedad es una zoonosis, causa

problemas a la salud pública y afecta tanto a países en vías de desarrollo como a países desarrollados (2).

La leptospirosis está causada por cepas patógenas del género *Leptospira* (3), que son transmitidas directa o indirectamente de los animales a los seres humanos (4).

La epidemiología de la leptospirosis ha variado debido a los cambios que se han producido en la cría de animales, el clima y el comportamiento humano (5). Afecta a la mayoría de los animales y causa pérdidas económicas en el sector pecuario (6). En el ganado bovino, ocasiona problemas reproductivos y productivos que se caracterizan por la presencia de abortos, mortalidad perinatal, nacimiento de crías débiles, infertilidad y una disminución de la producción láctea (7, 8).

Estudios realizados en la región de la costa ecuatoriana denotan un incremento de la seroprevalencia de la leptospirosis humana, puesto que pasó de 56 casos confirmados en el 2005 a los 645 de 2012, lo cual indica la importancia de estudiar la enfermedad y los factores asociados a la misma (9).

Durante los años 2010 a 2012 fueron confirmados por las autoridades sanitarias de Portoviejo, Manabí, más de 2 000 casos humanos febriles y serológicamente positivos a la leptospirosis (10).

Estudios realizados en zonas rurales de Ecuador indican que los bovinos y los cerdos pueden ser los principales reservorios para la transmisión de la enfermedad a los humanos debido a la alta prevalencia de especies patógenas del género *Leptospira* en estos animales (11).

En Ecuador, se han realizado pocos estudios en bovinos, los cuales reportan seroprevalencias variables de *Leptospira* spp., que van del 35,8% (11) al 75% (12).

El control de la leptospirosis requiere una vigilancia epidemiológica activa y la adaptación de las políticas públicas con respecto a la enfermedad (13). Es por ello que como objetivo del presente trabajo nos proponemos realizar un estudio para determinar la seroprevalencia de

la leptospirosis en el ganado bovino y conocer los principales serovares circulantes en esta especie animal en la provincia de Manabí.

Material y métodos

Área de estudio

El área de estudio se sitúa en la provincia de Manabí, con 18 893,7 km², lo cual representa un 7,36% del territorio nacional; la altitud sobre el nivel del mar oscila entre los 0 y los 500 metros (14). Esta provincia cuenta con el mayor censo ganadero del país: 977 140 cabezas (15).

El estudio se realizó en los cantones: Bolívar, Chone, El Carmen, Flavio Alfaro, Jama, Junín y Tosagua.

Diseño del estudio

Se realizó un estudio epidemiológico de tipo transversal en la provincia de Manabí durante el período comprendido entre noviembre de 2015 y marzo de 2016. Para el mismo, se seleccionaron siete cantones y se investigó un total de 67 hatos. Se incluyeron hatos dedicados a la producción de leche, a la producción de carne y de doble propósito, y que tuvieran una población de al menos cinco animales.

Tamaño de la muestra

El número de muestras a tomar se determinó mediante la fórmula propuesta por Lwanga y Lemeshow (16):

$$n = Z^2 * p * (1 - p) / d^2$$

Donde:

Z = 1,96 (nivel de confianza del 95%)

p = 0,60 (proporción de la población que se preveía que estaba afectada)

1-p = 0,40

d = 0,04 (precisión absoluta a ambos lados de la proporción)

Se obtuvo una n mínima de 576 muestras.

Extracción de muestras de sangre

Las muestras de sangre de los bovinos se extrajeron de la vena yugular o la arteria caudal, y el volumen de sangre por muestra fue de 5 ml; no se utilizó anticoagulante. En todos los casos, los dueños de los animales firmaron el acta de consentimiento informado.

Para la extracción de las muestras de sangre, se utilizó un sistema comercial de tubos con vacío y agujas descartables, y las muestras obtenidas se mantuvieron a una temperatura aproximada de 20°C; tras la formación del coágulo, se procedió a la extracción del suero por centrifugación de la sangre a 3 000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 min. El suero se distribuyó en alícuotas de 0,5 ml y se congeló a -20°C hasta el momento de ser procesado (17).

Metodología diagnóstica

Las muestras se analizaron en los Laboratorios de la Dirección de Diagnóstico Animal de la Agencia Ecuatoriana para la Calidad del Agro (AGROCALIDAD) de Tumbaco utilizando la técnica de la aglutinación microscópica (MAT), considerada la prueba de referencia para el diagnóstico serológico de esta enfermedad (18); se consideraron positivos los títulos $\geq 1:100$. Todos los sueros se analizaron para comprobar si contenían cada uno de los ocho serovares de *Leptospira interrogans* de mayor circulación en el país: Canicola, Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Wolffi, Bratislava, Copenhageni, conforme a lo recomendado por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (18), y fueron certificados por el Servicio Nacional de Laboratorios Veterinarios del Departamento de Agricultura de EE.UU.

Procesamiento de los datos y análisis estadísticos

Los datos obtenidos se registraron en una hoja de cálculo de Microsoft Excel y se utilizaron para calcular la seroprevalencia a nivel individual y de hatos en los diferentes cantones estudiados. Se realizó un análisis de comparación de proporciones para determinar si existían diferencias en función de los cantones o de los serovares circulantes.

Para el análisis estadístico, se utilizó el paquete XLSTAT (versión 7.5) con un nivel de confianza del 95%, y para la elaboración de mapas de la prevalencia por cantones en las regiones estudiadas, se utilizó el paquete ArcGIS 9.3.1. (19).

Resultados

La seroprevalencia general en los animales fue del 57,38% (Cuadro I), y los mayores índices ($p \leq 0,05$) se observaron en los cantones Junín, Chone, Flavio Alfaro y El Carmen (Fig. 1).

Cuadro I

Seroprevalencia general de *Leptospira* spp.

Cantones	Animales investigados	Positivos	Seroprevalencia (%)	IC 95%
Junín	143	102	71,33 ^a	0,63–0,78
Chone	59	39	66,10 ^{ab}	0,53–0,57
Flavio Alfaro	33	21	63,64 ^{abc}	0,47–0,78
El Carmen	154	91	59,09 ^{abcd}	0,51–0,67
Jama	221	126	57,01 ^{bcd}	0,50–0,63
Tosagua	122	59	48,36 ^{cd}	0,40–0,57
Bolívar	122	52	42,62 ^d	0,34–0,51
Total	854	490	57,38	0,54–0,61

En cada columna, los valores seguidos de distinta letra en superíndice son significativamente diferentes entre sí ($p \leq 0,05$).

IC: Intervalo de confianza

%: Porcentaje

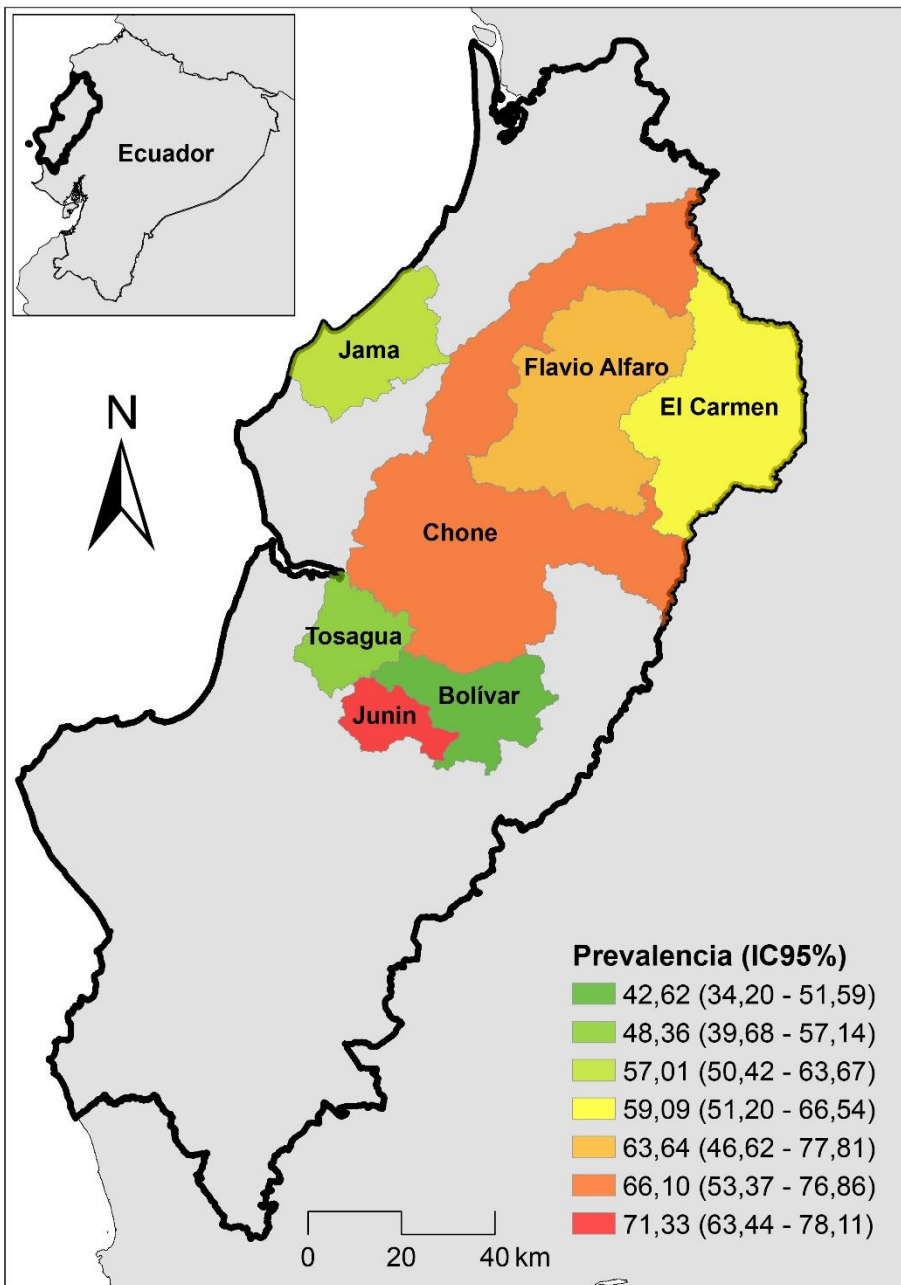


Fig. 1
Prevalencia de *Leptospira* spp. por cantones, provincia de Manabí

IC: Intervalo de confianza

Se muestreó un total de 67 hatos, y se halló seroprevalencia en el 97% de los mismos (Cuadro II).

Cuadro II
Seroprevalencia por cantones

Cantones	Hatos investigados	Positivos	Seroprevalencia (%)	IC 95%
Bolívar	13	13	100,00	0,77–1,00
El Carmen	12	12	100,00	0,76–1,00
Jama	12	12	100,00	0,76–1,00
Junín	11	11	100,00	0,74–1,00
Flavio Alfaro	4	4	100,00	0,51–1,00
Tosagua	9	8	88,89	0,57–0,98
Chone	6	5	83,33	0,44–0,97
Total	67	65	97,01	0,90–0,99

IC: Intervalo de confianza

%. Porcentaje

Se detectó seropositividad para los ocho serovares estudiados, y el serovar identificado con mayor frecuencia fue Pomona ($p \leq 0,05$) (Cuadro III).

Cuadro III
Serovares identificados de *Leptospira interrogans*

Serovares	Animales investigados	Animales seropositivos	%	IC 95%
Pomona	854	239	27,99 ^a	0,25–0,31
Icterohaemorrhagiae	854	184	21,55 ^b	0,19–0,24
Grippityphosa	854	158	18,50 ^{bc}	0,16–0,21
Bratislava	854	147	17,21 ^c	0,15–0,20
Canicola	854	141	16,51 ^c	0,14–0,19
Wolffi	854	79	9,25 ^d	0,07–0,11
Copenhageni	854	13	1,52 ^e	0,01–0,03
Hardjo	854	12	1,40 ^e	0,00–0,02

En cada columna, los valores seguidos de distinta letra en superíndice son significativamente diferentes entre sí ($p \leq 0,05$)

IC: Intervalo de confianza

%. Porcentaje

El 56,73% de los animales positivos presentó títulos de anticuerpos para más de un serovar y se detectaron casos con hasta siete serovares. Los títulos de anticuerpos en los animales positivos variaron entre 1/100 y 1/6400, y en los casos con títulos superiores a 1/100, el serovar más frecuente fue Pomona.

Discusión

En el estudio realizado se observó que el 97,01% de los hatos están afectados, nivel similar a lo que indican reportes de Brasil e Irlanda (20, 21), que comunican una prevalencia de hatos afectados superior al 90%.

Del total de los animales muestreados, el 57,38% resultó seropositivo, un porcentaje que se acerca a lo que indican reportes de Colombia (22), donde se detectó una seroprevalencia del 54,2%. Otros autores hallaron una seroprevalencia superior en Ecuador (23), del orden del 75%, y también en Colombia, donde se observó que era del 74,4% (24); sin embargo, la seroprevalencia detectada en mataderos de Ecuador fue inferior a la hallada en este estudio, puesto que se situaba en un 49,8% (25).

La especie bovina se considera el reservorio natural de los serovares Hardjo, Pomona y Grippytyphosa (26). En este estudio, se detectó seropositividad para todos los serovares estudiados, y Pomona fue el que más frecuente (27,99%), seguido de Icterohaemorrhagiae (21,55%), Grippytyphosa (18,50%), Bratislava (17,21%), Canicola (16,51%) y Hardjo (1,40%).

Estos resultados coinciden con los obtenidos en estudios realizados por otros autores en la especie bovina (22, 27, 28), según los cuales el serovar Pomona es el más frecuente en bovinos y es de gran importancia por dar lugar a una de las infecciones humanas más comunes en otros países, como Nueva Zelanda (29), Colombia (30) y México (31).

La seroprevalencia del serovar Hardjo fue baja, lo cual difiere de lo observado en otros estudios en bovinos, en los cuales se reporta como uno de los más frecuentes (32, 33, 34).

El 56,73% de los animales positivos presentaron títulos para más de un serovar, siendo la combinación más común Pomona–Icterohaemorrhagiae. Resultados similares se obtuvieron en estudios realizados en Tailandia y Uganda (35, 36), más del 40% de cuyos animales estudiados que dieron positivo presentaban títulos de anticuerpos para más de un serovar. Es necesario que en trabajos futuros se profundice en la investigación para determinar si se trata de infecciones por varios serovares o de reacciones cruzadas entre ellas, tal y como señalan otros autores (35, 36).

Entre el 70% y el 100% de los animales positivos presentaron títulos de anticuerpos de entre 1/100 y 1/200, lo cual puede ser indicativo de infecciones crónicas o nuevas infecciones; así pues, es necesario que en estudios futuros se tomen sueros pareados para conocer la dinámica de la producción de anticuerpos (20).

Los resultados obtenidos indican que, en la región estudiada, la leptospirosis puede constituir un riesgo para los humanos, tal y como lo señalan otros investigadores (23), sobre todo teniendo en cuenta que los bovinos son reservorios naturales de los agentes causantes de esta enfermedad (37).

Estos resultados son similares a los reportados en estudios previos realizados en la región de la costa de Ecuador, donde se observó que la exposición a animales domésticos, fundamentalmente bovinos y cerdos, puede constituir el mayor riesgo para la infección humana (11).

La alta seroprevalencia de *Leptospira* spp. en bovinos aparentemente sanos puede constituir un riesgo para los agricultores, los trabajadores del sector pecuario y los propietarios de los animales (27), ya que este agente puede ser eliminado en la orina durante un largo período de tiempo y afectar a los humanos. Por ello, los resultados obtenidos constituyen un motivo de alerta para las autoridades sanitarias de la provincia, una táctica pensada para desarrollar estrategias efectivas de prevención y control de la enfermedad, como el establecimiento de programas de vacunación de los animales y las personas en riesgo o la capacitación de todas las personas que participen en la cadena de producción bovina.

Conclusiones

La seroprevalencia a nivel individual fue del 57,38%, y a nivel de hatos, del 97,01%.

Se detectaron casos positivos para todos los serovares estudiados, y los mayores índices de seroprevalencia correspondieron al serovar Pomona, seguido de Icterohaemorrhagiae, Bratislava y Grippotyphosa.

Los niveles más altos de seroprevalencia se hallaron en los cantones Junín, Chone, Flavio Alfaro y El Carmen.

Bibliografía

1. Pacheco Sánchez G. (2015). – Una visión general de la leptospirosis. *J. Agric. Anim. Sci.*, **4** (1), 46–63. Disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/jals/article/view/820> (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

2. García-González R., Reyes-Torres A., Basilio-Hernández D., Ramírez-Pérez M. & Rivas-Sánchez B. (2013). – Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev. Latinoam. Patol. Clin. Med. Lab.*, **60** (1), 57–70. Disponible en: www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=40363 (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

3. Adler B. (2015). – History of Leptospirosis and *Leptospira*. En *Leptospira and Leptospirosis* (B. Adler, edit.). *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, Book series, Vol. **387**, Springer, Berlín, Heidelberg, Alemania, 1–9. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_1.

4. Lugo-Chávez B.L., Velasco-Rodríguez L.C., Canales-Velásquez G., Velásquez-Hernández J.F. & Herrera-Huerta E.V. (2015). – Detección de anticuerpos antileptospira en una población vulnerable del municipio de Ixhuatlancillo, Veracruz. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.*, **53** (2), 158–163. Disponible en: www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=56564 (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

5. Petrakovsky J., Tinao J. & Esteves J. (2013). – Leptospirosis porcina: prevalencia serológica en establecimientos productores de la República Argentina. *Rev. MVZ Córdoba*, **18** (1), 3282–3287. <https://doi.org/10.21897/rmvz.189>.

6. Carmona-Gasca C.A., León Lara L., Castillo-Sánchez L.O., Ramírez-Ortega J.M., Ko A., Luna Palomera C. & de la Peña-Moctezuma A. (2011). – Detección de *Leptospira santarosai* y *L. kirschneri* en bovinos: nuevos aislados con potencial impacto en producción bovina y salud pública. *Vét. Méx.*, **42** (4), 277–288. Disponible en: www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922011000400003 (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

7. Arias Ch. F., Suárez A. F., Huanca L. W., Rivera G. H., Camacho S. J. & Huanca M. T. (2011). – Prevalencia de leptospirosis bovina en dos localidades de puno en época de seca y determinación de factores de riesgo. *Rev. Inv. Vet. Perú*, **22** (2), 167–170. <https://doi.org/10.15381/rivep.v22i2.293>.

8. Abiayi E.A., Inabo H.I., Jatau E.D., Makinde A.A. & Sar T.T. (2015). – Seroprevalence of *Leptospira* antibodies in cattle slaughtered for sale in some north central states of Nigeria. *Res. J. Vet. Sci.*, **8** (2), 21–28. <https://doi.org/10.3923/rjvs.2015.21.28>.

9. Mendoza Ramírez R.J. (2015). – Situación epidemiológica de la leptospirosis humana en la región costa del Ecuador, 2005–2012. Tesis presentada como requisito para optar por el grado de Magister en epidemiología. Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador, 73 págs. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/9838/1/MENDOZArodrigo.pdf> (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

10. Chiriboga J., Barragan V. [...] & Trueba G. (2015). – High prevalence of intermediate *Leptospira* spp. DNA in febrile humans from urban and rural Ecuador. *Emerg. Infect. Dis.*, **21** (12), 2141–2147. <https://doi.org/10.3201/eid2112.140659>.

11. Barragan V., Chiriboga J. [...] & Pearson T. (2016). – High *Leptospira* diversity in animals and humans complicates the search for common reservoirs of human disease in rural Ecuador. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **10** (9), e0004990. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004990>.

12. Román-Cardenas F., Chávez-Valdivieso R. & Luna Herrera J. (2014). – Determinación de anticuerpos leptospirales en bovinos y en personal vinculado a la ganadería. *Centro Biotecnol.*, **3** (1), 15–24. Disponible en: <http://docplayer.es/80683835-Determinacion-de-anticuerpos-leptospirales-en-bovinos-y-en-personal-vinculado-a-la-ganaderia.html> (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

13. Pandian S.J., Ray P.K., Chandran P.C. & Kumar M. (2015). – Seroprevalence of *Brucella abortus* and *Leptospira hardjo* in cattle. *Vet. World*, **8** (2), 217–220. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.217-220>.

14. Cevallos Falquez O.F. (2012). – Caracterización morfoestructural y faneróptico del bovino criollo en la provincia de Manabí, Ecuador. Trabajo de fin de Master en zootecnia y gestión sostenible: ganadería ecológica e integrada. Universidad de Córdoba, Quevedo, Los Ríos, Ecuador, 67 págs. Disponible en: www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/16_12_21_tfm_Orly_fin_al.pdf (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

15. Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) (2012). – Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua (ESPAC). INEC, Quito, Ecuador, 52 págs. Disponible en: www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-espac-2012/ (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

16. Lwanga S.K. & Lemeshow S. (1991). – Determinación del tamaño de las muestras en los estudios sanitarios. Manual práctico. OMS, Ginebra, Suiza, 80 págs. Disponible en: www.who.int/iris/handle/10665/37589 (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

17. Mejía Martínez K. & Lemus Flores C. (2012). – Comparación de las pruebas rosa de bengala y rivanol con elisa para el diagnóstico de brucelosis bovina. *Rev. Electrón. Vet.*, **13** (2), 14 págs. Disponible en: www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020212/021202.pdf (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

18. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (2014). – Leptospirosis. *En* Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres, Capítulo 2.1.12. OIE, París, Francia, 16 págs. Disponible en: www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.01.12_Leptospirosis.pdf (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

19. Environmental Systems Research Institute (ESRI) (2009). – ArcGIS 9.3.1. ESRI, Redlands, California, Estados Unidos de América. Descripción general disponible en: www.esri.com/en-us/arcgis/about-arcgis/overview (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

20. Piauilino Campos Â., Higino Miranda D.F., Soares Rodrigues H.W., da Silva Carneiro Lustosa M., Chaves Martins G.H., Bezerra Barradas Mineiro A.L., Castro V., Santos Azevedo S. & Medeiros de Sousa Silva S.M. (2017). – Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in cattle, sheep, and goats at consorted rearing from the state of Piauí, northeastern Brazil. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, **49** (5), 899–907. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1255-2>.

21. Barrett D., Parr M., Fagan J., Johnson A., Tratalos J., Lively F., Diskin M. & Kenny D. (2018). – Prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine herpes virus 1 (BHV 1), leptospirosis and neosporosis, and associated risk factors in 161 Irish beef herds. *BMC Vet. Res.*, **14**:8. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1324-9>.

22. Pulido-Medellín M., Díaz-Anaya A. & Giraldo-Forero J. (2017). – Determinación de *Leptospira* spp. en humanos y bovinos pertenecientes al municipio de Toca, Boyacá. *Vet. Zootec.*, **11** (2), 55–66. <https://doi.org/10.17151/vetzo.2017.11.2.5>.

23. Román-Cárdenas F. & Chávez-Valdivieso R. (2016). – Prevalencia de enfermedades que afectan la reproducción en ganado bovino lechero del cantón Loja. *Rev. Cent. Estud. Desarr. Amaz.*, **6** (1), 83–90. Disponible en: <http://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/65> (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

24. Ensuncho-Hoyos C., Rodríguez-Rodríguez V., Pérez-Doria A., Vergara O. & Calderón-Rangel A. (2017). – Epidemiology behavior of leptospirosis in Ciénaga de Oro, Córdoba (Colombia). *Trop. Anim. Hlth Prod.*, **49** (7), 1345–1351. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1332-6>.

25. Macías Rodríguez E.G. (2003). – Prevalencia de brucelosis, tuberculosis, leptospirosis y ántrax en los bovinos faenados en los camales de El Empalme, Pichincha y Quevedo desde 2001 a 2003. Tesis de grado previo a la obtención del título de: Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Manabí, Ecuador, 91 págs. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3771> (fecha de consulta: 10 de julio de 2018).

26. Balamurugan V., Thirumalesh S.R.A., Veena S., Alamuri A., Nagalingam M., Sridevi R., Govindaraj G.N., Hemadri D., Gajendragad M.R. & Rahman H. (2016). – Investigation on the distribution of *Leptospira* serovars and its prevalence in bovine in Konkan region, Maharashtra, India. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, **4** (2s), 19–26. <https://doi.org/10.14737/journal.aavs/2016/4.2s.19.26>.

27. Patel J.M., Prasad M.C., Vihol P.D., Kalyani I.H., Prajapati M.G., Parmar H.C., Varia R.D. & Patel K.M. (2017). – Seroprevalence of *Leptospira hardjo* in cattle of Gujarat, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, **6** (11), 1304–1310. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.156>.

28. Arent Z.J., Gilmore C., San-Miguel Ayanz J.M., Quevedo Neyra L. & García-Peña F.J. (2017). – Molecular epidemiology of *Leptospira* serogroup *Pomona* infections among wild and domestic animals in Spain. *EcoHealth*, **14** (1), 48–57. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1210-8>.

29. Pittavino M., Dreyfus A., Heuer C., Benschop J., Wilson P., Collins-Emerson J., Torgerson P.R. & Furrer R. (2017). – Data on *Leptospira interrogans* sv *Pomona* infection in meat workers in New Zealand. *Data in Brief*, **13**, 587–596. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2017.05.053>.

30. Romero M.H., Sánchez J.A. & Hayek L.C. (2010). – Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en población urbana humana y canina del Departamento del Tolima. *Rev. Salud Pública*, **12** (2), 268–275. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642010000200010>.

31. Vado-Solís I.A., Cárdenas-Marrufo M.F., Laviada-Molina H., Vargas-Puerto F., Jiménez-Delgadillo B. & Zavala-Velázquez J.E. (2002). – Estudio de casos clínicos e incidencia de leptospirosis humana en el estado de Yucatán, México durante el período 1998 a 2000. *Rev. Bioméd.*, **13** (3), 157–164. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v13i3.312>.

32. Van Balen J., Hoet A., D'Pool G., Gil M., Escalona F. & Díaz D. (2009). – Análisis retrospectivo de las pruebas diagnósticas de leptospirosis bovina procesadas en la unidad de investigación y diagnóstico de leptospirosis de la Universidad del Zulia, 1998–2001. *Rev. Cient-Fac. Cien. V.*, **19** (6), 598–606. Disponible en: www.researchgate.net/publication/242420836_Retrospective_Analysis_of_Bovine_Leptospirosis_Diagnostic_Tests_Performed_at_the_Research_and_Diagnosis_Unit_of_Leptospirosis_of_Zulia_University_1998-2001_ANALISIS_RETROSPECTIVO_DE_LAS_PRUEBAS_DIAG (fecha de consulta: 13 de marzo de 2018).

33. Betancur Hurtado C., Orrego Uribe A. & González Tous M. (2013). – Seroepidemiología de la leptospirosis en bovinos con trastornos reproductivos en el municipio de Montería, Colombia. *Rev. Med. Vet.*, **26**, Artículo 8, 47–55. <https://doi.org/10.19052/mv.2633>.

34. Patel J.M., Vihol P.D., Prasad M.C., Kalyani I.H., Raval J.K., Patel K.M., Thirumalesh S.R.A. & Balamurugan V. (2014). – Seroepidemiological pattern of leptospirosis in bovine of South Gujarat, India. *Vet. World*, **7** (11), 999–1003. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.999-1003>.

35. Dreyfus A., Odoch T., Alinaitwe L., Rodriguez-Campos S., Tsegay A., Jaquier V. & Kankya C. (2017). – Cross-sectional serological survey for *Leptospira* spp. in beef and dairy cattle in two districts in Uganda. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **14** (11), 1421. <https://doi.org/10.3390/ijerph14111421>.

36. Chadsuthi S., Bicout D.J., Wiratsudakul A., Suwanchaen D., Petkanchanapong W., Modchang C., Triampo W., Ratanakorn P. & Chalvet-Monfray K. (2017). – Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010–2015. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **11** (2), e0005228. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005228>.

37. Panwala T.H. (2017). – Epidemiological study on human, cattle and rodent leptospirosis in South Gujarat region of India. *Ann. Pathol. Lab. Med.*, **4** (5), A-476–A-481. <https://doi.org/10.21276/APALM.1282>.