

**Determinación de la frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp en primates de una Fundación Zoológica en Cundinamarca Colombia**

Daniela Carvajal Alvarado  
Valeria Fohadt Galvis Torres

Universidad Antonio Nariño  
Medicina Veterinaria  
2020

**Determinación de la frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp en primates de una Fundación Zoológico en Cundinamarca Colombia**

Daniela Carvajal Alvarado  
Valeria Fohadt Galvis Torres

Trabajo de grado III

Directora  
Liliana Maria Rojas Santos M.V. MSc

Universidad Antonio nariño  
Medicina veterinaria

2020

## Contenido

1. Planteamiento del problema y justificación.....	6
2. Objetivos.....	9
3. Marco teórico.....	10
3.1 Características <i>leptospira spp</i> .....	10
3.2 leptospirosis.....	11
3.3 <i>Leptospira spp</i> en animales silvestres.....	21
4. Materiales y métodos.....	23
4.1 Localización.....	23
4.2 Población.....	23
4.3 Muestra.....	24
4.4 Características de la unidad ecológica.....	25
4.5 Diseño estadístico.....	27
4.5.1 Unidad de muestra.....	27
4.5.2 Tipo de estudio.....	28
5. Resultados.....	29
6. Discusión.....	34
7. Conclusión.....	39
8. Recomendaciones.....	40
9. Bibliografía.....	41

## Índice de figuras

Figura 1. Patogenia de la leptospirosis.....	15
Figura 2. Reacción de la prueba de micro aglutinación microscópica.....	20
Figura 3. Evidencia fotográfica de los sujetos de estudio.....	24
Figura 4. Descripción del diseño de estudio para diagnostico.....	26
Figura 5. Forma utilizada para obtener el tipo de muestra.....	27

## Índice de tablas

Tabla 1: Resumen de los serogrupos y serovares más representativos de la especie <i>L. interrogans</i> .....	11
Tabla 2: Especies de primates muestreadas.....	29
Tabla 3: Tabla de resultados.....	32

## 1. Planteamiento del problema y justificación

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana causada por bacterias patógenas del género *Leptospira* que afecta humanos y animales y se constituye como una de las zoonosis de distribución mundial más conocida; sin embargo, afecta con mayor frecuencia países tropicales (Instituto Nacional de Salud (INS), 2016). Su transmisión se da al tener contacto directo o indirecto con orina de animales infectados, suelos, aguas o alimentos contaminados (Bello, S., 2007-2011).

Las *Leptospiras* son espiroquetas de alrededor de 0,1  $\mu$ m de diámetro, por 6 a 20 micras de longitud e incluyen tanto especies saprofitas y patógenas que comprenden el género del mismo nombre, y pertenece a la familia *Leptospiraceae*, orden Spirochaetales (Adler, B., & de la Peña Moctezuma, A., 2010). Tradicionalmente han sido clasificadas en dos especies tomando como base sus determinantes antigénicos; la mayoría de *Leptospiras* patógenas se agruparon dentro del «complejo interrogans» (después *L. interrogans* sensu lato), las otras se clasificaron en el «complejo biflexa» (después *L. biflexa* sensu lato) que agrupa a las saprofitas principalmente (M. Fowler, 2012).

La leptospirosis es una enfermedad emergente mundialmente conocida (Bello, S., Rodríguez, M., Paredes; 2007-2011), en esta enfermedad se puede incluir como reservorios todos los animales de vida silvestre libre o en cautiverio (Zamora, J., & Riedemann, S;

1999). A pesar de que exista poca información sobre la prevalencia de leptospirosis en animales silvestres en cautiverio, hay una amplia entrada de enfermedades zoonóticas a colecciones zoológicas y centros de recepción de fauna debido a que muchos de los animales tienen orígenes ecológicos diferentes y en algunas ocasiones antecedentes epidemiológicos desconocidos; siendo esto la oportunidad de propagar una amplia gama de enfermedades infecciosas (W. Lilenbaum, 2002). También 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 (Romero, M. H., Sánchez, J. A., & Hayek, L. C., 2010).

Ejemplo de ello es el reporte poco frecuente de leptospirosis en primates no humanos (Lilenbaum, W., Monteiro, R. V., Ristow, P., Fraguas, S., Cardoso, V. S., & Fedullo, L. P. L., 2002); a pesar de que se ha comprobado que actúan como portadores renales del patógeno, lo cual los convierte en un riesgo para los animales de zoológicos y de laboratorio, al igual que para los trabajadores, los veterinarios y los demás primates. (Scarcelli, E., Piatti, R. M., Fedullo, J. D. L., Simon, F., Cardoso, M. V., 2003).

Esto adquiere más relevancia, ya que estas especies pueden actuar como fuente principal de la enfermedad o como reservorio y algunos de los habitantes de Colombia tienen un comercio interno con animales silvestres considerándolos mascotas (Chomel, B.B., Belotto, A., 2007).

Una de las actividades que se realiza para el control de la enfermedad en fauna silvestre es la vigilancia de los animales antes de salir de un proceso de rehabilitación, para lo cual se requiere de diagnóstico basado en pruebas con la suficiente capacidad para detectar con certeza los animales positivos a la infección (Romero, M., Astudillo, et al., 2012).

Entre las pruebas diagnósticas descritas para la leptospirosis, la microaglutinación (MAT) resulta ser la “Gold” estándar empleada para detección acertada de *Leptospira*, los anticuerpos detectados en suero reaccionan a antígenos vivos del patógeno (Camargo, 2014). Es la prueba serológica más ampliamente utilizada y constituye la prueba de referencia frente a la que se evalúan todas las otras pruebas serológicas y se utiliza en las comprobaciones para la importación/exportación de animales e producción (O. I. E., 2012).

Con este documento se busca identificar la frecuencia de presentación de anticuerpos para *Leptospira* en primates por medio de MAT, y pretende contribuir con el diagnóstico de la enfermedad y el riesgo asociado con la exposición constante entre estos animales y los seres humanos.

## 2. Objetivos

### General

Evaluar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira Hardjo prajitno*, *L. Hardjo bovis*, *L. Tarassovi*, *L. Pomona*, *L. Ballum*, *L. Icterohamorrhagiae*, *L. Autumnalis*, *L. Grippotyphosa*, *L. Bratislava*, *L. Canicola*, *L. Copenhageni*, *L. Panama*, *L. Cynoptery*, *L. Hebdomanis*, *L. Wolffi* Y *L. Sejroe*. En primates que se encuentran en las instalaciones de la fundación zoológico de Santacruz en el municipio de San Antonio del Tequendama en Cundinamarca, Colombia.

### Específicos

- Determinar la presencia y la frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira spp.* en primates que se encuentran en las instalaciones de la fundación zoológico de Santa cruz por medio de la prueba de microaglutinación (MAT).
- Señalar la importancia de la realización de pruebas diagnósticas en animales expuestos a contacto constante con seres humanos.

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Características de la *Leptospira* spp.

La *Leptospira* es una bacteria del género espiroqueta, se caracteriza por tener una forma helicoidal y flexible, de una longitud de 6 a 20 nanómetros y un diámetro de 0.1 nanómetros, uno de los dos extremos tiene una forma típica de gancho. (N. Caro, 2007). tiene una gran movilidad que le viene dada por un axostilo, el cual está formado por dos filamentos axiales insertados en un disco o protuberancia al final del cuerpo citoplasmático y cuyo extremo libre está unido a la región media de la bacteria estas características se observan en microscopio electrónico (P. Levelt, 2004).

La presencia de *Leptospira* spp en fauna silvestre ha sido registrada a través de los años y se considera que prácticamente cualquier especie de mamífero tanto terrestre como acuático puede ser un reservorio de este microorganismo. No obstante, la documentación de la sintomatología de leptospirosis es rara en fauna silvestre (E. Scarcelli et al., 2003).

Las especies de *Leptospira* se han dividido en un largo número de serovares definidos por aglutinación luego de la absorción cruzada en antisuero de conejo con antígenos heterologos (Hernández 2010). La unidad taxonómica en *Leptospira* es el serovar, ambos complejos (*L. interrogans* y *L. biflexa*), muchos serovares dentro de un serogrupo son representados por una sola cepa de referencia (P. Levelt, 2004).

Tabla 1.

*Resumen de los serogrupos y serovares más representativos de la especie L. Interrogans*

Serogrupo	Serovares más representativos
<b>Australis</b>	<i>australis, bratislava</i>
<b>Autumnalis</b>	<i>autumnalis</i>
<b>Ballum</b>	<i>ballum, castellonis</i>
<b>Bataviae</b>	<i>bataviae</i>
<b>Canicola</b>	<i>canicola</i>
<b>Cynopteri</b>	<i>cynopteri</i>
<b>Grippotyphosa</b>	<i>grippotyphosa</i>
<b>Hebdomadis</b>	<i>hebdomadis</i>
<b>Icterohaemorrhagiae</b>	<i>copenhagheni, icterohaemorrhagiae</i>
<b>Javanica</b>	<i>javanica, poi</i>
<b>Louisiana</b>	<i>louisiana</i>
<b>Mini</b>	<i>swajizak</i>
<b>Pomona</b>	<i>pomona</i>
<b>Pyrogenes</b>	<i>pyrogenes</i>
<b>Sarmin</b>	<i>sarmin</i>
<b>Sejroe</b>	<i>hardjo, saxkoebing, sejroe, wolffi</i>
<b>Shermani</b>	<i>shermani</i>
<b>Tarassovi</b>	<i>tarassovi</i>

Tomada de P. Levelt, 2004.

### 3.2 Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial que tiene gran impacto o desarrollo en el campo de la salud pública, es una zoonosis ampliamente distribuida que afecta animales domésticos y animales silvestres, y que tiene al hombre como punto final en su cadena epidemiológica. (Romero. Sanchez. & Hayek, 2010) Se presenta con mucha frecuencia en zonas del trópico debido a condiciones o factores climáticos, medio-ambientales y sociales los cuales favorecen su modo de transmisión, actualmente la epidemiología de la enfermedad ha surgido cambios especialmente en zonas ocupacionales y rurales donde los factores han disminuido, pero en zonas urbanas y en poblaciones de riesgo se han aumentado los reportes de brotes de *Leptospira* siendo esta considerada una de las enfermedades infecciosas reemergentes (Góngora., Parra., Aponte., Gómez, 2008 ).

Los reservorios de las *Leptospiras* son animales que mantienen una relación de comensales con las bacterias y no sufren o sufren muy levemente la enfermedad; transfieren las *Leptospiras* a sus crías en útero o durante el periodo neonatal, favoreciendo la cadena de transmisión. Los portadores son aquellos animales que mantienen las *Leptospiras* viables y con capacidad de multiplicarse en sus riñones, excretándolas intermitentemente por la orina; muchos de estos pueden tener serología negativa. Los reservorios más importantes son mamíferos pequeños que pueden transmitir la infección a los animales domésticos y a los humanos (P. Levelt, 2004).

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 (Andicoberry., García-Peña., Ortega-Mora., 2001).

Las diferentes cepas patógenas de *Leptospiras* pueden afectar potencialmente, a un gran número de especies animales, que actuarán como hospedadores de mantenimiento o accidentales en función del serovar considerado (Verdasquera, 2010).

Se considera como hospedador de mantenimiento a aquel que asegura la perpetuación de una población determinada de agentes infecciosos, sin la intervención de ningún hospedador accidental, por tanto, la población de mantenimiento será aquella población de una o varias especies animales que actúan como reservorio continuo de un serovar, en un ecosistema determinado (Verdasquera, 2010).

Los reservorios más importantes son mamíferos pequeños que pueden transmitir la infección a los animales silvestres, domésticos y por ende a los humanos (P. Levelt, 2004), pudiendo ser una especie animal reservorio de varios serovares y diferentes especies animales serlo de un mismo serovar (Verdasquera, 2010). Se han aislado serovares patógenos de fuentes de agua en las regiones tropicales. La supervivencia de *Leptospiras* patógenas en el ambiente depende de varios factores, como el pH, temperatura, y la presencia de compuestos inhibitorios (P. Levelt, 2004). Estos hospedadores de mantenimiento actúan de fuente de infección del serovar que mantienen para otros mamíferos de la misma u otra especie y se caracterizan por su gran receptividad a la infección por el serovar que mantienen, la relativa baja patogenicidad del microorganismo en el hospedador, la presencia de infección renal con leptospiruria prolongada, en algunos hospedadores, mantenimiento de las *Leptospiras* en el tracto genital, transmisión eficaz de la infección a los animales de la misma especie (Verdasquera, 2010).

La transmisión de la infección entre hospedadores de mantenimiento se realiza independientemente de las condiciones climáticas, pero se encuentra beneficiada en el caso de terrenos húmedos y suelos alcalinos (Zunino, E., & Pizarro, R. 2007). Sin embargo, en el caso de la transmisión de un hospedador de mantenimiento a un hospedador accidental o entre hospedadores accidentales, será necesario que las condiciones ambientales sean las adecuadas para la supervivencia de las *Leptospiras* fuera del hospedador (Verdasquera, 2010).

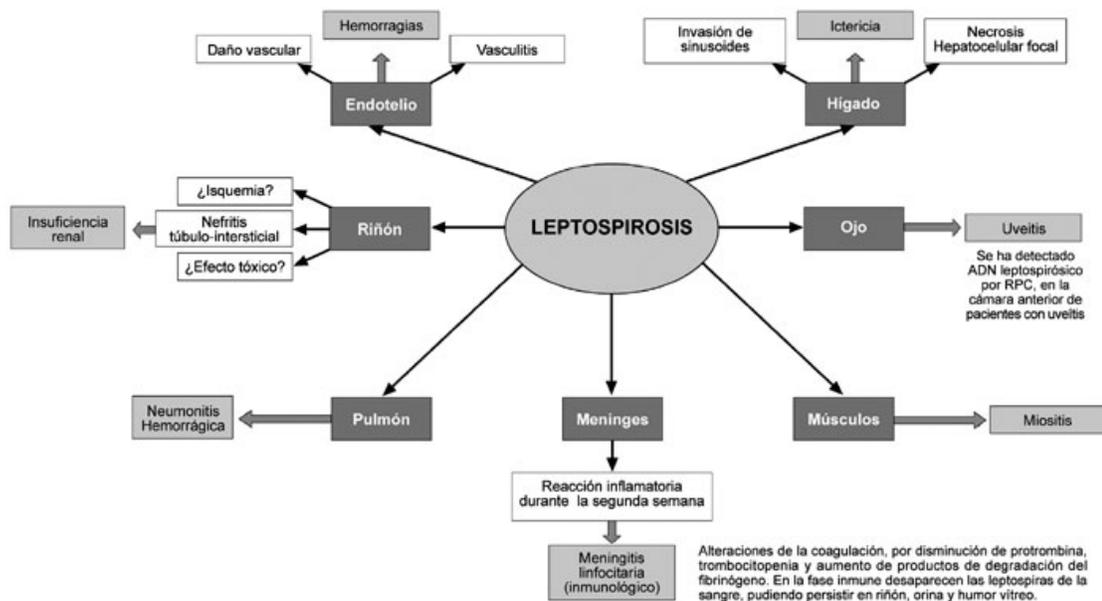
La infección resulta por la exposición o contacto con la orina infectada de mamíferos portadores, ya sea directamente o por vía de la contaminación con tierra o agua. Las puertas

usuales de entrada de la *Leptospira* son las abrasiones, cortes en la piel y por vía conjuntival; la infección también puede darse después de la inmersión prolongada en el agua. La transmisión en el agua se ha documentado en muchos brotes de leptospirosis. Se ha reportado también que por la inhalación de agua o por aerosoles y el ingreso hacia las vías respiratorias se puede producir la infección. Raramente la infección puede darse por mordeduras de animales (Verdasquera, 2010). El hallazgo de *Leptospiras* en glándula salival nos permite pensar en la posibilidad de la transmisión de la enfermedad a través de las mordeduras (Zunino, E., & Pizarro, R. 2007). La transmisión directa entre los humanos ocasionalmente se ha demostrado porque el pH bajo de la orina limita la sobrevivencia de la *Leptospira* después de la excreción; También se ha reportado la transmisión por relaciones sexuales (Verdasquera, 2010).

El periodo de incubación es de 7 a 26 días, con un promedio de 12 días. El microorganismo penetra a través de la piel reblandecida por el agua, por excoriaciones o por mucosas y alcanza rápidamente el torrente sanguíneo, diseminándose a todos los órganos, incluyendo líquido cefalorraquídeo (LCR) y humor acuoso; su movimiento en tirabuzón y la producción de hialuranidasa. El papel que desempeñan las diferentes toxinas de este microorganismo no están del todo claras, aunque la patogenia de la enfermedad se describe desde el año 1964 y entre ellas se caracterizan como probables fuentes de virulencia las enzimas colagenasa, hialuronidasa y fosfolipasa (Zunino, E., & Pizarro, R. 2007), pueden explicar la penetración a estos sitios. En la primera semana, la *Leptospira* se puede encontrar en sangre y LCR, sin ocasionar síntomas neurológicos. Los órganos más frecuentemente afectados incluyen al hígado, riñón, cerebro y músculos. Dentro de las

complicaciones está la disfunción hepática que se manifiesta por la disminución de la excreción de la bilirrubina como alteración más frecuente, disminución de los niveles de albúmina sérica, incremento de los niveles de inmunoglobulinas y disminución en la producción de los factores dependientes de la vitamina K (Verdasquera, 2010).

Figura 1. Patogenia de la *leptospirosis*



. Zunino, E., & Pizarro, R. 2007.

La infección por *Leptospiras* puede ser asintomática y su ocurrencia se comprueba por la seroconversión. De esta manera puede generar una enfermedad febril anictérica auto limitada o expresarse en su manera más severa con la alteración de un órgano o la falla de múltiples órganos lo que con lleva a la manifestación de una enfermedad grave y letal. De manera habitual el cuadro clínico se inicia de forma agresiva con fiebre, escalofríos y depresión general del organismo (Zunino, E., & Pizarro, R. 2007).

Puede afectar el ganado, ovejas, cabras, ciervos y la mayoría de camélidos del mundo causando abortos asintomáticos, anorexia, septicemia (principalmente en neonatales) con signos de hemolisis extravascular (Miller, 2012).

Los signos de la leptospirosis pueden variar desde una enfermedad subclínica hasta una epidemia de leptospirosis asociada con hemorragia pulmonar, falla renal y también ictericia; tanto en animales domésticos como en animales silvestres de vida libre se pueden observar estados clínicos normales o signos de enfermedad atribuibles a infecciones de tracto urinario y tracto reproductivo (M. Fowler, 2012).

En animales silvestres en cautiverio, la leptospirosis es a menudo una infección insidiosa que puede resultar en la enfermedad renal crónica y las altas tasas de fracaso reproductivo (Miller, 2012).

Los signos más frecuentes pueden ser (Zunino, E., & Pizarro, R. 2007):

- Fiebre (animales y humanos)
- Mialgias (humanos)
- Cefalea o en animales heat preasing
- Alteraciones gastrointestinales (Animales y humanos)
  - Vomito
  - Alteración del tránsito intestinal
  - Dolor abdominal
- Inyección conjuntival (humanos)

Debido a la amplia diversidad de los signos clínicos, el diagnóstico de la leptospirosis puede llegar a ser complicado debido a características intrínsecas de las *Leptospiras* y la manera en la cual desarrollan su epidemiología, en la actualidad se cuenta con varias pruebas que de realizarse sería exitosa la búsqueda de la bacteria, aunque antes de eso se deben aclarar una buena serie de datos para su confirmación de tal manera que se oriente a un diagnóstico. La determinación de leptospirosis depende de una variedad de ensayos de laboratorio, tales como la detección de anticuerpos específicos por prueba microscópica de aglutinación (MAT), por ensayo de hemaglutinación indirecta (IHA) o por ensayos inmunoenzimáticos (ELISA); las *Leptospiras* o sus componentes se pueden detectar en la orina o en sangre de los tejidos también por medio de microscopía de campo oscuro o inmuno-tinción o PCR (Pena, J., 2012).

El diagnóstico confirmatorio se basa en el aislamiento y para su intento se cultivan fluidos y órganos en los medios especiales para *Leptospira* (Brihuega, B. 2008).

La PCR (polimerasa chain reaction) identifica el ADN de manera específica con elevada sensibilidad y en corto período de tiempo a partir de cualquier material clínico. La PCR tiene como ventajas la confirmación rápida del diagnóstico en la fase inicial de la enfermedad y la detección del ADN del microorganismo, no dependiendo de la viabilidad del agente. Esta es una técnica muy sensible, pero la combinación de dos métodos directos

de diagnóstico es mejor y debe ser asociado a la microaglutinación (MAT) (Brihuega, B. 2008).

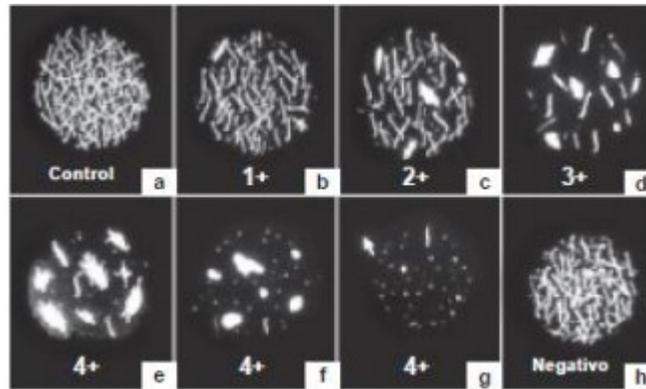
Otras pruebas conocidas como técnicas indirectas, basadas en la detección de anticuerpos frente a las *Leptospiras*, y técnicas directas que se basan en la detección de *Leptospiras* o sus antígenos y/o ácidos nucleicos en los tejidos y/o fluidos corporales son según Verdasquera, 2010:

- Inmunohistoquímica: Es una técnica de baja sensibilidad y se considera poco útil ya que se necesita de un gran número de microorganismos presentes en la
- Observación en microscopio de campo oscuro: Se realiza para la observación de *Leptospira* en fluidos orgánicos, no es muy específica ya que necesita de un gran número de microorganismos para que la bacteria pueda visualizarse
- Tinciones especiales: Normalmente se utilizan para la demostración de *Leptospira* en animales que presuntamente murieron por leptospirosis; se puede usar tinción argénica en las cuales se pueden considerar diferentes técnicas
- Inmunofluorescencia: Se utiliza en el diagnóstico de muestras de orina y en el caso de abortos, la única desventaja es que necesita de la fabricación de sueros poli clonales de buena calidad y la utilización de microscopio de fluorescencia.
- Prueba de microaglutinación: La prueba MAT en la que se emplean antígenos vivos es la prueba serológica más ampliamente utilizada.

Constituye la prueba de referencia frente a la que se evalúan todas las otras pruebas serológicas y se utiliza en las comprobaciones para la importación/exportación. Para obtener una sensibilidad óptima deben emplearse antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos que existen en la región en la que se han encontrado los animales y, preferiblemente, cepas que representen a todos los serogrupos conocidos (O. I. E., 2012).

La especificidad de la MAT es buena; normalmente los anticuerpos frente a otras bacterias no dan reacción cruzada con *Leptospira* de manera significativa. Sin embargo, existen reacciones serológicas cruzadas significativas entre serotipos y serogrupos de *Leptospira* y es probable que un animal infectado con un serotipo tenga anticuerpos frente al serotipo infectante que dé una reacción cruzada con otros serotipos (normalmente a un nivel más bajo) en la MAT (O'brien J.J., 1982). Por tanto, la serología no puede utilizarse para identificar definitivamente la identidad del serotipo infectante en una infección individual o en un brote, y requiere el aislamiento del agente. Además, los animales que han sido vacunados contra la leptospirosis pueden tener anticuerpos frente a los serotipos presentes en la vacuna utilizada. Por tanto, es especialmente importante considerar el historial de vacunación de los animales objeto de estudio (Ellis W.A. et al., 1982).

Figura 2: Reacción de la prueba de micro aglutinación microscópica (MAT)



a) Lamina control, b) Lamina con 25% de aglutinación, c) Lamina con 50% de aglutinación, d) Lamina con 75% de aglutinación, e) Lamina con 100% de aglutinación, f) Lamina con 100% de aglutinación y lisis celular, g) Lamina con 100% de lisis celular, h) Lamina negativa. (Céspedes Z.M., 2005).

- Prueba de aglutinación microscópica con antígeno muerto (MSAT): Se utilizan *Leptospiras* centrifugadas y formalizadas, re suspendidas a una cierta densidad estándar, con una mezcla de “pool” de antígenos de varios serogrupos. A diferencia de MAT la MSAT es menos específica y se puede producir mayor reacción cruzada (Pena, J., 2012).
- Prueba de ELISA: Se utiliza tanto para la detección de anticuerpos en leche como en suero, permitiendo, además, diferenciar entre IgG e IgM. Además, presenta otras ventajas frente al MAT, como es el hecho de no presentar riesgo sanitario para los operarios, ser de fácil estandarización y ser una prueba en la que las reacciones cruzadas son poco frecuentes. Sus principales desventajas son que normalmente son serovar específicos, con lo cual no obtendremos información acerca de una posible

infección por otros serovares, y que no permite diferenciar entre anticuerpos vacúnales y de infección (Verdasquera, 2010).

### **3.3 Leptospira en animales silvestres**

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica reemergente de importancia global que puede llegar a ser producida en zonas urbanas de países industrializados y países en desarrollo (M. Fowler, 2012).

Los síntomas de leptospirosis observados en infecciones naturales de primates generalmente son leves, pasan desapercibidos; limitándose a respuestas febriles, conjuntivitis e inquietud, siendo este un síndrome agudo (Silva, C. D. S., Gírio, R. J. S., Guerra Neto, G., Brich, M., Santana, L. A. D. S., 2010).

Generalmente los serovares evaluados en los primates según el laboratorio internacional de referencia para el Diagnóstico de la Leptospirosis del Royal Tropical Institute, Ámsterdam (Holanda) los 21 serovares de *Leptospira* que se evalúan en primates son: *bataviae*, *mini*, *autumnalis*, *canicola*, *shermani*, *icterohaemorrhagiae*, *cynopteri*, *australis*, *celledoni*, *gryppotyphosa*, *hebdomanis*, *javanica*, *manhao*, *pomona*, *pyrogenes*, *sejroe*, *tarassovi*, *bataviae*, *patoc*, *hurstbridge* y *djasiman* (Romero, M., 2011).

Otro de los mecanismos conocidos de transmisión de muchos de los patógenos zoonóticos es su vía de contagio por transmisión de un animal hacia el hombre, de manera directa o mediada por algunos reservorios, en donde la fauna silvestre es el principal

reservorio actuando como hospedador de estos agentes causales, y estableciendo que rara vez se den transmisiones entre personas. En general, en todas las enfermedades emergentes y reemergentes potencialmente zoonóticas, la vida silvestre y los reservorios transmisores de enfermedad, juegan un rol determinante con una tendencia a aumentar en el tiempo (Adler, B., & de la Peña Moctezuma, A., 2010).

La leptospirosis es una de las enfermedades bacterianas de mayor incidencia en animales domésticos, animales silvestres en cautiverio y animales silvestres de vida libre, uno de los principales reservorios son los roedores; aunque afecta a la mayoría de mamíferos como por ejemplo los primates, los caninos y felinos sean domésticos o silvestres, a los bovinos, caprinos, ovinos, ciervos, camélidos, mamíferos acuáticos; también hay reporte de que puede infectar anfibios y reptiles (E. Miler, 2012).

Algunos estudios han estimado que el 60 % de los patógenos emergentes que afectan al hombre son zoonóticos y de éstos, más del 70 % tienen origen en la fauna silvestre (M. Romero et al, 2011).

## 4. Materiales y métodos

### 4.1. Localización

La investigación fue realizada en la Fundación Zoológico Santacruz. Esta se encuentra ubicada en el municipio de San Antonio del Tequendama en el departamento de Cundinamarca; coordenadas geográficas 35 01' N, 74° 19 59' 0, y a una altitud de 1.860 m.s.n.m (Valdivieso, D. 1964).

### 4.2 Población

La población total de animales en la fundación zoológico de Santa Cruz consta de 800 individuos divididos por orden en: carnívoros, herbívoros, roedores, primates, herpetos, artrópodos y aves.

En la población total de primates se encuentran 13 diferentes especies, dentro de las cuales están : *Ateles fusciceps robustus*, *Cebus albifrons*, *Cebus capucinus*, *Ateles hybridus*, *Saguinus oedipus*, *Papio hamadryas*, *Sanguinus leucopus*, *Cebud Apella*, *Saimiri scivreus*, *Callicebus ornatus*, *Aotus spp*, *Lagothrix lagotrocha*, *Pithecia monachus*.

### 4.3 Muestra

La muestra tomada para este estudio consta de 24 primates pertenecientes a las especies *Cebús albifrons*, *Sapajus apella*, *Ateles fusciceps*, *Ateles hybridus*, *Pithecia monachus*, *lagothrix lagotricha*, *Papio hamadryas*, *callicebus ornatus* *Aotus s.p* y *Saguinus oedipus* alojados en la Fundación Zoológico Santacruz.

Figura 3. Individuos del estudio



Perez C, 2018



Perez C, 2018

#### 4.4 Caracterización de la Unidad Ecológica

Los animales se encontraban alojados en recintos por especies, por lo cual se realizó restricción física siendo primero separados en zonas apartadas del resto del grupo. En cuanto al manejo de los animales se usaron determinados elementos de protección de acuerdo con lo estipulado por la Secretaria Distrital de Salud (2008) para la toma de muestras en animales silvestres como son:

- Protección ocular: gafas o mascarilla con visera
- Mascarilla o tapabocas
- Guantes de látex o vinilo
- Bata
- Contenedor para especímenes, a prueba de fugas y de fácil sellamiento

Posteriormente se realizó restricción química con una mezcla de Ketamina y Midazolam (KETAMID®) a dosis de 5mg/Kg de Ketamina (Fowler., 2012; Jiménez-Nicholls., 2010;).

El vaso usado para la punción fue la vena femoral, y se tomó un volumen de 0.5ml a 1ml de acuerdo al peso del animal. Las muestras fueron puestas en tubos vacutainer de tapa roja sin anticoagulante, y fueron dejadas en ángulo de 45 grados por 15 minutos para lograr la contracción del coagulo y la separación del suero. Posteriormente se separó el suero y se refrigeró a 4°C para ser remitidas al laboratorio de diagnóstico del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) donde se realizó la prueba de MAT que analiza los siguientes

serovares: *Hardjo prajitno*, *Hardjo bovis*, *Tarassovi*, *Pomona*, *Ballum*, *Ictero hemorrhagiae*, *Autumnalis*, *Grippotyphosa*, *Bratislava*, *Canicola*, *Copenhagani*, *Panama*, *Cynoptery*, *Hebdomanis*, *Wolffi*, *Sejroe*. (Instituto Colombiano Agropecuario., 2016).

Figura 4. Descripción del diseño de estudio para diagnóstico

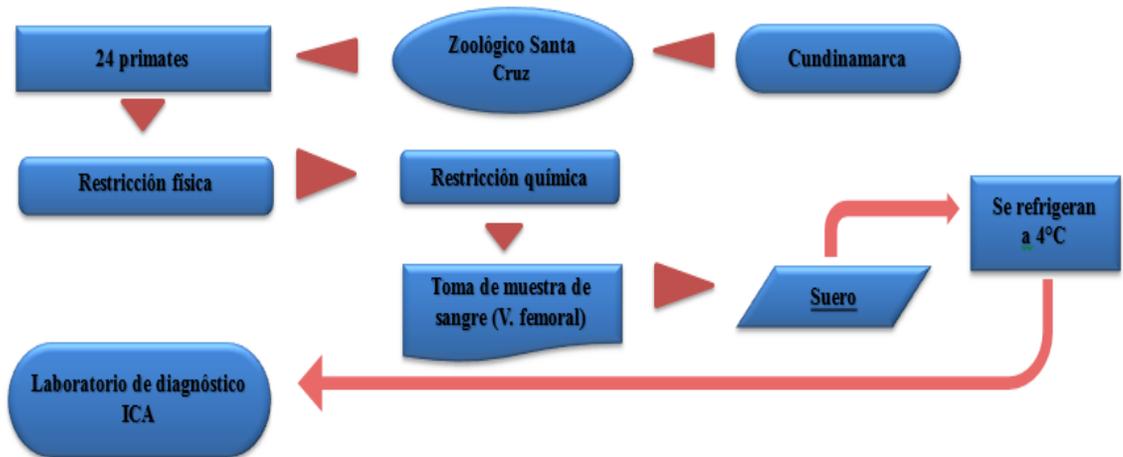


Figura 5. Forma de tomar la muestra



Perez C, 2018

#### **4.5 Diseño estadístico**

##### ***4.5.1 Unidad de muestra***

Teniendo en cuenta que el Zoológico cuenta con el permiso marco de acceso a recursos biológicos otorgado por la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR) Se procedió a la toma de muestras serológicas de 24 primates de las especies *Cebús albifrons*, *Sapajus apella*, *Ateles fusciceps*, *Ateles hybridus*, *Pithecia monachus*, *lagothrix lagotricha*, *Papio hamadryas*, *callicebus ornatus* y *Saguinus oedipus* sin criterios de exclusión edad, o sexo; ya que todos se encontraban en exposición bajo condiciones similares y en contacto constante con personal del zoológico.

#### ***4.5.2 Tipo de estudio***

Este estudio es un estudio transversal descriptivo, ya que mide presencia o no de anticuerpos contra *Leptospira* en la muestra poblacional en un solo momento temporal.

## 5. Resultados

El total de animales muestreados fue de 24, clasificados por especie de la siguiente forma y cantidad: *Ateles hybridus* o mono araña de cabeza parda (2)\*, *Lagothrix lagotricha* o mono churuco (1), *Ateles fusciceps* o mono araña negro (2), *Sapajus apella* o mono maicero (4), *Cebus albifrons* o mono cariblanco (3), *Papio hamdryas* o papión (1), *Aotus spp* o mono nocturno (5), *Phytecia monachus* o mono saki (1), *Callicebus ornatus* o mono viudito (1), *Cebus capucinus* o mono capuchino (2) y *Saguinus oedipus* o titi cabeza de algodón (2), todos en estado de desarrollo adulto. En cuanto al sexo, se muestrearon 6 hembras y 18 machos.

Tabla 2. Especies de primates de la fundación zoológico Santa cruz muestreadas serológicamente para el diagnóstico de *Leptospira*.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	ESTADO DE CONSERVACION	CANTIDAD
PRIMATE	Atellidae	Ateles Hybridus	Mono araña de cabeza parda	En peligro crítico	2
PRIMATE	Atellidae	Ateles fusciceps	Mono araña negro	En peligro critico	2

PRIMATE	Atellidae	Lagothrix lagotricha	Mono churuco/ mono lanudo	Vulnerable	1
PRIMATE	Cebidae	Sapajus apella	Mono maicero	Preocupación menor	4
PRIMATE	Cebidae	Cebus albifrons	Mono cariblanco	Casi amenazado	3
PRIMATE	Cebidae	Cebus capucinus	Mono capuchino	Preocupación menor	2
PRIMATE	Cercopithecidae	Papio hamdryas	Papión/babuino	Preocupación menor	1
PRIMATE	Aotidae	Aotus spp	Mono nocturno	Casi amenazado	5
PRIMATE	Pitheciidae	Phytecia monachus	Mono saki	Vulnerable	1
PRIMATE	Pitheciidae	Callicebus ornatus	Mono viudito	Vulnerable	1
PRIMATE	Callitrichidae	Saguinus oedipus	Titi cabeza de algodón	En peligro	2
TOTAL					24

Una vez obtenidas y procesadas las muestras de suero sanguíneo para su posterior análisis a través de la prueba de Microaglutinación realizada en el instituto colombiano agropecuario (ICA) de la ciudad de Bogotá, se obtuvieron los siguientes resultados:

\*Cantidad de animales muestreados por especie

Tabla 3. Tabla de resultados

# ID	Especie	Edad	Sexo	P o m o n a	C a n i c o l a	I c t e r o h e m o r r a g i e	G r y p o t y p h o s a	B r a t i s l a v a	B a l l u m	T a r a s s o v i	A u t u s n a l i s	H a r d o b o v i s	C o p e n g a g e n i	P a n a m a
1	<i>Ateles hybridus</i>	Adulto	Hembra	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	<i>Ateles hybridus</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	<i>Lagothrix lagothricha</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	<i>Ateles Fusciceps</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	<i>Ateles Fusciceps</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
6	<i>Sapajus apella</i>	Adulto	Hembra	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
7	<i>Sapajus apella</i>	Adulto	Hembra	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
8	<i>Sapajus apella</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
9	<i>Sapajus apella</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
10	<i>Cebus albifrons</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
11	<i>Cebus albifrons</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

12	<i>Cebus albifrons</i>	Adulto	Hembra	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
13	<i>Papio hamadryas</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
14	<i>Aotus sp.</i>	Adulto	Hembra	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
15	<i>Aotus sp.</i>	Adulto	Hembra	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
16	<i>Aotus sp.</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
17	<i>Aotus sp.</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
18	<i>Aotus sp.</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
19	<i>Pythecia monachus</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
20	<i>Callicebus ornatus</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
21	<i>Cebus capucinus</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
22	<i>Cebus capucinus</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
23	<i>Saguinus oedipus</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
24	<i>Saguinus oedipus</i>	Adulto	Macho	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Serovares analizados: N = Negativo

## 6. Discusión

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana de notificación obligatoria en el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública en Colombia desde el año 2007; afecta con mayor frecuencia a las personas jóvenes, en una razón entre hombres y mujeres de 9:1 (Bello et al, 2013)

Romero et al, 2012, realizaron el estudio de identificación de los serovares más frecuentes de *Leptospira* spp por la técnica de microaglutinación en una población de primates neotropicales, mantenida en condiciones de cautiverio en el zoológico de matecaña en la ciudad de Pereira. Los primates evaluados fueron 65 individuos, pertenecientes a nueve especies taxonómicas: *Ateles fusciceps*, *Cebus albifrons*, *Cebus apella*, *Cebus capucinus*, *Saimiri sciureus*, *Ateles hybridus*, *Lagothrix lagotricha*, *Saguinus oedipus* y *Saguinus leucopus*, con un resultado de 27 animales positivos a la prueba en la cual los seroreactivos obtenidos fueron los serovares de *Leptospira Autumnalis* (25%), *Ranarum* (22.9%), *Icterohaemorrhagiae* (12.5%), *Pomona* (12.5%) y *Australis* (10.4%) siendo los más aglutinados en los sueros de los primates. Las especies de monos neotropicales mono ardilla (*Saimiri sciureus*), mono lanudo (*Lagothrix lagotricha*) y tití pielroja (*Saguinus oedipus*) fueron seronegativos a la prueba. Así mismo se evaluó la presencia de la bacteria en el agua de los animales tomando 10 ml de agua de los bebederos de cinco locaciones de monos y una muestra del tanque distribuidor del zoológico Matecaña, las cuales fueron analizadas mediante

microscopía de campo oscuro, arrojando como resultado en tres de éstas visualización de formas microscópicas compatibles con *Leptospira sp.*, pero en la cual por la baja especificidad de la técnica, no fue posible establecer con certeza su naturaleza patógena o saprófita, haciendo evidente la importancia de un análisis más profundo no solo en los animales sino también en su entorno.

Por otra parte, otro estudio realizado en el país, en la ciudad de Medellín que buscaba la determinación de la frecuencia de leptospirosis en felinos y primates del parque zoológico Santa fe, incluyó para análisis 16 de 20 felinos y 27 de 62 primates. Excluyendo los tigres de Bengala (*Panthera tigris*) y algunos primates, por dificultad en el manejo, y los Marguay (*Leopardus wiedii*), por preñez, debido a que su manipulación podría poner en riesgo su gestación. A través de la prueba de microaglutinación e incluyendo los serovares Canicola, Pomona, Hardjo, Australis, Bratislava, Gryppotyphosa, Icterohaemorrhagie y Ballum se obtuvo como resultado que el 78,2% de las 43 muestras analizadas presentaron anticuerpos a dilución mayor de 1:6 para al menos una de las siete serovariedades analizadas. El serovar que presentó mayor aglutinación fue el Australis con un 22%, seguido de Icterohaemorrhagie y Ballum con el 16,6%, Pomona, Gryppotyphosa y Hardjo con el 11,1% y Canícola con el 8,3%. Demostrando que de los animales muestreados todos presentaban títulos seroreactivos a al menos 1 de los serovares analizados.

Con base en los resultados obtenidos en los estudios anteriormente descritos, se puede definir que han existido brotes en diferentes zonas del país con resultados de

aglutinación altos en los serovares estudiados y que es una bacteria de gran importancia para los centros de alto contacto entre animales y humanos la cuál debe tener un mayor seguimiento.

En países desarrollados se ha considerado un riesgo profesional para las personas que se ven expuestos a orina de animales (veterinarios, campesinos). Hoy día, la mayoría de casos reportados se relacionan con pacientes que tienen antecedentes de viajes a zonas tropicales donde han realizado reportes en agua o han tenido algún tipo de contacto con superficies con agua (LAGI, 2013).

La aglutinación macroscópica es un método fácil de realizar, se utiliza una mezcla ('pool') de antígenos de serotipos diferentes, tiene baja sensibilidad y especificidad por lo que se emplea usualmente como prueba de tamizaje (Instituto nacional de salud, 2011). Por otra parte la aglutinación microscópica (MAT), tiene una alta sensibilidad y especificidad, es la técnica más utilizada y se acepta como método de referencia según la Organización Mundial de la Salud (OMS) para confirmar la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra la *Leptospira*, pero no tiene la capacidad de discriminar las diferentes clases de inmunoglobulinas, por lo que para su interpretación se deben tomar dos muestras de suero con intervalos de 15 días, una al inicio de los síntomas y la segunda en la fase de convalecencia. El título de anticuerpos se incrementa gradualmente durante la enfermedad, títulos de 1:1600 o más indican infección reciente, un aumento de 4 veces o más del valor inicial tiene carácter confirmatorio, estos

anticuerpos disminuyen gradualmente durante la recuperación del paciente y pueden persistir en el organismo por meses (Picardeu, 2014).

Miller et al, 2011, realizaron un estudio con el fin de averiguar la variabilidad en los resultados de la prueba MAT en perros, sometiendo 18 muestras a un examen en 5 laboratorios de diagnóstico veterinario diferentes para obtener los títulos serológicos de la prueba MAT para cada perro al menos por una vez, dando como resultado diagnósticos opuestos en los diferentes laboratorios y concluyendo que aunque MAT es una prueba útil para la detección de anticuerpos contra la enfermedad las probabilidades de los resultados disminuyen para encontrar exactitud en el serogrupo infectante

Se han identificado debilidades en el proceso de vigilancia de la leptospirosis, dado por el difícil acceso a las pruebas diagnósticas y el poco conocimiento de la enfermedad por parte de los médicos en el manejo, cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento, lo que da como resultado el subregistro menor de casos, la demora en el diagnóstico y la presentación de cuadros clínicos severos. Reto clínico en el diagnóstico y tratamiento de leptospirosis (Rios, 2015)

La presentación de resultados negativos en nuestro estudio nos indica que los sujetos de muestra posiblemente no presentan anticuerpos contra los serovares examinados en la prueba realizada, sin embargo, no podemos concluir o excluir definitivamente la

ausencia de la bacteria en la sangre de los animales o la no exposición de los animales a esta, por lo que es necesario la realización de una prueba confirmatoria en búsqueda del antígeno incluyendo más animales del recinto zoológico.

Debemos también tener en cuenta que factores externos como manipulación, manejo y la forma de tomar las muestras, traslado al laboratorio y tiempo entre la toma y el examen pueden influir también a dar un resultado negativo.

## 7. Conclusiones

La leptospirosis es una enfermedad de control obligatorio, la cual no tiene la suficiente atención que requiere, se deben hacer pruebas importantes para la revisión de la salud primordialmente de aquellos individuos en constante contacto con animales y lugares que puedan representar una posibilidad de contagio.

Los animales muestreados en la prueba para la determinación de anticuerpos contra *Leptospira* arrojaron resultados negativos en los serovares examinados, lo cual indica que no se detectó presencia de anticuerpos contra la bacteria.

Aunque la prueba de microaglutinación (MAT) es una herramienta importante en el diagnóstico de esta enfermedad no es una prueba que nos pueda dar un resultado final confirmatorio, por lo cual es necesario realizar pruebas específicas para hallar el antígeno como lo puede ser una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

## **8. Recomendaciones**

Debido a la importancia de esta enfermedad, las probabilidades de presentarse un brote y el riesgo de contagio para animales y humanos es necesario resaltar las medidas de protección para prevención y correcto diagnóstico:

Principalmente las recomendaciones a nivel ambiental dirigidas a las instalaciones de la fundación zoológico se pueden basar en un correcto control de roedores, la correcta y regular limpieza de los bebederos, evitar el contacto de animales y humanos con sitios de agua estancada sucia y utilizar las medidas e implementos de protección adecuadas como botas y guantes.

Como medida para disminuir los errores que se puedan presentar a nivel laboratorial y para tener mejor manejo y confiabilidad de la prueba para correcto diagnóstico y confirmación de pruebas de detección, recomendamos la toma de muestras pareadas con un intervalo de tiempo mínimo de 15 días, el correcto manejo de pruebas para su toma, conservación y traslado al laboratorio y finalmente la realización de pruebas de tipo confirmatorio para lograr un diagnóstico final confiable.

## 9. Bibliografía

- Adler, B., & de la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary microbiology*, 140(3), 287-296.
- Alonso-Andicoberry, C., García-Peña, F. J., & Ortega-Mora, L. M. (2001). Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina (Revisión). *Invest Agr Prod Sanid Anim*, 16, 205-225.
- Bello, S., Rodríguez, M., Paredes, A., Mendivelso, F., Walteros, D., Rodríguez, F., & Realpe, M. E. (2013). Comportamiento de la vigilancia epidemiológica de la leptospirosis humana en Colombia, 2007-2011. *Biomédica*, 33, 153-160.
- Caro, N. (2007). Prevalencia de *Leptospira spp.* en equinos en la Sabana de Bogotá. Trabajo de grado para obtener el título de Médico Veterinario. Universidad de la Salle. Facultad de Medicina Veterinaria. Bogotá.
- Céspedes Z.M. 2005. LEPTOSPIROSIS. Enfermedad zoonotica reemergente. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Ppublica*. 22: 290-307.
- Chomel, B.B., Belotto, A., Meslin, F.X., 2007. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. *Emerging Infectious Diseases* 13, 6–11.
- Cornejo, C., & Maythé, D. (2015). Evaluación de tres protocolos de inmovilización química reversible empleando ketamina, xilacina y midazolam en primates del género *Saguinus spp* mantenidos en cautiverio.
- Ellis W.A. 1996. Leptospirosis. *Manual de la Organizacion Mundial de Sanidad Animal: Enmienda*. I, 1-8.
- Ellis W.A., O'brien J.J., Neill S.D. & Hanna J. (1982). Bovine leptospirosis: Serological findings in aborting cows. *Vet. Rec.*, 110, 178–180.
- Enrique Castellanos Lizacano. (2014). evaluacion de dos protocolos de tranquilizacion: ketamina xilacina y tiletamina zolacepamen monos del genero cebus en cautiverio. 3 de Marzo del 2017, de Fundacion universitaria Juan de Castellanos Sitio web: [https://issuu.com/medicinaveterinariajdc/docs/evaluaci\\_\\_n\\_de\\_dos\\_protocolos\\_de\\_tr](https://issuu.com/medicinaveterinariajdc/docs/evaluaci__n_de_dos_protocolos_de_tr)
- Góngora, A., Parra, J., Aponte, L., & Gómez, L. (2008). Seroprevalencia de *Leptospira spp.* en grupos de población de Villavicencio, Colombia. *Revista de salud pública*, 10(2), 269-278.

Hernández-Camacho, N., López-González, C. A., & de Jesús Guerrero-Carrillo, M. (2010). Seroprevalencia de *Leptospira interrogans*, hematología y perfil bioquímico en cánidos silvestres del Parque Nacional El Cimatario, Querétaro. México. *Therya*, 1(2), 121-128.

INS (s.f.) Guía: Protocolo de vigilancia en salud pública en Leptospirosis, (2016) Pag: 2

Instituto Colombiano Agropecuario. (2016). Detección de *leptospira* en suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo o torácico mediante la técnica de microaglutinación. 19 - Mayo - 2017, de Instituto Colombiano Agropecuario Sitio web:  
<https://portal.ica.gov.co/DocManagerSwift/User/HTMLServe.ashx?E=6AAB671E9F07AAFC536E96855A0E26E5&PE=09C57DA5BE145FF5637DEA2CFC93475C&S=40&P=False&R=1002707338>

Jiménez-Nicholls, L., Perez, J., Loaiza, J., Ocampo, M., & Flórez, P. A. (2010). Determinación de la frecuencia de Leptospirosis en felinos y primates del parque zoológico Santa Fe, Medellín, Colombia. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 4(1), 39-47.

Lagi F, Corti G, Meli M, Pinto A, Bartolini A. Leptospirosis acquired by tourist in Venice, Italy. *Travel Medic.* 2013;20(2):128-30.

Leptospirosis, O. I. E. (2012). Manual de la OIE sobre animales terrestres. 2008. Capítulo, 2(9), 186-190. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008

Levett PN. Leptospirosis: A forgotten zoonosis? *Clin Microbiol Rev.* 2004; 4:12-13

Lilenbaum, W., Monteiro, R. V., Ristow, P., Fraguas, S., Cardoso, V. S., & Fedullo, L. P. L. (2002). Leptospirosis antibodies in mammals from Rio de Janeiro Zoo, Brazil. *Research in veterinary science*, 73(3), 319-321.

Miller, M. D., Annis, K. M., Lappin, M. R., & Lunn, K. F. (2011). Variability in results of the microscopic agglutination test in dogs with clinical leptospirosis and dogs vaccinated against leptospirosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(3), 426-432.

Monsalve, B., Mattar, V., & González, T. (2009). Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes. *Revista MVZ Córdoba*, 14(2), 1762-1773.

Murray E. Fowler. (2012). Emerging Diseases at the Interface of People, Domestic Animals, and Wildlife. En *Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy* (142).

O'Brien J.J., Ellis W.A., Neill S.D. & Hanna J. (1982). Bovine leptospirosis: Serological findings in aborting cows. *Vet. Rec.*, 110, 178–180.

Pena, J. (2012). Estudio epidemiológico de leptospirosis caprina en la zona centro del estado de Veracruz. Facultad de medicina y ciencia veterinaria de la universidad veracruzana. Veracruz. México.

Piatti, R. M., Scarcelli, E., Fedullo, J. D. L., Simon, F., Cardoso, M. V., Castro, V.,... & Genovez, M. É. (2003). *Leptospira spp* detection by Polymerase Chain Reaction (PCR) in clinical samples of captive black-capped capuchin monkey (*Cebus apella*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 34(2), 143-146.

Picardeu M, Bertherat E, Jancloes M, Skouloudis AN, Durski K, Harslkeerl RA. (2014) Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 78(1):1-8.

R. Eric Miller. (2012). Emerging Diseases at the Interface of People, Domestic Animals, and Wildlife. En *Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy* (142). China: El Seiver.

Ríos DI, Chaparro-Solano HM. Reto clínico en el diagnóstico y tratamiento de leptospirosis. *Rev Cienc Salud*. 2015;13(1): 91-97. doi: dx.doi.org/10.12804/revsalud13.01.2015.07

Romero, M. H., Astudillo, M., Sánchez, J. A., González, L. M., & Varela, N. (2011). Anticuerpos contra *Leptospira sp.* en primates neotropicales y trabajadores de un zoológico colombiano. *Revista de salud pública*, 13(5), 814-823.

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. *Revista de Salud pública*, 12(2), 268-275.

Romero, M., Astudillo, M., Sánchez, J., González, L., & Varela, N. (2012). Títulos de anticuerpos contra *Leptospira sp.*, en primates del zoológico Matecaña, Pereira, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 17(3), 3224-3230.

Sánchez-Camargo, C. L., Albajar-Viñas, P., Wilkins, P. P., Nieto, J., Leiby, D. A., Paris, L., & Calvo, N. (2014). Comparative evaluation of 11 commercialized rapid diagnostic tests for detecting *Trypanosoma cruzi* antibodies in serum banks in areas of endemicity and nonendemicity. *Journal of clinical microbiology*, 52(7), 2506-2512.

Scarcelli, E., Piatti, R. M., Fedullo, J. D. L., Simon, F., Cardoso, M. V., Castro, V., & Genovez, M. É. (2003). *Leptospira spp* detection by Polymerase Chain Reaction (PCR) in clinical samples of captive black-capped capuchin monkey (*Cebus apella*). Brazilian Journal of Microbiology, 34(2), 143-146.

Secretaria Distrital de Salud de Bogotá. (2008). Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. Bogotá: Linotipia Bolívar y Cía.

Silva, C. D. S., Gírio, R. J. S., Guerra Neto, G., Brich, M., Santana, L. A. D. S., Amâncio, F. H., ... & Wessort, P. M. F. (2010). Anticorpos anti-*Leptospira spp.* em animais selvagens do zoológico municipal de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 237-242

Szonyi, B., Agudelo-Flórez, P., Ramírez, M., Moreno, N., & Ko, A. I. (2011). An outbreak of severe leptospirosis in capuchin (*Cebus*) monkeys. The Veterinary Journal, 188(2), 237-239.

Timoney J.F., Gillespie J.H., Scott F.W., Barlough J.E. (1988). The Spirochetes, In: Hagan & Bruner's Microbiology and infectious diseases of domestic animals. Comstock Publishing Associates, Ithaca, USA, 8th edition. Pp.45-57.

Valdivieso, D. (1964). La fauna quiróptera del departamento de Cundinamarca, Colombia. Revista de Biología Tropical, 12, 19-45.

Verdasquera, D. (2010). Leptospirosis humana: un abordaje de su epidemiología en cuba. Instituto de medicina tropical "Pedro Kouri". Ciudad de la habana. Cuba.

Zamora, J., & Riedemann, S. (1999). Animales silvestres como reservorios de leptospirosis en Chile: Una revisión de los estudios efectuados en el país. Archivos de medicina veterinaria, 31(2), 151-156.

Zunino, E., & Pizarro, R. (2007). Leptospirosis: Puesta al día. Revista chilena de infectología, 24(3), 220-226.