

Identificación de serovares de *Leptospira* spp. en la población equina de los cantones de San Carlos Lempa, Las Mesas, y Las Anonas, municipio de Tecoluca, San Vicente, El Salvador

Reyes-Umanzor CL

Estudiante tesista

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo electrónico: lizeh_reyes1990@outlook.com

Orellana-Flores M de J

Estudiante tesista

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo electrónico: chilingof@yahoo.com

Alvarez-Rodas BR

Estudiante tesista

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo electrónico: bennyrandyalvarez@gmail.com

López-Salazar CD

Docente Director

Departamento de Medicina Veterinaria

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo electrónico: david.salazar@ues.edu.sv

Romero-Pérez LE

Docente Director

Departamento de Medicina Veterinaria

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo electrónico: luis.perez@ues.edu.sv

Cabrera-Ayala AL

Docente Director

Red de Laboratorios Veterinarios

Ministerio de Agricultura y Ganadería.

Correo electrónico: dmvcarol2@yahoo.com

Resumen

El estudio se realizó en los cantones San Carlos Lempa, Las Anonas y Las Mesas, municipio de Tecoluca, departamento de San Vicente, El Salvador; en el período comprendido de febrero 2016 a enero 2017; con el objetivo de identificar los diferentes serovares de *Leptospira* spp. que se presentan en la población equina. Se realizó una encuesta epidemiológica para determinar la población de equinos en la zona, obteniéndose un total de 147 animales sin importar sexo o edad, de los cuales se extrajo 5 ml de sangre de la vena yugular mediante venopunción, siendo estas transportadas en tubos al vacío sin anticoagulante y procesadas en la red de laboratorios del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT). Identificándose siete serovares a títulos de dilución 1/100 o superiores. Del total de sueros muestreados, 102 fueron positivos para uno o más serovares analizados, lo que representa una seroprevalencia general del 69.39% para la población muestreada. La seroprevalencia obtenida para cada cantón fue: San Carlos Lempa 79.59%, Las Anonas 88.89% y las Mesas 82.05%; en cuanto a la seroprevalencia general calculada para los diferentes serovares fue la siguiente: *L. hardjo* 45.57%, *L. canicola* 22.44%, *L. pyrogenes* 21.08%, *L. autumnalis* 19.04%, *L. pomona* 7.48%, *L. australis* 5.44% y *L. bataviae* 2.72%, siendo las de mayor frecuencia *L. hardjo*, *L. canicola* y *L. pyrogenes*, serovares asociados a bovinos y caninos como hospedadores de mantenimiento, pudiendo ser estos los principales transmisores a los equinos.

Palabras clave: *Leptospira* spp, equinos, prueba de aglutinación microscópica, serovares.

Abstract

The study was carried out in three rural communities which were San Carlos Lempa, Las Anonas and Las Mesas, municipality of Tecoluca, Department of San Vicente El, Salvador; on the period from February 2016 to January 2017; with the aim of identify the different serovars of *Leptospira* spp. which occur in the equine population. An epidemiological survey was carried out to determine the population of horses in the area, obtaining a total of 147 animals regardless of sex or age, from which 5 ml of blood was extracted from the jugular vein by venipuncture, which were transported in vacuum tubes Without anticoagulant and processed in the network of laboratories of the Ministry of Agriculture and Livestock (MAG), through the test of microscopic agglutination (MAT). Seven serovars are identified at dilution titers 1/100 or higher. Of the total sera sampled, 102 were positive at least to one serovars analyzed, representing a general seroprevalence of 69.39% for the sampled population. The seroprevalence obtained for each community was: San Carlos Lempa 79.59%, Las Anonas 88.89% and Las Mesas 82.05%. Meanwhile, the general seroprevalence calculated for the different serovars was as follows: *L. hardjo* 45.57%, *L. canicola* 22.44%, *L. pyrogenes* 21.08%, *L. autumnalis* 19.04%, *L. pomona* 7.48%, *L. australis* 5.44% and *L. bataviae* 2.72%. In the three areas, no significant difference was found in the presence and distribution of serovars, with the most frequent being *L. hardjo*, *L. canicola* and *L. pyrogenes*, serovars associated with cattle and canines as maintenance hosts which could be the main transmitters to equines.

Key words: *Leptospira* spp, equines, microscopic agglutination test, serovars.

Introducción

La leptospirosis es una zoonosis de amplia distribución geográfica que se presenta en ocasiones de forma aislada, provocando brotes epidémicos estacionales asociados a épocas lluviosas. La enfermedad es causada por la infección con uno de más de 12 especies patógenas de *Leptospira* (Verma, *et al.*, 2013) afectando a más de 160 especies de animales domésticos como caninos, ovinos, ovicaprinos, suinos, bovinos, equinos y animales silvestres (Center for Food Security and Public Health, 2005). Estos animales excretan la bacteria a través de la orina contaminando el ambiente y de ese modo exponiendo al ser humano y otros animales a contraer dicha enfermedad (MSAL, 2014).

La Leptospirosis posee importancia económica y sanitaria. La repercusión económica más importante es el fallo reproductivo, secuela crónica de la enfermedad en las reproductoras, que causa mortinatos, abortos o nacimientos de animales débiles, disminución de la fertilidad. Por los efectos sobre la producción animal se le añade un importante aspecto sanitario donde en el ser humano está considerado una infección accidental, causando cuadros febriles hasta la afección de múltiples órganos, provocando incluso la muerte. Algunas prácticas laborales como los mineros, ganaderos, agricultores, trabajadores en mataderos, veterinarios, etc., ciertas actividades recreativas que implican contacto con aguas posiblemente contaminadas con la bacteria pueden provocar enfermedad entre ellos (Sandow y Ramírez, 2005). La región de las Américas es la que más presentó alertas de Leptospirosis humana a nivel mundial en los últimos años, reportándose 568 alertas entre 2007 y 2011 (Foro Nacional de Leptospirosis de Nicaragua, 2012).

En equinos la Leptospirosis es una enfermedad que generalmente cursa de forma subclínica, pero, en ocasiones pueden presentar temperaturas de 39.5 a 40.5 °C, depresión, anorexia, ictericia, neutrofilia y abortos, además, en la forma crónica se presenta una uveítis anterior de tipo inmune (Bedoya Ríos, *et al.* 2013).

En El Salvador existen escasos estudios sobre la Leptospirosis en equinos y dado que en los cantones San Carlos Lempa, Las Mesas y Las Anonas del municipio de Tecoluca se han reportados casos de Leptospirosis en el 2013 hasta la fecha en caninos, bovinos y ovicaprinos es importante realizar estudios en otras especies de animales, debido a que la zona de estudio cuenta con un ambiente propicio para mantener y diseminar la enfermedad (MAG, 2015).

El propósito de este estudio fue determinar la prevalencia de *Leptospira* spp. en equinos, identificando la respuesta serológica mediante la prueba de aglutinación microscópica para los diferentes serovares, que de acuerdo a la literatura se presentan frecuentemente en la región, además de contribuir al reforzamiento diagnóstico de Leptospirosis en equinos en la red de laboratorios veterinarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG).

Materiales y métodos

Características climatológicas de la zona de estudio.

Esta zona fue elegida por presentar las siguientes condiciones climatológicas que se caracterizan por tener entre 1,700 a 1,800 mm de lluvia al año, con una temperatura promedio de 26.8 °C y una humedad relativa promedio de 73%. La georreferencia de la parte más baja es de -1 msnm con 88°45'0'' O y 13°16'59.88'' N y la zona más alta es de 19 msnm con 88°48'0'' O y 13°22'59.88'' N.

Unidades experimentales

El estudio incluyó el análisis de las muestras de toda la población de equinos (n=147) presentes en 100 unidades productivas de los tres cantones: San Carlos Lempa (n=50), Las Anonas (n=37) y Las Mesas (n=60). Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular con agujas y tubos al vacío de 5 ml sin anticoagulante. Las muestras se trasladaron a la Red de Laboratorios Veterinarios del MAG ubicado en El cantón El Matazano, municipio de Soyapango. El suero fue obtenido mediante la centrifugación a 2,500 rpm por 5 m a temperatura ambiente y estos fueron refrigerados hasta su utilización.

Georreferenciación

La georreferenciación de las unidades en estudio, se realizó mediante el sistema de posicionamiento global GPS, tomando coordenadas geográficas (latitud, longitud en grados decimales). El análisis de la población equina susceptible a la enfermedad, se desarrolló mediante el uso del sistema de información geográfica con el software ArcGIS, utilizando una base cartográfica de El Salvador.

Serovares de *Leptospira* spp

Se tomaron como referencia serovares identificados en diversos trabajos en equinos de Latinoamérica: *L. australis*, *L. autumnalis*, *L. bataviae*, *L. canicola*, *L. pomona*, *L. pyrogenes*, *L. hardjo* hardjo (Bedoya Ríos, *et al.* 2013, Sotomayor, *et al.* 2012, Sellon, 2013, Troncoso Toro, *et al.* 2013). También se consideró el análisis con los serovares: *L. wolfii*, *L. ballum* y

L. bratislava, que de acuerdo a literatura han sido reportados afectando equinos; sin embargo, el crecimiento de estos serovares no fue posible por lo cual no fueron empleados en la investigación.

Detección de Anticuerpos *Leptospirales*

Se empleó la prueba de microaglutinación (MAT) para la detección de anticuerpos según el protocolo descrito por la OIE (2014). En el cual se tomó 25µ de suero a analizar, confrontándolo con los 7 serovares en estudio, realizando una dilución de 1/100. Luego se realizó titulación de las muestras que resultaron positivas a los serovares. Las muestras positivas en 1/100 de cada serovar se diluyeron hasta 1/1600 a fin de determinar el título de anticuerpos según la prueba MAT. El título de anticuerpos se consideró como la máxima dilución de suero que causó aglutinación del 50% o más de antígeno vivo de *Leptospira* spp. de acuerdo a las especificaciones de la OIE (OIE, 2014).

Procesamiento de datos

El estudio desarrollado fue de tipo descriptivo, presentando los resultados en cuadros y gráficos. El cálculo de la seroprevalencia se hizo en base al número de reactores seropositivos, entre el número total de muestras (Martin *et al.*, 1997).

Resultados y discusión

La seroprevalencia general de animales reactores fue de 69.39% (Cuadro 1). La seroprevalencia para los diferentes serovares incluyendo infecciones mixtas fue: *L. hardjo* 45.57%, *L. canicola* 22.44%, *L. pyrogenes* 21.08%, *L. autumnalis* 19.04%, *L. pomona* 7.48%, *L. australis* 5.44%, *L. bataviae* 2.72% (Fig. 1). Un 53.92% fueron seropositivos a un solo serovar, además se identificaron equinos seropositivos a dos (19.61%), tres (20.59%), cuatro (4.90%) y cinco (0.98%) serovares (Fig. 2).

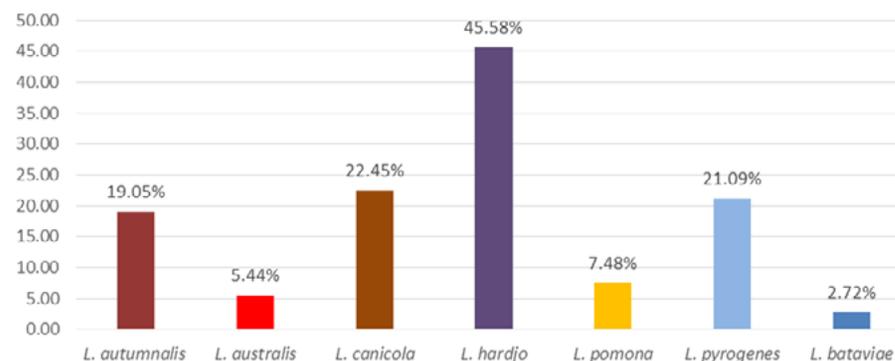


Figura 1. Seroprevalencia de *Leptospira* spp. según serovares incluyendo infecciones mixtas en equinos de la zona en estudio.

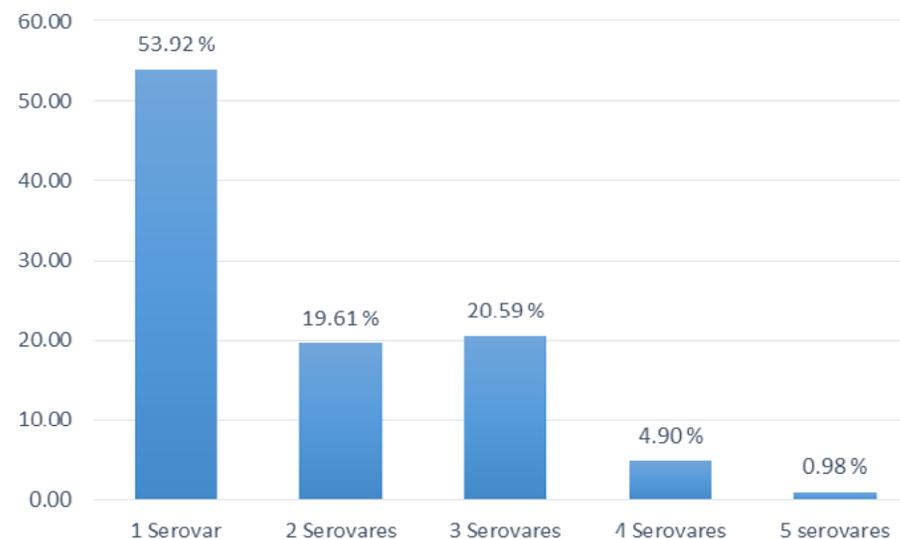


Figura 2. Porcentaje de Serovares de *Leptospira* spp. por animal, incluyendo infecciones mixtas en equinos de la zona en estudio.

Cuadro 1. Seroprevalencia general de *Leptospira* spp. en equinos procedentes de la zona de estudio incluyendo infecciones mixtas.

	Seropositivos	Seronegativos	Total
Nº de Muestras	102	45	147
Seroprevalencia	69.39%	30.61%	100%

El 69.39% de los equinos resultaron seropositivos a uno o más serovares en estudio, y debido a la ausencia de una vacuna como plan profiláctico contra esta enfermedad en el equino, esto es indicativo de que dichos animales tuvieron contacto con la bacteria, convirtiéndose en potenciales transmisores de la enfermedad a otros animales y al humano.

La seroprevalencia general en este estudio, difiere considerablemente con estudios realizados en Italia, China y Costa Rica donde registran seroprevalencias menores desde 1.5% hasta el 27.8% (Verma *et al*, 2013; SENASA, 2012); sin embargo, se encuentra en rangos de seroprevalencias registradas en el Continente Americano las cuales varían del 60 al 100% en países como Argentina, 62.3%; Chile, 65.4%; Brasil, 75.7%; Nicaragua, 76%; Colombia, 76.6%; México, 86.5% y Perú, 100% (Gómez, 2005; Foro Nacional de Leptospirosis de Nicaragua, 2012; Rey *et al*, 2015; Sotomayor *et al*, 2012; Méndez *et al*, 2013; Schemeling *et al*, 2009; Finger *et al*, 2014, Troncoso *et al*, 2013).

En El Salvador Arévalo *et al.*, (2016) realizó un estudio en el cual se obtuvo una seroprevalencia de 63.71% en el departamento de San Miguel, hallazgo similar a la seroprevalencia encontrada en la presente investigación; sin embargo, es importante considerar que en la investigación de Arévalo la procedencia de los equinos se desconocía ya que eran animales en tránsito en decomiso bajo custodia del Estado y estabulados en un mismo lugar, lo que no da certeza del momento de contacto con el agente infeccioso.

Las diferencias observadas en las seroprevalencias de *Leptospira* spp. que se registran en el mundo varían notablemente debido a características de la zona en estudio: temperatura, precipitación, humedad relativa, así como el pH, estructura y composición del suelo (Sandow y Ramírez, 2005).

Los serovares que presentaron una mayor seroprevalencia en esta investigación fueron *L. hardjo*, *L. canicola*, *L. pyrogenes* y *L. autumnalis*; resultados que concuerdan a los obtenidos por Arévalo *et al*, (2016) en El Salvador; y estudios en otros países como México, Chile y Colombia (Gómez, 2005; Valencia, 2007; Troncoso *et al.*, 2013; González, 2016).

Los serovares *L. hardjo* y *L. pyrogenes* poseen como reservorio a los bovinos; quienes son considerados como su hospedador de mantenimiento (Samir *et al.*, 2015); en este sentido la alta frecuencia de los serovares *L. hardjo* y *L. pyrogenes* en el presente estudio, puede estar relacionado a la transmisión desde bovinos. En cuanto a la alta seroprevalencia de *L. canicola*, el perro es el hospedador de mantenimiento y su presencia en este estudio se puede

deber a la presencia de perros en los potreros. Los perros cumplen funciones de compañía, vigilancia o pastoreo; sin embargo, la conducta de los perros de orinar en distintas partes para delimitar su territorio, los vuelve un factor de riesgo, ya que las *Leptospiras* son eliminadas por esta vía y así facilita la transmisión a otros animales (Sepúlveda, 2002); de acuerdo a los datos obtenidos por la encuesta el 93% de los equinos tiene contacto con bovinos y el 91% con caninos. En cuanto al serovar *L. autumnalis* ha sido aislada en vida silvestre (mapaches); y en perros domésticos (Moore *et al.*, 2006; Senthil *et al.*, 2013).

Los resultados de seroprevalencias tanto en unidades productivas como animales por cantón son elevadas, ya que el 80% de las unidades productivas que ingresaron al estudio poseían al menos un animal seropositivo a *Leptospira* spp., encontrando seroprevalencias por unidades productivas del 70.59%, 82.05% y 88.89% en los cantones San Carlos Lempa, Las Mesas y Las Anonas, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Seroprevalencia general de unidades productivas por cantón.

SEROPREVALENCIA DE UNIDADES PRODUCTIVAS POR CANTON				
Cantón	Positivos	Negativos	total	Seroprevalencia
San Carlos Lempa	24	10	34	70.59 %
Las Anonas	24	3	27	88.89%
Las Mesas	32	7	39	82.05 %

En los cantones en estudio se obtuvieron datos de seroprevalencia general en equinos similar entre ellos (Cuadro 3). En cuanto a la presencia de los siete serovares estudiados se determinó que se encuentran en los tres cantones en diferentes proporciones, considerando como excepción única la ausencia del serovar *L. australis* en el cantón las mesas (Fig. 3). La presencia de los siete serovares puede ser debido a que las zonas cumplen con las características necesarias para que la bacteria sobreviva y se disemine por la región, tomando en cuenta que en este lugar hay inundaciones frecuentemente en la época lluviosa, formando un medio ambiente que favorece al mantenimiento de la bacteria, esto unido a la presencia de diferentes especies de animales domésticos y silvestres que pueden servir como hospederos y reservorios.

Cuadro 3. Seroprevalencia por cantón.

SEROPREVALENCIA DE ANIMALES SEROPOSITIVOS POR CANTON				
Cantón	positivos	negativos	total	Seroprevalencia
San Carlos Lempa	32	18	50	64.00 %
Las Anonas	28	9	37	75.68 %
Las Mesas5	42	18	60	70.00 %

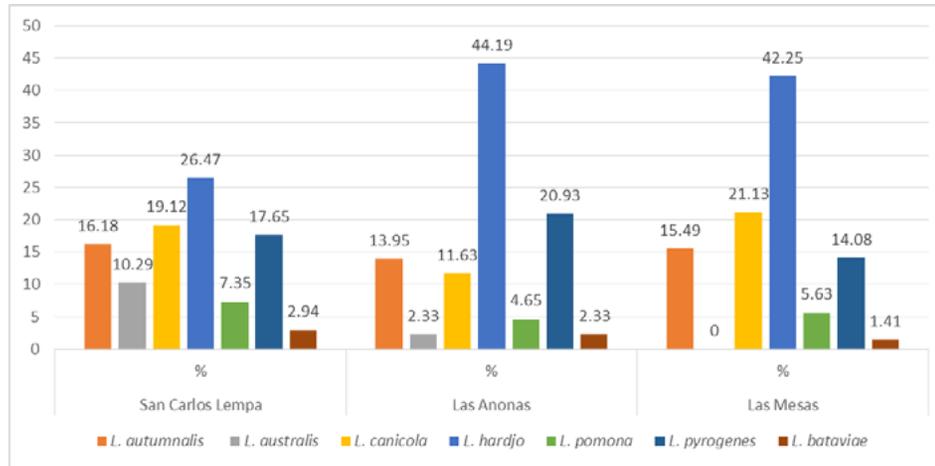


Figura 3. Porcentaje de serovares de *Leptospira* spp. en equinos por cantón.

La seropositividad de *Leptospira* spp. está ampliamente distribuida, observándose positividad tanto en unidades productivas como en equinos en toda la zona de estudio (Fig. 4). La mayor cantidad de casos de seropositividad en equinos están asociados a la localización de los asentamientos humanos, debido a la mayor concentración de dichos animales, al ser estos empleados para transporte y trabajo. Esto demuestra la presencia de la bacteria en el medio, que representa un riesgo para diferentes especies animales y personas en la zona.

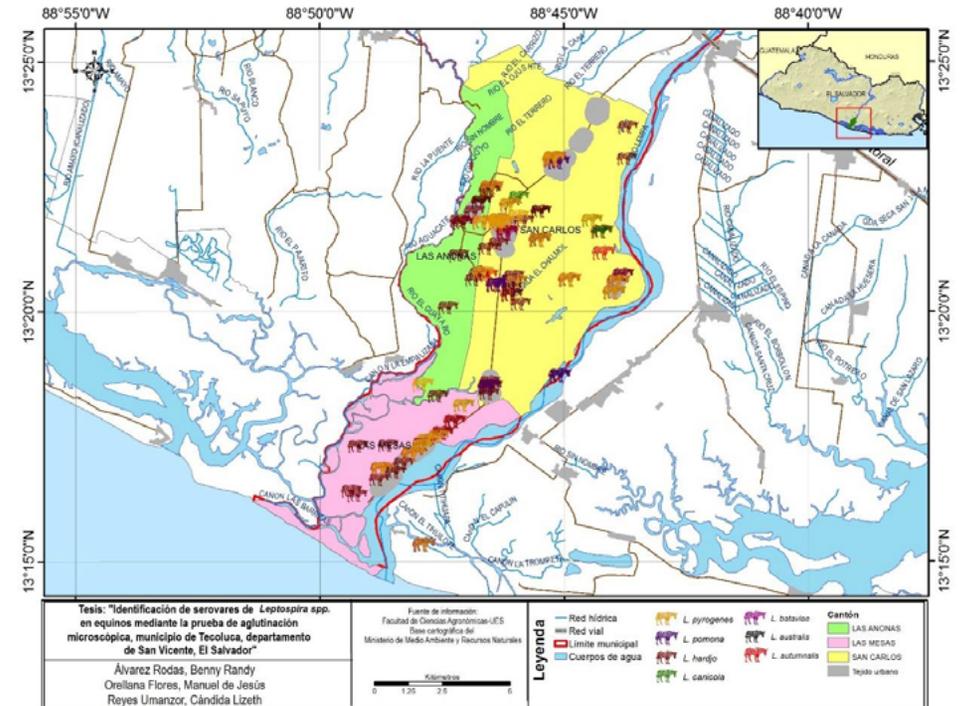


Figura 4. Georreferenciación de equinos seropositivos y seronegativos a *Leptospira* spp. en la zona de estudio.

Conclusiones

La presente investigación de seroprevalencia de *Leptospira* spp. realizada a nivel del bajo Lempa, demuestra una amplia diseminación del agente infeccioso en equinos de toda la zona de estudio.

El 69.39% de seropositividad en equinos y el 80% en propiedades identificadas en el presente estudio, reflejan una elevada seroprevalencia de leptospirosis a nivel de hato y propiedades, lo que demuestra el contacto de la mayoría de animales con la bacteria.

Mediante la presente investigación, se demostró la circulación de al menos seis serovares en los equinos de los tres cantones en estudio: *L. hardjo* 45.57%, *L. canicola* 22.44%, *L. pyrogenes* 21.08%, *L. autumnalis* 19.04%, *L. pomona* 7.48%, y *L. bataviae* 2.72%; siendo únicamente *L. australis* 5.44% el serovar ausente en uno de los cantones, convirtiéndose en algún momento a los equinos en potenciales transmisores de los siete serovares en cuestión.

La mayor cantidad de casos seropositivos en equinos se distribuyeron geográficamente en los asentamientos humanos de los tres cantones, debido a la mayor concentración de dichos animales al ser estos empleados para fines de transporte y trabajo.

El hallazgo de la presencia de los serovares *L. hardjo*, *L. pyrogenes* y *L. canicola* en mayores porcentajes, en las muestra de equinos, es un fuerte indicativo de la participación de bovinos y caninos como importantes hospederos de mantenimiento del agente en la zona de estudio, ya que además fueron las especies con mayor convivencia con los equinos participantes en la investigación.

El control de Leptospirosis en la zona de estudio, debe ser dirigido primariamente a bovinos y caninos, quienes son los hospederos de mantenimiento de *L. hardjo* y *L. pyrogenes* y *L. canicola*, respectivamente.

Recomendaciones

Realizar esfuerzos para la incorporación de los serovares *L. bratislava*, *L. wolffi* y *L. ballum* en el diagnóstico de Leptospirosis en equinos, en los laboratorios oficiales del país.

Debido a la alta seroprevalencia de *Leptospira* spp. en la zona es necesario implementar una campaña de educación zoonosanitaria para la población en general, enfocada en la prevención de la enfermedad, incentivando la notificación inmediata de casos sospechosos a la enfermedad. Asimismo, es de gran importancia adquirir un método diagnóstico que tenga mayor especificidad y sensibilidad para la detección de *Leptospira* spp., como las pruebas de aislamiento bacteriano y técnicas moleculares basadas en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Llevar a cabo campañas de vacunación dirigidos a las especies bovina y canina, debido a su importancia como hospedadores de mantenimiento para los serovares *L. hardjo* y *L. pyrogenes* y *L. canicola* respectivamente.

Ampliar la investigación en la zona incluyendo diferentes especies de animales domésticos y silvestres como perros, cabras, ovejas, cerdos, mapaches y roedores, debido a que diferentes hospederos de mantenimiento pueden ser causantes de la transmisión de diferentes serovares de *Leptospira* spp.

Realizar investigaciones que permitan establecer la seroprevalencia y distribución de los diferentes serovares de *Leptospira* spp. a nivel nacional.

Bibliografía

- Arévalo Centeno, RU., Benítez Salvador, NE., Fernández Hernández, AS. 2016. Estudio Epidemiológico de Leptospirosis en población equina en tránsito en la zona oriental de El Salvador. Tesis Med Vet. San Miguel. SV. Universidad de Oriente. 35-52 p.
- Bedoya Ríos, MA, Jaimes Salcedo J, Molina Sanguino L. 2013. Prevalencia de *Leptospira* Spp en equinos de la vereda Guatiguara del municipio de Piedecuesta Santander (En Línea). REDVET (Revista Electrónica de Veterinaria) 14(11B): 1-6. Consultado 24 Ago 2015. PDF. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n11113B.html>.
- Finger, MA., Barros Filho, IF., Leutenegger C., Estrada, M., Ullmann, LS., Langoni, H., Kikuti, M., Dornbush, PT. Deconto, I., Biondo, Aw. 2014. Serological and molecular survey of *Leptospira* spp among cart horses from an endemic area of human Leptospirosis in Curitiba, southern Brazil. Revista do instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo. 56(6): 473-476
- Foro Nacional de Leptospirosis de Nicaragua y reunión internacional de países que están enfrentando brotes de Leptospirosis en las Américas. 2012. Informe de las reuniones: País El Salvador (En Línea). Managua, NI.1-38 p Consultado 16 Set. 2016. PDF. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=19942&Itemid
- Gómez Molina, TG. 2005. Serovariedades de *Leptospira* presentes en ganado de tres centros ecuestres pertenecientes al Ejército Mexicano. Rev. Sanidad Militar México. 59(4): 260-264.
- González Heise DA. 2016. Descripción de la presentación de sueros positivos a *Leptospira* spp. Y su relación con factores individuales de equinos pertenecientes a un centro ecuestre militar de la región de Valparaíso. Tesis Med Vet. Chile. Universidad de Chile. 13-17 p.
- Martin, SW., Meek, AH. Willeberg, P. 1997. Epidemiología Veterinaria, principios y métodos. Medida de la frecuencia de la enfermedad y de la producción. Trad. JM Tarazona. New ed., Zaragoza, ES. ACRIBIA. 62p.
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2015. Boletín Epidemiológico semanal de los servicios veterinarios (En Línea). Consultado 20 mar. 2017. PDF. Disponible en: <http://www.mag.gob.sv/>

- Méndez, C., Benavidez, L., Esquivel, A., Aldama, A., Torres, J., Gavaldón, D., Melendez, P., Moles, L. 2013. Pesquisa serológica de *Leptospira* en roedores silvestres, bovinos, equinos y caninos en el noreste de México. *Revista Salud Animal* 35(1): 25-32.
- MSAL (Ministerio de Salud de Argentina).2014. Guía para el equipo de salud: Diagnostico de Leptospirosis(En Línea). Consultado 20 mar. 2017. PDF. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/imagenes/stories/bes/graficos/0000000489cnt-guia-medica-leptospirosis.pdf>
- Moore, G. E., Guptill, L. F., Glickman, N. W., Caldanaro, R. J., Aucoin, D., Glickman, L.T. 2006. Canine Leptospirosis united states 2002–2004. *Emerging infectious diseases*. 12(3): 501 – 503.
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal, FR). 2014. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y las Vacunas para los Animales Terrestres: Leptospirosis. (En línea). 7ª ed. París, FR. Consultado 12 ago. 2016. PDF. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.01.09_Leptospirosis.pdf
- Rey Riaño, LA., Pineda Rojas, NF., Góngora Orjuela, A., Parra Arango JL., Patiño Burbano, RE. 2015. Evaluación Serológica a *Leptospira* spp. en equinos aparentemente sanos en municipios del Meta y Guaviare, Colombia. *Revista Lasallista de Investigación*. 12(1): 154-161.
- Sadow K, Ramirez W. 2005. Leptospirosis (En Línea). REDVET (Revista Electrónica de Veterinaria) 6(6): 1-61 Consultado 24 Ago 2016. Disponible en:<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605.html>
- Samir, A., Soliman, R., El Harnir, M., Moein, K. A., Halem, M. E. 2015. Leptospirosis in animals and human contacts in Egypt: broad rangel surveillance. *Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 48(3): 272-277.
- Schmeling, MF., Arn, E., De Marco, PL., Vanasco, NB. 2009. Utilidad del serodiagnóstico de Leptospirosis en equinos aparentemente sanos. *Revista FAVE- Ciencias Veterinarias*. 8(2): 55-59.
- Sellon, DC., Long M. 2013. Equine Infectious Diseases: Leptospirosis. Ed MT Hines. 2 ed. Missouri. ELSEVIER. p C32. 302-312
- SENASA (Servicio Nacional de Salud Animal). 2012. Informe sobre la Situación Sanitaria de Costa Rica (En Línea). Costa Rica. Consultado 17 Set. 2016. PDF. Disponible: <http://www.senasa.go.cr/senasa/sitio/files/060114055646.pdf>
- Senthil, NR., Palanivel, KM., Rishikesavan, R. 2013. Seroprevalence of *Leptospiral* Antibodies in canine population in and around Namakkal. *Jornal of Veterinary Medicine*. 12:1-4.
- Sepúlveda Montes, A., Dimas, JS., Preciado Rodriguez, FJ. 2002. La rata y el perro, importantes vectores de la Leptospirosis en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54(1): 21-23
- Sotomayor R C, Manchego S, A, Chiok C, KL, Sandoval C, N, Ramirez M, Rojas M, Rivera H. 2012. Seroprevalencia de anticuerpos contra serovares de *Leptospira* spp en yeguas de un haras de la ciudad de Lima (En Línea). *Revista de Investigaciones Veterinarias de Perú*. 23(4): 499- 503 Consultado 26 Ago 2016. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=1609-911720130004&lng=es&nrm=iso
- Rivera H. 2012. Seroprevalencia de anticuerpos contra serovares de *Leptospira* spp en yeguas de un haras de la ciudad de Lima (En Línea). *Revista de Investigaciones Veterinarias de Perú*. 23(4): 499- 503 Consultado 26 Ago 2016. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=1609911720130004&lng=es&nrm=iso
- Troncoso Toro I., Toro Barros J., Guzmán Cáceres A., Fuentealba Ortega J., Fischer Wiethuchter C. 2013. Evaluación serológica de *Leptospira* interrogans en equinos pertenecientes a un centro ecuestre de la provincia de Linares. *Revista CES Medicina veterinaria y Zootecnia*. 8 (2): 101-107.
- Valencia N, Silva, O. 2007. Prevalencia de *Leptospiraspp* en equinos en la Sabana de Bogotá. Tesis MedVet. Bogotá, CO. Universidad la Salle. 25 p.
- Verma A, Stevenson B, Adler B. 2013. Leptospirosis in Horses (En Línea) *Veterinary Microbiology*. 167 (2013): 61-66. Consultado 27 ago 2016. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03781135/170>.