

Leptospirosis con inmunoglobulina M positiva en pacientes hospitalizados en una institución de tercer nivel de Medellín, Colombia, en 2009

Leptospirosis and positive IgM in hospitalized patients in a tertiary care institution in Medellín, Colombia, 2009. Case report and literature review.

Lina María Echeverri¹, Santiago Atehortúa¹, Sigifredo Ospina²

Resumen

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica que debe ser incluida entre los diagnósticos infecciosos por descartar en nuestros pacientes, ya que es subdiagnosticada y puede causar complicaciones graves. Ocurre en poblaciones desarrolladas y en regiones tropicales, tanto a nivel urbano como rural, pudiendo causar epidemias o endemias. La mayoría de las veces los pacientes cursan con cuadros clínicos benignos o, incluso, asintomáticos, pudiendo asemejarse a otras enfermedades infecciosas, lo cual dificulta la sospecha diagnóstica, pero se debe tener en cuenta que en algunos casos ocasiona cursos clínicos graves y complicaciones fatales. El objetivo de esta comunicación es recordar la relevancia de tener una sospecha clínica para hacer un diagnóstico oportuno de esta entidad, reportando una serie de 14 casos con clínica indicativa de leptospirosis, que presentaron resultado positivo de serología para *Leptospira spp.*, lo cual apoyaba el diagnóstico. De ellos, seis pacientes tuvieron complicaciones graves y dos tuvieron desenlaces fatales. Los datos se obtuvieron de pacientes procedentes de diferentes municipios de Antioquia y Chocó, que consultaron y fueron hospitalizados en una institución de tercer nivel de Medellín durante el año 2009.

Abstract

Due to the fact that leptospirosis is a zoonotic disease that goes underdiagnosed and may cause serious complications, it must be included among the infectious diagnoses to rule out for infected patients. It occurs in developed populations and in tropical regions, both in urban and rural areas, causing epidemics or becoming endemic. Patients usually show benign symptoms or are even asymptomatic, and it may resemble other infectious diseases, which complicates its diagnosis; however, in some cases, it causes severe and fatal complications. The purpose of this paper is to remark the importance of having a high clinical suspicion to make a timely diagnosis of this disease, reporting a series of 14 patients with symptoms suggestive of leptospirosis, who had a positive serology for *Leptospira spp.*, supporting the clinical diagnosis. Out of those patients, six had serious complications and two had fatal outcomes. Data were obtained from patients from different municipalities of Antioquia and Chocó, who consulted and were hospitalized in a tertiary care institution in Medellín, Colombia, during 2009.

Presentación de los casos clínicos

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) un caso confirmado de leptospirosis corresponde a un caso presunto, definido como una enfermedad febril aguda con cefalea, mialgias, náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea y otros síntomas, que es confirmado por cultivo o pruebas serológicas en un laboratorio de reconocida capacidad ⁽¹⁾.

Durante el año 2009, se presentaron 14 casos de leptospirosis que cumplían criterios clínicos

y epidemiológicos, en pacientes que estuvieron hospitalizados en nuestra institución y tuvieron un resultado positivo de inmunoglobulina M (IgM) para *Leptospira spp.* a partir del suero, lo cual apoyaba el diagnóstico.

El 78,5 % de los pacientes eran hombres jóvenes con una edad promedio de 24,5 años (DE \pm 14,3), procedentes de zonas rurales de municipios de Antioquia y Chocó, con un predominio de la zona norte antioqueña (bajo Cauca) y sin antecedentes personales relevantes. Sólo en un caso estaban claros la exposición y el contacto directo con ratas.

1 Servicio de Microbiología, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia
2 Laboratorio Clínico, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia

Recibido: 08/08/2010; Aceptado: 08/06/2011
Correspondencia: Lina María Echeverri, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Calle 64 N° 51D154, Medellín, Colombia
Teléfono: 444-1333, extensión 3106. Dirección electrónica: linamariae@hotmail.com

Las manifestaciones clínicas y los hallazgos de laboratorio al comienzo del cuadro clínico de todos los pacientes fueron inespecíficos, lo que contribuyó en la demora de sospechar el diagnóstico clínico de infección por *Leptospira* spp., sumado a que para esa época la prueba serológica era realizada en un laboratorio externo a la institución y los resultados no se tenían en las primeras horas posteriores a su solicitud. En todos los pacientes se comenzó manejo sintomático y se administró algún antibiótico betalactámico de forma empírica, principalmente ceftriaxona, sin que se hubiera reportado en ningún caso reacción de Herxheimer.

La duración promedio de los síntomas antes de la primera consulta médica fue de 21,4 días; las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron la fiebre –reportada en 100 % de los casos– seguida por astenia y adinamia (85,7 %), ictericia (64,3 %) y dolor abdominal (64,3 %). En el examen físico el hallazgo más común fue hepatomegalia (57,1 %) y se presentó esplenomegalia en el 28,6 % de los casos (tabla 1).

En los exámenes de laboratorio realizados a los 14 pacientes, la alteración más frecuente se observó en las pruebas de función hepática; la elevación de las fosfatasas alcalinas fue la principal alteración (92,8 %), con un valor promedio de 266,3 UI/L (DE \pm 117,3), seguida por el descenso de la hemoglobina (64,2 %), con un valor promedio de 8,7 g/L (DE \pm 2,4). La creatinina se elevó en 35,7 % de los pacientes, con un valor promedio de 4,32 mg/dl. Otros hallazgos encontrados con menor frecuencia fueron trombocitopenia y leucocitosis con neutrofilia. En 57,1 % de los pacientes se encontró alteraciones en el uroanálisis, y se observó con frecuencia proteínas, leucocitos y eritrocitos (tabla 2).

A todos los pacientes se les practicó la prueba serológica para *Leptospira* spp., IgMELISA-PanBio®, ensayo colorimétrico que detecta anticuerpos IgM anti-*Leptospira* y en el 100 % de los casos fue positiva. De esta forma, se hizo el diagnóstico de lep-

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de 14 pacientes con diagnóstico de leptospirosis en el 2009

Característica	Pacientes (n=14)	Porcentaje
Edad (años), promedio \pm DE*	24,5 \pm 14,3	
Sexo		
Masculino	11	78,5
Femenino	3	21,5
Procedencia		
Norte de Antioquia	8	57,1
Medellín y área metropolitana	2	14,3
Otros municipios de Antioquia	2	14,3
Fuera de Antioquia	2	14,3
Signos y síntomas		
Duración de los síntomas (días) promedio \pm DE	21,42 \pm 13,4	
Fiebre	14	100
Astenia o adinamia	12	85,7
Ictericia	9	64,3
Dolor abdominal	9	64,3
Mialgias	8	57,1
Vómito	7	50
Artralgias	5	35,7
Diarrea	5	35,7
Epistaxis	4	28,6
Hepatomegalia	8	57,1
Esplenomegalia	4	28,6
Gravedad		
Falla renal	2	14,3
Falla hepática	4	28,6
Mortalidad	2	14,3

* DE: desviación estándar

tospirosis en los 14 pacientes, sumando el cuadro clínico, y teniendo en cuenta que no tenemos la posibilidad de hacer cultivos para este microorganismo en nuestro laboratorio.

Es importante resaltar que en todos los pacientes se descartó por pruebas de laboratorio la presencia de otras infecciones que pudieran asemejarse, dada la presencia de síntomas inespecíficos asociados a compromiso hepático o renal, como malaria, hepatitis y dengue, entre otras.

Tabla 2. Resultados de laboratorio de 14 pacientes con diagnóstico de leptospirosis en el 2009

Prueba de laboratorio	Pacientes n=14 (%)	Valor promedio anormal	Rango de resultados anormales
Hemoglobina <12 g/dl	9 (64,3)	8,7	3,9 – 10,7
Creatinina >1,2 mg/dl	5 (35,7)	4,32	1,6 – 14,8
Bilirrubina total >3,5 mg/dl	11 (78,3)	8,53	3,7 – 20,5
Fosfatasas alcalinas >70 UI/L	13 (92,8)	266,38	72 - 647
Plaquetas <100.000 mm ³	4 (28,6)	53.750	3.000 – 94.000
Leucocitos >10.000 mm ³	7 (50)	18.442	12.300 – 26.700

* Uroanálisis: 8 casos (57,1 %) con presencia de leucocitos, eritrocitos y proteínas

Las principales complicaciones encontradas durante la estancia hospitalaria fueron la falla hepática (28,6 %) y la falla renal aguda (14,3 %) en seis pacientes del total; uno de ellos requirió hemodiálisis. Se presentó mortalidad en dos pacientes durante el período de hospitalización, ambos con diagnóstico de falla hepática, uno de los cuales recibió trasplante hepático. Los pacientes restantes tuvieron un curso benigno, con recuperación completa de su cuadro clínico e infeccioso al momento del alta hospitalaria.

Revisión

La leptospirosis es la zoonosis más ampliamente diseminada en el mundo, principalmente en los países tropicales ⁽²⁾. La enfermedad es causada por espiroquetas patógenas del género *Leptospira* spp., el cual pertenece a la familia *Leptospiraceae* y al orden *Spirochaetales*. Se han clasificado en dos especies según sus antígenos.

Las espiroquetas patógenas se agrupan en el complejo *L. interrogans* y, las saprofitas, en el complejo *L. biflexa* ⁽³⁾. Con cada especie se ha diferenciado un gran número de serovariantes usando anticuerpos policlonales y técnicas de microaglutinación, y se han descrito más de 250 serovariantes de *Leptospiras* patógenas; los serovares antigénicamente relacionados se agrupan en serogrupos. La especificidad del serovar la da el antígeno O del lipopolisacárido ^(2,4-7).

La mayor incidencia de la enfermedad aparece en zonas tropicales y en épocas lluviosas, aunque,

en realidad, ha sido subestimada por la dificultad para hacer su diagnóstico. En Estados Unidos, por ejemplo, la mayor incidencia se presenta en Hawaii, donde se reportó una incidencia anual de 128 casos por 100.000 habitantes en 1992 ^(4,6). En Suramérica ha sido reportada en ciudades como Buenos Aires, donde se diagnosticaron 276 casos de leptospirosis entre 1990 y 1999 ⁽⁸⁾, y en Brasil es considerada una de las principales enfermedades endémicas y epidémicas ^(2,9).

En Colombia no se cuenta con muchos datos sobre la situación real de esta enfermedad. El primer diagnóstico en humanos en este país se hizo en 1969 y el primer brote de leptospirosis se reportó en Barranquilla en 1995, donde afectó cerca de 50 personas, la mayoría, niños ⁽¹⁰⁾. Los resultados publicados por P. Agudelo confirman la circulación de *Leptospira* spp. en Colombia, quien sugiere integrar los organismos de salud tanto animales como humanos, para lograr controlar la leptospirosis, dada su importancia clínica y epidemiológica ⁽¹¹⁾.

En 2007 se publicó un estudio descriptivo, de marzo a octubre del 2000, de las zonas urbanas de nueve municipios del Urabá antioqueño, en el que se demostró una prevalencia de 12,5 % de anticuerpos IgG medidos por inmunofluorescencia indirecta (IFI) contra *Leptospira* spp. ⁽¹²⁾. Se hizo otro estudio en Colombia para determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. en población sana y en grupos de riesgo en Villavicencio (Meta), y se encontró una alta seroprevalencia para *Leptospira* spp. en los grupos de riesgo ⁽⁷⁾.

Los principales reservorios del microorganismo son animales mamíferos pequeños, como las ratas, que excretan las *Leptospiras* en la orina de forma intermitente o continua durante toda su vida, debido a la infección renal, pudiendo sufrir enfermedad leve y encargándose de mantener de forma crónica el microorganismo en la naturaleza. Otros animales que pueden ser reservorios son los domésticos, como los perros, y también cerdos, ovejas, ganado vacuno y caballos ^(3-5,13).

Leptospira spp. es un microorganismo de forma helicoidal, delgado, aerobio obligado, que en uno o ambos extremos presenta una curvatura en forma de gancho y posee gran movilidad ^(4,5). Es Gram negativo dadas las características de la pared y debido a su pequeño tamaño (0,1 µm de diámetro por 6 µm a 20 µm de longitud), sólo es observable por inmunofluorescencia o en el microscopio de campo oscuro o de contraste de fase, en los que se puede observar su movimiento característico ^(4,13). Los factores de virulencia de este microorganismo incluyen su capacidad de adherencia, la producción de toxinas, las proteínas de superficie y las hemolisinas producidas por algunas serovariantes ^(3,5,13).

La transmisión usualmente se debe a la exposición directa a la orina infectada de los animales portadores o a sus tejidos, o, más comúnmente, se puede adquirir de forma indirecta por exposición al suelo, aguas o tierra contaminadas con la orina o los tejidos de dichos animales ^(4,13,14). Las principales vías de entrada son la piel lesionada, las membranas mucosas y las conjuntivas. También, puede entrar por inhalación de gotas o mordedura de animales. La ingestión es una fuente poco importante de entrada que se da cuando ocurre el contacto del microorganismo con la mucosa oral ^(3,4). Se ha reportado, también, transmisión directa entre humanos y transmisión por las relaciones sexuales ⁽³⁾.

La ocupación de las personas es un factor de riesgo importante para adquirir la infección, por ejemplo, los médicos veterinarios, los granjeros, los matarifes y los pescadores, ya que están más

expuestos al contacto con orina de los animales. También hay reportes de casos relacionados con actividades recreacionales, como la natación, la pesca o el canotaje, siendo la fuente de infección el agua contaminada ^(3,6,15,16).

Se han reportado algunos brotes, como el que se presentó en 74 atletas en Wisconsin e Illinois en 1998, el cual se asoció con agua contaminada. En Nicaragua, en 1995, se presentó un brote epidémico con hemorragia pulmonar en 400 casos, y se determinó un reservorio canino. En 2004 se publicó un brote ocurrido en Brasil entre 1998 y 1999 asociado a exposición ocupacional ⁽³⁾.

El espectro de las manifestaciones clínicas es muy amplio, la mayoría de las infecciones humanas son asintomáticas o benignas (80 a 90 % de casos) y, tal vez, esto explique su subdiagnóstico, pero también puede producir un compromiso sistémico serio y cuadros clínicos graves (10 a 20 % de casos).

Clínicamente se considera como una enfermedad febril bifásica, con un período de incubación de 7 a 26 días (promedio 10 días). El primer periodo, llamado septicémico, aparece durante la primera semana de evolución y el período inmune, durante la segunda semana ⁽³⁾. Se presenta predominantemente en el sexo masculino y en personas jóvenes, como se corrobora en este reporte de casos ⁽²⁾. La fase aguda dura entre 5 y 7 días, y comienza con fiebre alta (hasta de 40 °C) en el 100 % de casos, cefalea (85 a 99 %), escalofríos, mialgias, síntomas gastrointestinales como dolor abdominal, anorexia, diarrea y vómito (17,2 a 62,3 %), inyección conjuntival (36,3 a 77,2 %) y síndrome meníngeo (19,4 a 22,7 %) en la segunda semana de evolución ^(1,2,4). Se han reportado linfadenopatías, hepatoesplenomegalia y, raramente, brote cutáneo máculo-papular pretibial ⁽⁵⁾. El segundo estadio de la leptospirosis aguda, o fase inmune, se caracteriza porque desaparecen los microorganismos de la sangre, lo que coincide con la aparición de los anticuerpos séricos ⁽⁴⁾. Puede confundirse fácilmente con otros síndromes febriles íctero-hemorrágicos, como dengue,

malaria, hepatitis o fiebres hemorrágicas virales⁽¹⁷⁾; de ahí, la relevancia de tener alta sospecha clínica y considerar la leptospirosis entre los diagnósticos de etiología infecciosa.

Puede existir compromiso pulmonar, con una incidencia que varía entre 20 y 70 % de casos. Los síntomas aparecen entre el cuarto y el sexto día de la enfermedad, y puede causar la muerte en menos de 72 horas. Se presenta hemoptisis en 2 a 25 % de los casos y dolor torácico en 10 %⁽⁵⁾. La forma más frecuente de presentación es la hemorragia alveolar acompañada de hemoptisis y disnea, con gravedad y mortalidad variables; esta última puede llegar a ser de 30 a 60 %. Es importante resaltar que la gravedad no se relaciona con la presencia de ictericia⁽⁴⁾. Las radiografías presentan, generalmente, opacidades difusas que pueden estar diseminadas o consolidadas^(4,15). El compromiso pulmonar es la principal causa de muerte por leptospirosis en Brasil^(2,9).

Puede cursar, también, con compromiso hepático, produciendo cuadros íctero-hemorrágicos complicados que pueden llevar a colapso vascular, insuficiencia renal aguda por necrosis tubular aguda y afección vascular con vasculitis. Puede presentarse la combinación de compromiso hepático y renal serio, con ictericia grave y daño renal. Esto se conoce como enfermedad de Weil, un síndrome de compromiso multisistémico que fue descrito en 1886^(4,5), que es una complicación grave con gran mortalidad, como se observó en dos de nuestros pacientes, los cuales fallecieron con esta presentación. Se ha reportado también compromiso ocular, con hemorragia subconjuntival y uveítis, y en 1993 se presentó una revisión de 16 casos en mujeres embarazadas, con 8 abortos y 3 infecciones congénitas⁽³⁾.

El diagnóstico de leptospirosis se basa en los exámenes específicos, como el aislamiento microbiano de las *Leptospiras*; el microorganismo se recupera de sangre, tejidos o líquido cefalorraquídeo en la fase aguda, o en la orina, a los cinco a siete días después del inicio de los síntomas⁽⁴⁾. También, puede cultivarse durante varias

semanas en medios especiales, con suplementos de ácido oleico y albúmina,⁽⁵⁾.

Hay disponibles para el diagnóstico pruebas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual es positiva en 50 % de los casos, con mayor sensibilidad en sangre. El valor de esta prueba está determinado por su capacidad para confirmar casos durante la fase aguda, antes de que los anticuerpos puedan ser detectados por las pruebas serológicas habituales^(3,4,17).

La prueba serológica de referencia –recomendada por la OMS– es la aglutinación microscópica (MAT), que usa antígenos vivos para el diagnóstico serológico; se utiliza para detectar anticuerpos anti-*Leptospira* en suero⁽¹⁾. Se considera positiva con títulos de anticuerpos de 800 o mayores, o cuando hay aumento de cuatro veces en el título de anticuerpos tomados en la fase aguda, en comparación con la fase de convalecencia.

Otros métodos son la ELISA y la hemaglutinación indirecta, usados principalmente para detectar IgM específica⁽⁴⁾. Los anticuerpos aglutinantes aparecen entre el sexto y el decimosegundo día de la enfermedad, con un pico entre la tercera y la cuarta semana, pudiendo ser positivos por varios años⁽²⁾. La microscopía de campo oscuro es otra forma de hacer el diagnóstico. Los demás exámenes de laboratorio son inespecíficos; en el uroanálisis aparece proteinuria y piuria, con hematuria o sin ella, y cilindros hialinos o granulares. En el hemograma se puede encontrar disminución de la hemoglobina, leucocitosis moderada con predominio de neutrófilos, trombocitopenia de grado variable, sin evidencia de otra coagulopatía de consumo. La creatinina y las pruebas de función hepática (bilirrubina, fosfatasas alcalinas y transaminasas) se pueden encontrar elevadas, al igual que la velocidad de eritrosedimentación⁽⁴⁾.

El tratamiento básicamente es de soporte. El inicio de la antibioticoterapia es controversial, aunque se recomienda su administración en los primeros días después de iniciados los síntomas.

Para la leptospirosis leve en adultos, se recomienda doxiciclina, amoxicilina, ciprofloxacina o eritromicina. En casos moderados a graves, tanto en adultos como en niños, se recomienda penicilina G, ampicilina o ceftriaxona ^(2,4,5). Según un estudio realizado en Brasil, en el que se administró penicilina a la mayoría de pacientes, se observó una disminución de la mortalidad ⁽²⁾. En algunos pacientes podría presentarse la reacción de Herxheimer, con exacerbación inicial del cuadro clínico, aumento de la temperatura e hipertensión con posterior hipotensión, debida posiblemente a la liberación masiva de componentes de la *Leptospira*, que actuarían como endotoxinas sobre las células mononucleares del huésped, produciendo liberación de citocinas ⁽⁴⁾.

Conclusiones

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de difícil diagnóstico por lo inespecífico de sus manifestaciones que requiere de alta sospecha clínica; por esta razón, se deben conocer los síntomas y signos sugestivos de esta enfermedad, para incluirla como diagnóstico diferencial en varias situaciones clínicas y solicitar las pruebas de laboratorio pertinentes.

Las principales complicaciones reportadas en los pacientes con leptospirosis, son la falla renal aguda y la hepática aguda, las cuales son potencialmente fatales.

Es importante el inicio oportuno del tratamiento antibiótico, incluso antes de obtener la confirmación microbiológica de la *Leptospira*; el medicamento de elección todavía es la penicilina, ya que no se ha descrito aún resistencia a este medicamento.

Es importante aplicar medidas de control y prevención, principalmente en las poblaciones en riesgo, para evitar la diseminación de la *Leptospira* y la aparición de brotes.

Consideramos importante adelantar posteriormente estudios que permitan diferenciar los serovares de *Lepstospira* spp. para determinar su

capacidad patógena, las fuentes de infección y otros factores, que permitan conocer el curso de esta enfermedad, las formas de presentación clínica y los desenlaces.

Agradecimientos

Al grupo de vigilancia epidemiológica del Hospital Universitario de San Vicente de Paúl, por la información suministrada.

Referencias

1. OMS/OPS. Definiciones de caso: dengue y leptospirosis. Boletín Epidemiológico OMS/OPS. 2000;21: 2000;21:14-5.
2. Daher E, Lima R, Júnior GS, Silva E, Karbage N, Kataoka R, et al. Clinical presentation of leptospirosis: A retrospective study of 201 patients in a metropolitan city of Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2010;14:3-10.
3. Zunino E, Pizarro R. Leptospirosis. Puesta al día. *Rev Chil Infect.* 2007;24:220-6.
4. Levett PN. *Leptospira*. En: Murray P, Baron E, Jorgensen J, Landry M, Pfaller M, editors. *Manual of clinical microbiology*. Ninth edition. Washington, D.C.: ASM; 2007. p. 963-70.
5. Levett P. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:296-326.
6. Céspedes M. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2005;22:290-307.
7. Góngora A, Parra J, Aponte L. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in population groups of Villavicencio, Colombia. *Rev Salud Pública.* 2008;10:269-78.
8. Scialfa E, Bolpe J, Bardón J, Ridaio G, Gentile J, Gallicchio O. Isolation of *Leptospira interrogans* from suburban rats in Tandil, Buenos Aires, Argentina *Rev Argent Microbiol.* 2010;42:126-8.
9. Dolhnikoff M, Mauad T, Bethlem E, Carvalholl C. Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis. *Braz J Infect Dis.* 2007;11:142-8.
10. Macías J, Vergara C, Romero C, Falconar AKI. Comportamiento de la leptospirosis en el departamento del Atlántico (Colombia), enero de 1999 a marzo de 2004. *Salud Uninorte Barranquilla (Colombia).* 2005;20:18-29.
11. Agudelo-Flórez P. Leptospirosis humana en Colombia: la experiencia del Instituto Colombiano de Medicina Tropical-CES. *Revista CES Medicina.* 2007;21(Supl.1):55-8.
12. Agudelo-Flórez P, Restrepo-Jaramillo B, Arboleda-Naranjo M. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. *Cad Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 2007;23:2094-102.
13. Estrada S, Ceballos MT. Espiroquetas. En: Díaz FJ, Estrada S, Franco L, Jaramillo JM, Ospina S, editors. *Microbiología de las infecciones humanas*. Medellín: CIB; 2007.
14. Rodríguez H, Lozano C, Bedoya C, Grondona L. Prevalencia de leptospirosis en humanos en la zona urbana del municipio de Puerto Libertador, Córdoba, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental.* 2009;0(1):23-8.
15. Po-Chang L, Chi C, Ho M, Chen C, Ho C, Wang J. Demographic and clinical features of leptospirosis: Three-year experience in central Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2008;41:145-50.
16. Quitián H, Parra J, Góngora A, Parra J, Gallego J, Aponte LH. Seroprevalencia de infección por *Leptospira* spp. en auxiliares y veterinarios de consultorios de pequeños animales de Villavicencio (Colombia). *Salud Uninorte Barranquilla (Colombia).* 2009;25:47-55.
17. Cardona M, Moros R, López E, Pérez J, Hernández R. Diagnóstico de leptospirosis mediante la PCR en pacientes con síndrome febril icterohemorrágico. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.* 2008;28:24-30.