

Artículo Original

Seroprevalencia de infección por *Leptospira* en habitantes de comunidad rural de Yucatán, México

Alex Antonio Sosa-Solís¹, Nayely Pech-Sosa¹, Carlos Pérez-Osorio¹, María F. Cárdenas-Marrufo¹

¹Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN

Introducción: La leptospirosis es una enfermedad zoonótica producida por una espiroqueta del género *Leptospira*. Constituye un problema creciente de salud pública, evidenciado por el aumento de las tasas de incidencia y múltiples brotes en todos los continentes. En Yucatán las condiciones ecológicas propician la endemia de la enfermedad, evidencia de esto son los reportes encontrados en el estado desde 1920 hasta la fecha, sin embargo, a pesar de los datos aportados aún no se conoce el número real de pacientes y la magnitud de la distribución. **Objetivo:** Determinar la seroprevalencia y los factores asociados a la leptospirosis en San Francisco Grande, Tinum, Yucatán. **Material y Métodos.** Se realizó un estudio observacional, transversal y prospectivo. Se efectuó una entrevista con el propósito de obtener información sociodemográfica y posibles factores de riesgo que se asocian a la infección. Posteriormente se procedió a la toma de muestra sanguínea para detección de leptospirosis a través del diagnóstico serológico, se utilizó la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT), mediante microscopia de campo obscuro. **Resultados.** Se encontró una seroprevalencia a leptospirosis en esta localidad de 27.7% con una fuerte asociación hacia el género masculino (RM=5.51, IC₉₅=2.11 a 14.44, p= 0.0003). También se observó una asociación con la actividad ocupacional (campesino) (RM=7.05, IC₉₅=2.05 a 24.24 p=0.0008). Otras asociaciones encontradas fueron tabaquismo (RM=5.62, IC₉₅=0.99 a 31.81, p=0.028) y tener convivencia con animales (RM=3.24, IC₉₅=1.18 a 8.9 y p=0.007) principalmente perros (RM=2.43, IC₉₅=1.13 a 5.24 y p=0.01). **Conclusiones.** Se encontró una alta seroprevalencia de leptospirosis en la localidad estudiada con un gran desconocimiento sobre las medidas de prevención de la enfermedad. Los factores de riesgo que encontramos son consistentes con otros informes y están en estrecha relación con las condiciones laborales, ambiente insalubre, y pobreza, por lo que es prioridad realizar educación para la salud.

Palabras Clave Leptospirosis, seroprevalencia, factores asociados, Yucatán.

SUMMARY

Introduction: Leptospirosis is a zoonotic disease caused by spirochetes of the genus *Leptospira* and recognized as one of the re-emerging diseases of major global importance. Is a growing public health problem, as evidenced by the increase in incidence rates and multiple outbreaks in all continents. In Yucatan, ecological conditions favor the endemicity of the disease, evidence of this are the reports found in the state since 1920 to date, however, despite the data provided, the actual number of patients and the magnitude of the distribution are still unknown. **Objective:** To determine the seroprevalence and factors associated with leptospirosis in San Francisco Grande Tinum, Yucatan. **Material and methods.** An observational, cross-sectional and prospective study was performed. An interview was conducted with the purpose of obtaining sociodemographic information and possible risk factors that are associated with the infection. Afterwards, a blood sample was taken for the detection of leptospirosis through serological diagnosis, using the Microscopic Agglutination Technique (MAT) through dark-field microscopy. **Results:** A seroprevalence of 27.7% of leptospirosis was found in this location with a strong association for the male gender (OR=5.51, IC₉₅=2.11 to 14.44, p= 0.0003). There was also an association with occupational activity (peasant) (OR=7.05, IC₉₅=2.05 to 24.24 p=0.0008). Other associations found were smoking (OR = 5.62, IC₉₅ = 0.99 to 31.81, p = 0.028) and living with animals (OR = 3.24, IC₉₅ = 1.18 to 8.9 and p = 0.007) mainly dogs (OR = 2.43, IC₉₅ = 1.13 to 5.24 and p = 0.01). **Conclusions:** A high seroprevalence of leptospirosis was found in the studied area combined with a lack of knowledge about the prevention measures of the disease. The risk factors that exist are consistent with other reports and are closely related to working conditions, the unhealthy environment and poverty, so it is a priority to carry out health education.

Key Words: Leptospirosis, seroprevalence, associated factors, Yucatán.

Autor de correspondencia: María F. Cárdenas-Marrufo, correo electrónico: cmarrufo@correo.uady.mx

Fecha de Recepción: 24 de octubre de 2018

Fecha de Aceptación: 20 de diciembre de 2018

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica causada por espiroquetas del género *Leptospira*, reconocida como una de las enfermedades reemergentes de importancia mundial por el compromiso de la salud humana, animal y por sus repercusiones económicas (1). La leptospirosis es una infección bacteriana transmitida de animales a humanos por contacto directo con la orina de animales domésticos infectados, o indirectamente a partir de agua contaminada que entre en contacto con abrasiones, heridas en la piel o por vía conjuntiva. La infección generalmente está presente todo el año, pero es más frecuente durante la temporada de lluvias, ya que las bacterias pueden sobrevivir durante varias semanas en ambientes húmedos, cálidos y ligeramente alcalinos. La manifestación clínica de la enfermedad muestra una amplia gama de síntomas como cuadro febril, dolor de cabeza, artralgia, mialgia severa, los cuales pueden confundirse con enfermedades infecciosas como dengue, influenza, hantavirus y rickettsiosis entre otras (2). Constituye un problema creciente de salud pública, evidenciado por el aumento de las tasas de incidencia y múltiples brotes en todos los continentes. Es considerada una enfermedad tropical desatendida por lo cual se desconoce su carga global, la incidencia estimada de medio millón de casos anuales graves en el hombre es sólo una aproximación (3). El primer reporte de leptospirosis en México se realizó en pacientes de Mérida, Yucatán, en el año de 1920, en un supuesto brote de fiebre amarilla (4). Estudios epidemiológicos muestran que entre 2000-2010 la enfermedad se ha extendido por toda la República Mexicana (5). El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica ha reportado 2,509 casos de leptospirosis en humanos durante los años 2010 a 2017, siendo Tabasco, Veracruz y Sinaloa los estados más afectados (6), sin embargo, esta cifra sólo es un aproximado, ya que, no refleja el número de casos reales debido a la falta de notificación y al sub-diagnóstico por desconocimiento de la enfermedad (7). En el estado de Yucatán se ha reportado una seroprevalencia humana de

14.2% y está asociada con el contacto con roedores y depósitos naturales de agua (8), y en animales reservorios se ha reportado una seropositividad de 30.5% (9). Las condiciones ecológicas en Yucatán propician la endemia de la enfermedad, es por esto que el presente estudio tiene por objetivo estimar la prevalencia de infección de leptospirosis y factores de riesgo asociados en una comunidad rural de Yucatán.

Material y Método

Se realizó un estudio transversal, en una población rural del municipio de Tinum, Yucatán, México. Se calculó el tamaño de la muestra con un intervalo de confianza de 95%, siendo de 166 personas. Igual número de personas mayores de 18 años aceptaron participar firmando el consentimiento informado, realizado bajo las pautas y recomendaciones internacionales y la normativa nacional vigente para asuntos éticos (10). A los hombres y mujeres que firmaron el consentimiento informado, se les realizó una entrevista mediante un cuestionario con el propósito de obtener información sociodemográfica, posibles factores de riesgo que se asocian a la infección de leptospirosis, así como sobre el conocimiento que tienen de la misma patología. Posteriormente en un área designada se procedió, previa asepsia, a la toma de una muestra de 5 ml de sangre venosa mediante el sistema Vacutainer BD®, estas se dejaron coagular y se centrifugaron a 2.500rpm durante cinco minutos. Se separó el suero en viales, los cuales fueron conservados en refrigeración a -4°C y se trasladaron al laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Yucatán, ahí fueron guardados en congelación a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras y los datos de los participantes fueron codificados para mantener la confidencialidad del estudio.

Para el diagnóstico serológico se utilizó la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT), mediante microscopia de campo oscuro, considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la prueba de referencia para el diagnóstico de leptospirosis (1,5). Se utilizó el antígeno vivo de

Tabla 1. Frecuencia de seropositividad para *Leptospira* por sexo, grupo etario, escolaridad, ocupación y nivel socioeconómico en habitantes de San Francisco Grande, Tinum, Yucatán.

Factores	Personas encuestadas n=166	Seropositivos n=46	%	RM	IC 95%	p
Sexo						
Mujer	145	33	22.75%	0.18	0.07-0.47	0.0003
*Hombre	21	13	61.9%	5.51	2.11-14.44	0.0003
Edad						
18-25	24	8	33.33%	1.37	0.54-3.46	0.255
26-45	89	22	24.72%	0.73	0.37-1.43	0.181
>45	53	16	30.19%	1.2	0.58-2.46	0.313
Escolaridad						
Baja	103	29	28.16%	1.06	0.53-2.14	0.438
Media	51	12	23.53%	0.73	0.34-1.57	0.217
Alta	12	5	41.67%	1.97	0.59-6.55	0.144
Ocupación						
Ama de casa	140	31	22.1%	0.21	0.09-0.51	0.0003
*Campesino	13	9	69.2%	7.05	2.05-24.24	0.0008
Nivel socioeconómico						
Bajo	4	1	25%	2.42	0.77-7.63	0.962
Muy bajo	162	45	27.8%	0.87	0.09-8.55	0.962

*p≤0.05

12 serovares de leptospirosis: *pomona*, *autumnalis*, *canicola*, *australis*, *hardjo*, *panamá*, *icterohaemorrhagiae*, *wolffi*, *gryppytyphosa*, *tarassovi*, *pyrogenes* y *bratislava*, prevalentes en Yucatán (8,9). Un título de 1: 100 fue considerado como punto de corte para determinar positividad. Cuando se detectaron anticuerpos a dos o más serovares, se consideró como serovar infectante el que presentó un título más alto (11).

Los resultados fueron capturados en una base de datos, se realizó el análisis estadístico univariado para el cálculo de las medidas de tendencia central; para el análisis bivariado se utilizó la prueba de ji al cuadrado, considerando una $p \leq 0.05$ como significativo, así como la razón de momios (RM) con un intervalo de confianza del 95% (IC₉₅), para establecer asociación entre la presencia de anticuerpos y los factores de riesgo potencialmente asociados. Se utilizó el programa estadístico SPSS® versión 21.

Aspectos éticos. La recolección de las muestras y la obtención de la información se ajustaron a las normas éticas de garantía de la confidencialidad, de los beneficios y del riesgo mínimo para los

participantes, quienes firmaron el consentimiento informado antes de su participación en el estudio, cumpliendo con los dictámenes de la legislación mexicana descrita en la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (10).

Resultados

Ciento sesenta y seis personas mayores de 18 años de la comisaría de San Francisco Grande Tinum, Yucatán, participaron en el estudio, de las cuales el 87.35% (145) fueron mujeres y el resto fueron hombres. Además, todos se encontraban asintomáticos al momento del estudio.

La Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT) determinó que la seroprevalencia a leptospirosis en esta localidad fue del 27.7% (46) para algún serovar de *leptospira*. Igualmente se encontró que el 61.9% (13) de los hombres y 22.76% (33) de las mujeres fueron positivos, además se encontró una fuerte asociación entre ser hombre y la seropositividad a anticuerpos contra *leptospira* (RM=5.51, $p=0.0003$) (Tabla 1).

Tabla 2. Factores asociados a leptospirosis en habitantes de San Francisco Grande, Tinum, Yucatán

Factores	Personas encuestadas n=166	Seropositivos n=46	%	RM	IC95%	p
Conocimiento de la enfermedad	3	1	33.3%	1.31	0.12-14.8	0.405
Alcoholismo	41	12	29.3%	1.12	0.51-2.42	0.395
*Tabaquismo	6	4	66.6%	5.62	0.99-31.81	0.028
Consumo de drogas	2	1	50%	2.64	1.16-43.18	0.277
*Convivencia con animales	127	41	32.3%	3.24	1.18-8.9	0.007
<u>Becerro</u>	2	1	100%	2.64	0.16-43.17	0.277
<u>Caballo</u>	2	1	100%	2.64	0.16-43.17	0.277
<u>Cerdo</u>	22	8	36.4%	1.59	0.62-4.1	0.172
<u>Conejo</u>	2	1	50%	2.64	0.16-43.17	0.277
<u>Gallina</u>	24	7	29.2%	1.09	0.42-2.82	0.425
<u>Gato</u>	44	12	27.3%	0.97	0.45-2.1	0.476
<u>Loro</u>	3	1	33.3%	1.31	0.12-14.81	0.406
<u>Pato</u>	2	1	100%	2.64	0.16-43.17	0.277
* <u>Perro</u>	103	35	34%	2.43	1.13-5.24	0.01
<u>Pollo</u>	13	5	38.5%	1.71	0.53-5.52	0.193
<u>Vaca</u>	2	1	100%	2.64	0.16-43.17	0.277
Convivencia con roedores	101	30	29.7%	1.29	0.64-2.63	0.242
Contacto con charcos	13	3	23.1%	0.77	0.2-0.92	0.368
Bañarse en cenotes	12	4	33.3%	1.33	0.38-4.66	0.324
Andar descalzo	67	21	31.3%	1.35	0.68-2.69	0.198

* $p \leq 0.05$

En este mismo cuadro se presentan además las frecuencias de seropositividad y su asociación con las variables sociodemográficas entre los habitantes de la comunidad estudiada. A partir de ese cuadro se puede observar que, en actividad ocupacional, el total de campesinos que participaron en el estudio, el 69.2% (9) fueron seropositivos a anticuerpos contra *leptospira* con una fuerte asociación entre éstas dos variables (RM=7.05, $p=0.0008$).

Al analizar los factores de riesgo potencialmente asociados a leptospirosis (Tabla 2), se puede observar que la convivencia con animales mostró asociación con la presencia de anticuerpos contra *leptospira* (RM=3.24, IC₉₅=1.18 a 8.9 y $p=0.007$). Siendo la convivencia con perros la más significativa (RM=2.43, IC₉₅=1.13-5.24 y $p=0.01$). Igualmente, se puede ver que el tabaquismo presentó asociación con la leptospirosis

(RM=5.62, IC₉₅=0.99-31.81 y $p=0.028$), cabe mencionar que todas las personas con tabaquismo eran hombres.

Por otro lado, encontramos que del total de las 46 muestras positivas a *Leptospira*, en 9 (26.1%) predominó el serovar *australis* seguido de los serovares *bratislava* 8 (17.4%) y *wolffi* 7 (15.2%) respectivamente. En cuanto al número de serovares, el 91.3% (42) de los infectados fue positivo a un serovar y un 8.7% (4) fue positivo a dos serovares, de los cuales 3 lo fueron para *australis* y *bratislava* y 1 para *wolffi* y *pomona* (Tabla 3).

Discusión

En México, no se conoce con exactitud el número de casos de leptospirosis, es una zoonosis raramente diagnosticada, probablemente por

Tabla 3. Frecuencia de positividad a microaglutinación según serogrupo, serovar y sus títulos

SEROGRUPO	SEROVAR	POSITIVOS	%	1:100	1:200	1:400
Australis	Australis	12	26.1%	9	2	1
Australis	Bratislava	8	17.4%	6	2	0
Sejroe	Wolffi	7	15.2%	7	0	0
Pomona	Pomona	5	10.9%	4	1	0
Canicola	Canicola	5	10.9%	5	0	0
Grippothyposa	Grippothyposa	4	8.7%	4	0	0
Tarassovi	Tarassovi	3	6.5%	3	0	0
Panama	Panama	3	6.5%	2	1	0
Pyrogenes	Pyrogenes	2	4.3%	2	0	0
Autumnales	Autumnalis	1	2.2%	1	0	0
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	0	0%	0	0	0
Sejroe	Hardjo	0	0%	0	0	0

falta de conocimiento de la enfermedad o porque los casos no son reportados como leptospirosis, debido a que otras enfermedades presentan los mismos signos y síntomas.

En este estudio realizado en la comisaría de San Francisco Grande, Tinum, Yucatán se determinó una seroprevalencia de 27.71% para leptospirosis, la cual se encuentra por encima de la media estatal de 14.2% reportada a partir de un estudio realizado durante el período 1998-2000 (8). A pesar de que hubo una mayor participación de las mujeres de San Francisco Grande, al analizar la variable sexo, se encontró que existe una fuerte asociación entre ser hombre y la exposición a *leptospira*, lo que puede ser un reflejo de la exposición ocupacional en las actividades dominadas por el hombre (5). Esto queda evidenciado en el resultado obtenido al analizar la variable ocupación, donde se determinó que ser campesino es un factor de riesgo para contraer leptospirosis ($p=0.0008$), pudiéndose deber, a que la actividad laboral de los campesinos los hace tener mayor contacto con animales reservorios portadores del patógeno, como cerdos, ganado bovino, roedores (12); además de las actividades agropecuarias que permiten mantenerlo en contacto con depósitos naturales de agua que pudieran estar contaminadas con la orina de animales infectados. Se ha documentado que la bacteria persiste durante semanas o meses después de su excreción en agua o suelo húmedo (13, 14), aumentando el riesgo de infección.

La asociación estadística más significativa de los factores evaluados fue la convivencia con animales ($p=0.007$), ya considerado en otros estudios como factor de riesgo para contraer leptospirosis (1,2, 15); esto por el hecho de ser una enfermedad zoonótica, además, se ha reportado que las personas que tienen antecedente de contacto con animales reservorios tienen 7.5 veces mayor probabilidad de enfermar por leptospirosis que aquellos que no cuentan con el antecedente (5). La convivencia con perros se considera un factor de riesgo ($p=0.01$) para la localidad de San Francisco Grande. Esto concuerda con estudios previos donde se sugiere al perro como potencial diseminador de *leptospira* en áreas urbanas y rurales en el estado de Yucatán (8, 9, 16).

Es interesante observar que el 66.6% de las personas que presentan tabaquismo resultaron seropositivos indicando una fuerte asociación entre ambas variables ($p=0.028$), tal cual fue reportado por Cook et. al. en 2017 en Kenia, determinó que fumar es un riesgo para personas que trabajaban en mataderos de animales, y que fumar durante la jornada laboral, incrementa el riesgo de adquirir la infección, ya que al trabajar con este tipo de animales y tener contacto con sus fluidos, contaminan sus manos y posteriormente tienen contacto con su boca al fumar un cigarrillo (17). Es la primera vez que esta variable es abordada como factor de riesgo en estudios realizados en México y Yucatán, por

lo que se sugiere incluirla en estudios con población ocupacionalmente expuesta.

Por otro lado, a pesar de que no se encontró una asociación estadísticamente significativa en el nivel de estudios, es interesante observar que el 41.67% de los que tenían un nivel educativo alto (bachillerato o licenciatura) presentaron seropositividad, lo que no concuerda con los estudios efectuados por otros investigadores, los cuales reportan que la mayor seroprevalencia de leptospirosis se encuentra en el nivel educativo bajo (menor o igual a primaria) (18, 19). Sin embargo, en nuestro estudio encontramos insuficiente conocimiento sobre la leptospirosis y el papel que juegan los animales en su transmisión, solamente el 1.8% de la población estudiada manifestó conocer o haber escuchado acerca de esta enfermedad; este resultado ha sido consistente en estudios previos realizados en Yucatán (20, 21). El Grupo de Referencia de Epidemiología de la Carga de Leptospirosis (LERG) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha evidenciado que la falta de conocimiento sobre leptospirosis entre la población general, los profesionales médicos y veterinarios, así como en los sistemas de vigilancia, podrían poner las barreras que determinen la verdadera carga global de la enfermedad y se reconozca la importancia de esta (22).

El serovares más frecuente encontrados fueron *australis*, *bratislava* y *wolffi*; es importante señalar que el serovar *australis* se puede encontrar en cualquier tipo de animal salvaje, *bratislava* se encuentra principalmente en porcinos y *wolffi* en bovinos (8). Debido a que la mayor parte de la población estudiada convive con este tipo de animales y se dedica a la cría de ellos, los hace más susceptible a la infección por estos serovares. Es interesante que estos resultados no concuerdan con el estudio en Yucatán de Vado et. al. durante 1998 a 2000, donde los serovares más frecuentes fueron *panama* y *pomona* (9). Es posible que estas diferencias se deban a cambios en los factores asociados al riesgo de leptospirosis, entre los que se pueden mencionar los cambios climáticos, cambios en los sistemas de producción

agropecuaria (incluyendo la importación de animales y sus productos) y del uso del suelo, al igual que la deforestación

En San Francisco Grande existe deficiencia de medidas preventivas y se practican varias actividades de riesgo para contraer la enfermedad, lo que se observa en la alta prevalencia encontrada, por lo cual es importante fomentar en la población el conocimiento, que posibilite la toma de decisiones para adoptar conductas saludables, en la prevención de la leptospirosis, enfermedad endémica en Yucatán.

Referencias

1. OMS. Leptospirosis humana: Guía para el diagnóstico, vigilancia y control (Internet). 2008. (Consultado 15 septiembre 2018). Disponible en: <https://www.paho.org/dor/images/stories/archivos/leptospirosis/who-guia-lepto-2003-spa.pdf>.
2. Bharti A, Nally J, Ricaldi J, Matthias M, Díaz M, Lovett M, Levett P, Gilman H, Willig M, Gotuzzo E, Vinetz J. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance (Internet). The Lancet Infectious Disease. 2003; 3(12):751-771.
3. Hartskeerl RA, Collares-Pereira M, Ellis WA. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world 2011. Clin Microbiol Infect 2011;17(4):494-501.
4. Noguchi H, Kligler IJ Immunological Studies With A Strain Of Leptospira Isolated From A Case Of Yellow Fever In Merida, Yucatan J Exp Med. 1920;32(5):627-37.
5. Secretaría de Salud. Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la leptospirosis (Internet). 2012. (Consultado 16 septiembre 2018). Disponible en: http://187.191.75.115/gobmx/salud/documentos/manuales/14_Manual_Leptospirosis.pdf
5. Secretaría de Salud; Dirección general de Epidemiología. Boletín epidemiológico:

- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Sistema Único de información (Internet). México; 2018 (citado 28 agosto 2018). Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/historico-boletin-epidemiologico>
7. Sánchez-Montes S, Espinosa-Martínez D, Ríos-Muñoz C, Berzunza-Cruz M, Becker I. Leptospirosis in Mexico: Epidemiology and potential distribution of human cases. *PLOS ONE*, 2015 10(7): 1-16.
 8. Vado I, Cárdenas M, Laviada H, Vargas F, Jiménez B, Zavala J. Estudio de casos clínicos e incidencia de leptospirosis humana en el estado de Yucatán, México durante el período 1998 a 2000. *Revista biomédica*. 2002; 13:157-164.
 9. Cárdenas-Marrufo M, Vado-Solís I, Pérez-Osorio C, Segura-Correa J. Seropositivity to leptospirosis in domestic reservoirs and detection of *Leptospira* spp. From water sources, in farms of Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 2011; 14(1):185-189
 10. Secretaría de Salud. Reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud (Internet). México: 2017. (Consultado 10 Julio 2018). Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compil/rlgsmis.html>
 11. Mayers D.M. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis. Nota técnica 30. CEPANZO OPS. Buenos Aires, Argentina, 1985. p.7-8
 12. Sakinah S, Suhailah S, Jamaluddin T, Norbaya S, Malina O. Seroprevalence of leptospiral antibodies and knowledge, attitude and practices of leptospirosis to non high risk group in Selangor. *International Journal of Public Health and Clinical Sciences*. 2015; 1(1):92-104
 13. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14: 296–326.
 14. Mwachui MA, Crump L, Hartskeerl R, Zinsstag J, Hattendorf J. Environmental and Behavioural Determinants of Leptospirosis Transmission: A Systematic Review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2015; 9(9): e0003843. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003843>
 15. Pulido-Villamarín A, Carreño-Beltrán G, Mercado-Reyes M, Ramírez-Bulla P Situación epidemiológica de la leptospirosis humana en Centroamérica, Suramérica y el Caribe (2006-2013). *Universitas Scientiarum*, 2014;19(3): 247-264 doi: 10.11144/Javeriana.SC19-3.selh
 16. Ortega-Pacheco A, Guzmán-Marín E, Acosta-Viana K, Vado-Solís I, Jiménez-Delgadillo B, Cárdenas-Marrufo M, Pérez-Osorio C, Puerto M. Serological survey of *Leptospira interrogans*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi* in free roaming domestic dogs and cats from a marginated rural area of Yucatan Mexico. *Vet Med Sci*. 2017; 3(1): 40–47.
 17. Cook E, Glanville W, Thomas L, Kariuki S, Bronsvort B, Févre E. Risk factors for leptospirosis seropositivity in slaughterhouse workers in western Kenya. *Occupational & Environmental Medicine*: 2017; 74:357-365
 18. Intriago E. Caracterización clínica epidemiológica de la leptospirosis en la localidad Casa Grande- provincia de Manabí, año 2012. Medidas de prevención [Tesis]. [Ecuador]: Universidad de Guayaquil; 2012. 72 p.
 19. García M, Herrera M, Pérez A, Castillo L, Kestler R. Seroprevalencia de leptospirosis humana en un asentamiento del área urbana de la ciudad de Guatemala. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2013; 65(2): 166-176
 20. Vado-Solís I, Cárdenas-Marrufo M, Pérez-Osorio C, Jiménez-Delgadillo B, Arias-León J, Peniche-Lara G. Leptospirosis: una enfermedad ocupacional en trabajadores que conviven con bovinos seropositivos en el estado de Yucatán. *Ciencia y Humanismo en la Salud*, 2014; 1(1):4-13
 21. Cárdenas-Marrufo M, Vado-Solís I, Pérez-Osorio C, Peniche-Lara G, Segura-Correa J. A cross sectional study of leptospirosis and

fetal death in Yucatán, México. *Colombia Médica*, 2016; 47(1): 11-14.

22. Burden. Leptospirosis. *Epidemiology Reference Group (LERG). Report of the Second Meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group*. 2011 pp. 1–37