

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / ORIGINAL RESEARCH PAPER

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-*Leishmania*
(Trypanosomatidae) EN POBLACIONES CANINAS DEL
DEPARTAMENTO DE SUCRE, COLOMBIA**

**Detection of Anti-*Leishmania* Antibodies (Trypanosomatidae) in
Canine Populations in the Department of Sucre, Colombia**

Luís Enrique PATERNINA TUIRÁN¹, Yirys Arleth DÍAZ-OLMOS¹, Margaret PATERNINA-GÓMEZ¹, Lina María CARRILLO-BONILLA^{2,3}, Iván Darío VÉLEZ², Eduar Elías BEJARANO¹.

¹ Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre. Cra 14 n°. 16B-32. Sincelejo, Colombia.

² Programa de Estudio y Control del Enfermedades Tropicales – PECET. Universidad de Antioquía. Calle 62 n°. 52-59. Medellín, Colombia.

³ Facultad de Ciencias Agrarias, Ciudadela de Robledo, Universidad de Antioquía. Carrera 75 n°. 65-87. Medellín, Colombia.

For correspondence. luispaterninat@gmail.com

Received: 3rd February 2015, **Returned for revision:** 11st June 2015, **Accepted:** 3rd August 2015.

Associate Editor: Adriano Gomes da Silva.

Citation / Citar este artículo como: Paternina Tuirán LE, Díaz-Olmos YA, Paternina-Gómez M, Carrillo-Bonilla LM, Vélez ID, Bejarano EE. Detección de anticuerpos anti-*Leishmania* (Trypanosomatidae) en poblaciones caninas del departamento de Sucre, Colombia. Acta biol. Colomb. 2016;21(1):183-188. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.48845>

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la prevalencia de anticuerpos anti-*Leishmania* en perros del departamento de Sucre, Colombia. Se analizaron 122 perros del área rural de los municipios de Ovejas, Sampués y Sincelejo, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Anticuerpos anti-*Leishmania* fueron detectados en el 69,6% (IC95% = 61,1 – 78,2) de la población canina estudiada. En el municipio de Sincelejo la seropositividad fue del 72% (IC95% = 61,1 – 82,8), en el municipio de Sampués del 68,4% (IC95% = 52,3 – 84,5) y en el municipio de Ovejas del 55,5% (IC95% = 21,2 – 86,3). Los animales seropositivos fueron principalmente caninos jóvenes y adultos. El 17,6% de los perros seropositivos mostró signos clínicos compatibles con leishmaniasis canina, entre los cuales la onicogriphosis, alopecia y caquexia fueron los más comunes. La alta frecuencia de caninos con anticuerpos a *Leishmania* detectada en el presente estudio, pone de manifiesto la hiperendemicidad de la leishmaniasis canina en esta zona del país, así como el alto riesgo de brotes epidémicos de la enfermedad.

Palabras clave: Colombia, epidemiología, Leishmaniasis, seroprevalencia.

ABSTRACT

The aim of this survey was to determine prevalence of antibodies against *Leishmania* in dogs from Sucre, Colombia. We analyzed 122 dogs in rural areas from municipalities of Sampués, Ovejas and Sincelejo, by indirect immunofluorescence (IFA). Anti-*Leishmania* antibodies were detected in 69.6% (95% CI = 61.1 to 78.2) of the selected canine population. In the municipality of Sincelejo, Sampués and Ovejas, the seropositivities were 72% (95% CI = 61.1 to 82.8), 68.4% (95% CI = 52.3 to 84.5) and 55.5% (95% CI = 21.2 to 86.3) respectively. Seropositive animals were mainly young and adult dogs. The 17.6% of seropositive dogs showed clinical signs compatible with canine leishmaniasis; onychogryphosis, alopecia and cachexia were the most common ones. The detected high frequency of canines with antibodies against *Leishmania* in the present study, highlights the hyperendemicity status of canine leishmaniasis in this area of the country and the high risk of disease outbreaks.

Keywords: Colombia, epidemiology, Leishmaniasis, seroprevalence.



INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una enfermedad ocasionada por parásitos protozoarios del género *Leishmania*, la cual se considera endémica en 98 países de cinco continentes. Colombia se encuentra entre los diez países que aportan del 70 al 75 % de nuevos casos de leishmaniasis cutánea a nivel global, que constituye la presentación clínica más frecuente de la enfermedad en el mundo (Alvar *et al.*, 2012). El género *Leishmania* lo integran más de 21 especies médicamente importantes que realizan su ciclo de vida de manera heteroxénica, entre dípteros de la subfamilia Phlebotominae Rondani, 1840 y mamíferos, aunque también existen especies del género *Leishmania* o *Sauroleishmania* que infectan reptiles, sin importancia médica reportada hasta ahora (Croan *et al.*, 1997; Raymond *et al.*, 2012).

Varias especies del género *Leishmania* infectan al perro doméstico: *L. infantum*, que causa leishmaniasis visceral y cutánea, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. panamensis* y *L. mexicana*, que producen infecciones cutáneas (Massunari *et al.*, 2009; Santaella *et al.*, 2011; Vélez *et al.*, 2012; López-Céspedes *et al.*, 2012). Sin embargo, la importancia de la leishmaniasis canina ha radicado en el papel del perro como principal reservorio doméstico de *L. infantum* (Dantas-Torres, 2007), que en Colombia tiene a las especies flebotomíneas *Lutzomyia evansi* y *Lutzomyia longipalpis* como vectores (Corredor *et al.*, 1989; Travi *et al.*, 1990).

En el Caribe colombiano se han detectado cuatro especies del género *Leishmania*: *L. infantum*, *L. braziliensis*, *L. panamensis* y *L. guyanensis* (Cochero, 2002; Martínez *et al.*, 2010), pero no se descarta que también circulen especies del complejo *L. mexicana*, debido a la presencia de reconocidos reservorios del género *Proechimys* (Travi *et al.*, 1998; Blanco *et al.*, 2012) y de vectores potenciales de estas especies de parásitos en la región (Bejarano, 2006; Maroli *et al.*, 2013).

Diferentes estudios han planteado el uso de caninos como bioindicadores de la circulación del parásito y del riesgo epidemiológico de leishmaniasis humana, considerando que los perros de cacería ingresan frecuentemente al hábitat de los vectores y que los perros de guardia descansan por fuera de las viviendas, por tanto se ven expuestos frecuentemente a la picadura por flebotomíneos infectados. La selección de técnicas serológicas para la detección de ese contacto es una alternativa apropiada, debido a que al ser generalmente una infección asintomática en estos animales, los métodos clínicos y parasitológicos pueden perder sensibilidad (Harith *et al.*, 1989; Massunari *et al.*, 2009). De este modo, ante la carencia de estudios serológicos recientes que estimen el grado de contacto entre caninos y parásitos del género *Leishmania* en el Caribe colombiano, el presente trabajo informa sobre una evaluación serológica de caninos de tres municipios del departamento de Sucre, como una forma de aproximación al estatus epidemiológico en la zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área y tipo de estudio

La zona de estudio correspondió a las siguientes áreas rurales del departamento de Sucre, vereda El Campín del municipio de Ovejas y los corregimientos Escobar Arriba y Sabanas del Potrero de los municipios de Sampués y Sincelejo, respectivamente. Entre los años 2006 y 2007 se registraron 23 casos de leishmaniasis visceral y 212 casos de leishmaniasis cutánea en humanos de estos municipios, que corresponden al 67 % de los casos de la enfermedad diagnosticados en el departamento de Sucre durante ese periodo (Secretaría de Salud de Sucre, datos no publicados). Aun cuando la mayoría de los casos provienen de ambientes rurales, en Sincelejo y Ovejas se ha evidenciado la ocurrencia de casos urbanos de la enfermedad (Bejarano *et al.*, 2002). En ambos municipios están presentes las especies flebotomíneas *Lu. evansi*, *Lu. panamensis*, *Lu. gomezi* y *Lu. c. cayennensis*, que se encuentran asociadas a la transmisión de parásitos del género *Leishmania* y otros tripanosomatídeos aún no identificados (Travi *et al.*, 1996; Cochero *et al.*, 2007).

La búsqueda activa de caninos fue realizada mediante la visita de cada una de las viviendas de las localidades seleccionadas para la investigación. Se realizó una encuesta con la que se tomaron datos básicos como edad, sexo y raza, además se determinó la presencia de signos clínicos compatibles con leishmaniasis canina. Considerando la naturaleza del estudio, éste se clasifica como de tipo descriptivo y transversal para estimar seroprevalencia (Stevenson, 2008).

Obtención de suero sanguíneo

Mediante punción de la vena braquial de los perros, se obtuvo 5 mL de sangre periférica en tubos sin anticoagulante, a partir de las cuales se extrajo el suero por centrifugación, el cual fue almacenado a -20 °C hasta la realización de la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

Detección de anticuerpos anti-*Leishmania* mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI)

La prueba IFI se realizó usando como antígeno promastigotes de *L. panamensis* (MHOM/CO/UA140). Un volumen de 20 µL de los sueros de caninos (diluciones dobles seriadas 1:8 hasta 1:128) y sueros controles fue depositado sobre los pozos de las placas sensibilizadas con el antígeno. Se usó como conjugado anti-IgG de perro marcada con fluoresceína más azul de Evans y se incubó nuevamente. Después de lavar y secar las placas a temperatura ambiente, se examinaron bajo un microscopio de epifluorescencia. Se consideró positiva toda muestra de suero que presentó fluorescencia a una dilución mayor o igual a 1:32.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos a través de la encuesta fueron tabulados para realizar un análisis descriptivo de la seropositividad a *Leishmania* en la población canina. Se

calculó la seroprevalencia global y por municipalidad. Para cada resultado se calculó el respectivo intervalo de confianza, a un nivel de 95 %, con el programa EpiDat 3.1. Adicionalmente, se probó la hipótesis de independencia entre la seroprevalencia y variables como sexo, grupos de edad y localidad mediante un análisis de Chi cuadrado con un nivel de confianza de 95 %, y se evaluó si existían diferencias significativas entre las tres seroprevalencias encontradas. Este análisis fue realizado con el fin de evaluar posibles factores asociados a la seropositividad a *Leishmania* en la población de perros estudiados.

Aspectos éticos

Cada canino fue incluido en el estudio con previo consentimiento de sus propietarios y todos los procedimientos fueron avalados por el Comité de Investigación de la Facultad de Educación y Ciencias de la Universidad de Sucre.

RESULTADOS

Fueron encuestadas 68 viviendas, 44 en Sabanas del Potrero, 20 en Escobar Arriba y cuatro en El Campín. El número de perros por vivienda osciló entre uno y cuatro individuos. Un total de 122 animales de raza mestiza fueron evaluados, 75

pertenecientes al municipio de Sincelejo, 38 al municipio de Sampués y nueve al municipio de Ovejas. El 66 % de la población canina estudiada fueron machos, y el 66,4% del total de animales correspondieron a las categorías de edad “jóvenes o adultos”, con 44 y 37 individuos, respectivamente (Fig. 1).

Anticuerpos anti-*Leishmania* fueron detectados en el 69,6 % (IC95 % = 61,1 – 78,2) de la población canina analizada del departamento de Sucre. Discriminada por localidad, la seroprevalencia fue de 72 % (IC95 % = 61,1 – 82,8) en el municipio de Sincelejo, 68,4 % (IC95 % = 52,3 – 84,5) en el municipio de Sampués y 55,5 % (IC95 % = 21,2 – 86,3) en el municipio de Ovejas. No se encontraron diferencias significativas entre los índices de seropositividad de los tres municipios ($p > 0,05$). La mayoría de los animales seropositivos perteneció a las poblaciones caninas jóvenes y adultas (Fig. 1), y el 64,7 % de los perros seropositivos fueron machos. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas entre los grupos etarios antes mencionados como tampoco entre sexos ($p > 0,05$).

La distribución de la población de perros, de acuerdo al título de anticuerpos detectado, indica que 41 (48,2 %) individuos presentaron títulos de 1:32, 40 (47 %) títulos de 1:64 y 4 (4,7 %) títulos de 1:128 (Fig. 2). Del total de perros seropositivos, el 17,6 % mostró signos clínicos compatibles

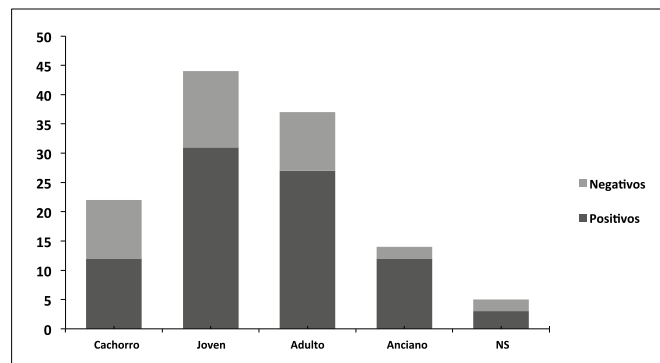


Figura 1. Frecuencia absoluta de los canes seropositivos (color negro en la barra) y negativos (color gris en la barra) en cada categoría de edad. Cachorro: 1-11 meses; Joven: 12- 24; Adulto: 25- 60; Anciano: > 60; NS: Categoría de edad desconocida.

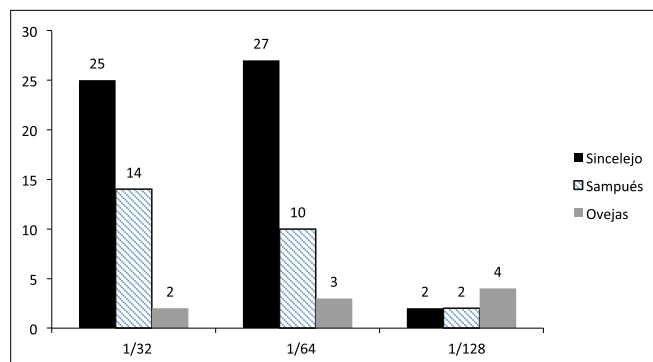


Figura 2. Caninos seropositivos por municipio y por dilución sérica. Las barras negras indican el número de perros de Sincelejo con cada título de anticuerpos, las barras con líneas el número de perros de Sampués y las grises el número de perros de Ovejas.

con leishmaniasis canina visceral, entre los cuales la caquexia (53,3 %), onicogriposis (40 %) y alopecia (20 %) fueron los más comunes (Fig. 3).

DISCUSIÓN

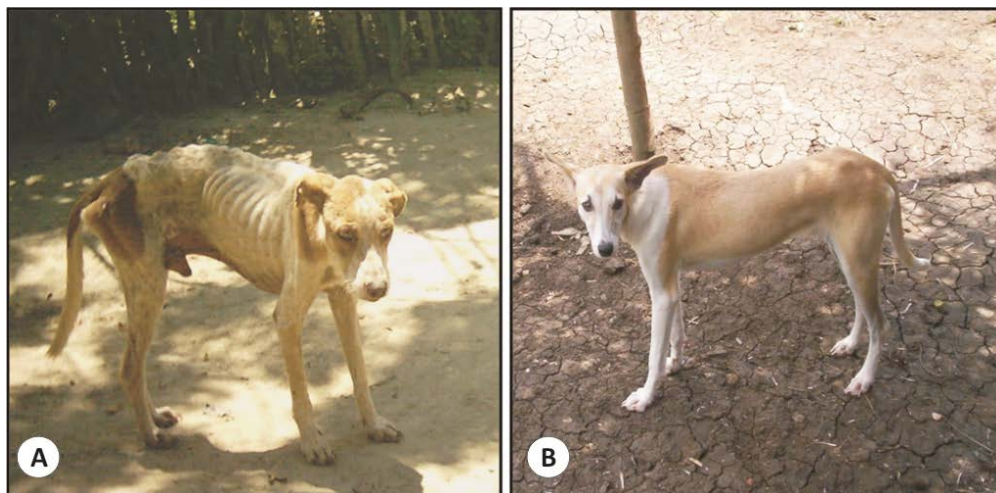
Leishmania infantum es el principal agente etiológico de la leishmaniasis canina (Alvar, 2001), otras especies que causan infección cutánea también han sido halladas en estos animales (Llanos-Cuentas *et al.*, 1999; Carrillo *et al.*, 2006, Travi *et al.*, 2006; Vásquez-Trujillo *et al.*, 2008; Velasco-Castrejón *et al.*, 2009; Santaella *et al.*, 2011; Vélez *et al.*, 2012; López-Céspedes *et al.*, 2012). Sin embargo, no ha sido posible establecer con exactitud el papel de los perros como posibles reservorios de estas especies de *Leishmania*.

La alta seroprevalencia global a *Leishmania* detectada en el presente estudio, 69,6 %, corrobora la hiperendemicidad de la leishmaniasis en esta zona del país, previamente detectada por métodos moleculares (Rivero, 2003; Paternina-Gómez *et al.*, 2013), así como el riesgo de brotes de la enfermedad en humanos, particularmente, si se considera que esta seroprevalencia es superior a la registrada en el departamento entre la década de los ochenta y noventa, que osciló entre el 1,9 % y 23 % (Le Pape, 1992; Bejarano y Rivera, 1996). Es importante destacar que el municipio de Sincelejo presentó un gran índice de seropositividad a *Leishmania* (72 %) comparable al encontrado en Sampués y Ovejas, a pesar que históricamente la incidencia de casos humanos de leishmaniasis ha sido mayor en estos dos últimos municipios (Secretaría de Salud de Sucre, datos no publicados).

Considerando la gran variedad de especies de *Leishmania* que puedan afectar a los caninos del departamento de Sucre (Martínez *et al.*, 2010), las características ecológicas de la zona que propician la proliferación de flebotomíneos vectores, así como el frecuente avistamiento en el área de potenciales

reservorios sinantrópicos de *Leishmania* como zarigüeyas y roedores, no es insospechado que la proporción de caninos seropositivos sea tan alta si se tiene en cuenta que la mayoría de estos animales descansa por fuera de la vivienda durante la noche, donde quedan expuestos a la picadura de vectores infectados, lo que favorecería la presencia de anticuerpos anti-*Leishmania*, sin que esto implique necesariamente el desarrollo de la enfermedad (Ferrer, 1999; Gallego, 2004), como lo demuestra el importante porcentaje de animales seropositivos que no mostraron signos clínicos sugestivos de leishmaniasis canina. El riesgo para los humanos radica en que estos caninos podrían actuar como reservorios de parásitos e infectar a flebotomíneos vectores presentes en la zona.

En la costa Caribe colombiana, zona en la que se presenta, anualmente, el mayor número de casos de leishmaniasis visceral humana del país, ha sido reportada una alta prevalencia de leishmaniasis en caninos, del 3,8 al 36 % empleando IFI, del 8,3 al 26,1 % por examen parasitológico directo y del 10 al 33,6 % por PCR (Vélez *et al.*, 1995; Fernández *et al.*, 2002; Rivero, 2003; Cortés, 2006, Paternina-Gómez *et al.*, 2013). La enfermedad también presenta alta endemicidad en los departamentos de Huila y Tolima con seroprevalencias entre el 5,2 y el 28,1 % (Fernández *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2006). Lo anterior contrasta con la elevada seroprevalencia a *Leishmania* aquí reportada, la cual constituye una de las más altas encontradas en el país y muestra la necesidad de implementar de manera urgente una campaña efectiva de control de la infección en los caninos, debido a la ineficacia de los métodos de control hasta ahora probados en la zona, entre los cuales está el sacrificio de perros seropositivos que solo sustenta el ciclo de transmisión del parásito con la introducción de nuevos individuos a la población canina existente (Courtenay *et al.*, 2002; Moreira *et al.*, 2004). En el área deberían evaluarse



A. Perro sintomático;

B. Perro asintomático.

Figura 3. Perros seropositivos a *Leishmania* en el municipio de Sincelejo.

estrategias alternas como el uso de collares impregnados con insecticidas para evitar que los perros infectados sean picados por los vectores y se conviertan en fuente de diseminación del parásito a otros perros y a humanos.

CONCLUSIONES

En conclusión, los perros de las tres áreas estudiadas en el departamento de Sucre presentan una alta exposición (69,6 %) a parásitos del género *Leishmania*, y aunque la prueba serológica positiva no indica una enfermedad activa en los perros, puede ser considerada en este contexto como un estimador del riesgo de enfermedad para los humanos si tenemos en cuenta que el perro es el principal reservorio doméstico de *L. infantum* y que *Lu. evansi* no solo es el vector comprobado de este parásito, sino también el díptero más abundante en la comunidad flebotomínea de la región (Travi *et al.*, 1996; Cochero, 2002).

AGRADECIMIENTOS

A la División de Investigación de la Universidad de Sucre (DIUS) y al Magíster Alveiro Pérez-Doria por su valioso apoyo en la recolección de muestras.

REFERENCIAS

- Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS ONE. 2012;7(5):e35671. Doi:10.1371/journal.pone.0035671
- Alvar J. Las leishmaniasis: de la biología al control. 2da edición. Salamanca: Laboratorios Intervet S.A; 2001. 200 p.
- Bejarano E, Rivera CM. Recopilación de trabajos de investigación sobre zoonosis y áreas afines. (Tesis de grado médico veterinario). Bogotá: Universidad de La Salle; 1996. 98 p.
- Bejarano EE, Uribe S, Rojas W, Vélez ID. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) associated with the appearance of urban leishmaniasis in the city of Sincelejo, Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97(5):645-647. Doi:10.1590/S0074-02762002000500010
- Bejarano EE. Lista actualizada de los psicódidos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. Folia Entomol Mex. 2006;45(1):47-56.
- Blanco P, Corrales H, Arroyo S, Pérez J, Álvarez L, Castellar A. Comunidad de roedores en el municipio de San Marcos, Sucre, Colombia. Rev Col Cienc Anim. 2012;4(1):89-101.
- Carrillo LM, Arévalo GM, García GM, López L, Castaño M, Colorado DP, *et al.* *Leishmania (Viannia) panamensis* en Colombia: descripción de casos clínicos en perros. Rev Cienc Pecuarias Col. 2006;18(4):372.
- Cochero S, Anaya Y, Díaz-Olmos Y, Paternina-Gómez M, Luna A, Paternina L, *et al.* Infección natural de *Lutzomyia cayennensis cayennensis* con parásitos tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Los Montes de María, Colombia. Rev Cubana Med Trop. 2007;59(1):35-39.
- Cochero S. Papel de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) como vector de leishmaniasis visceral en un foco en Los Montes de María (Trabajo de grado de Biología con énfasis en Biotecnología). Sincelejo: Universidad de Sucre; 2002. 93 p.
- Corredor A, Gallego JF, Tesh RB, Morales A, Ferro C, Young DG, *et al.* Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. Am J Trop Med Hyg. 1989;40:480-486.
- Cortés L. Foco de leishmaniasis en El Hobo, municipio de El Carmen de Bolívar, Bolívar, Colombia. Biomédica. 2006;26(Supl.1):236-241.
- Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Shaw JJ, Dye C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: Why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. J Inf Dis. 2002;186(9):1314-1320. Doi:10.1086/344312
- Croan DG, Morrison DA, Ellis JT. Evolution of the genus *Leishmania* revealed by comparison of DNA and RNA polymerase gene sequences. Mol Biochem Parasitol. 1997;89(2):149-159.
- Dantas-Torres F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Vet Parasitol. 2007;149(3-4):139-146. Doi:10.1016/j.vetpar.2007.07.007
- Fernández J, Charry T, Bello FJ, Escovar J, Ayala M, Nicholls RS, *et al.* Prevalencia de leishmaniosis canina en 17 veredas de los municipios de Neiva, Tello y Algeciras (Huila-Colombia). Revista de Investigación. 2002;1(Supl. 1):106-118.
- Fernández J, Bello F, López M, Moncada L, Vargas J, Ayala M, *et al.* Seroprevalencia de leishmaniasis visceral canina en la comuna 8 de Neiva y en cuatro municipios de Huila, Colombia. Biomédica. 2006;26(Supl.1):121-130.
- Ferrer L. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: Killick-Kendrick R, editor. Canine Leishmaniasis: an update. Barcelona: Hoechst Roussel Vet; 1999. p. 6-10.
- Gallego M. Zoonosis emergentes por patógenos parásitos: la leishmaniosis. Rev Sci Tech Off Int Epizoot. 2004;23(2):261-276.
- Harith AE, Slappendel RJ, Reiter I, Van Knapen F, De Korte P, Huigen E, *et al.* Application of a direct agglutination test for the detection of specific anti-*Leishmania* antibodies in the canine reservoir. J Clin Microbiol. 1989;27(10):2252-2257.
- Hashiguchi Y, Gomez EA, Coronel WV, Mimori T, Kawabata M, Furuya M, *et al.* Andean leishmaniasis in Ecuador caused by infection with *Leishmania mexicana* and *L. major-like* parasites. Am J Trop Med Hyg. 1991;44(2):205-217.
- Le Pape P. Écoépidémiologie de la leishmaniose a *Leishmania infantum* = *L. chagasi* dans la plaine des caraïbes (Colombie): corrélation vecteur et réservoir canin. (Tesis

- de Doctorado). Montpellier: Université de Montpellier I; 1992. 149 p.
- Llanos-Cuentas EA, Roncal N, Villaseca P, Paz L, Ogusuku E, Pérez JE, *et al.* Natural infections of *Leishmania peruviana* in animals in the Peruvian Andes. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1999;93(1):15-20.
- López-Céspedes A, Longoni S, Sauri-Arceo C, Sanchez-Moreno M, Rodríguez-Vivas E, Escobedo-Ortegón F, *et al.* *Leishmania* spp. Epidemiology of canine leishmaniasis in the Yucatan Peninsula. *ScientificWorld Journal.* 2012;2012: 945871. Doi:10.1100/2012/945871
- Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med Vet Entomol.* 2013;27(2):123-147. Doi:10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x
- Martínez L, Rebollo J, Luna A, Cochero S, Bejarano EE. Molecular identification of the parasites causing cutaneous leishmaniasis on the Caribbean coast of Colombia. *Res Parasitol.* 2010;106(3):647-652. Doi:10.1007/s00436-009-1712-6
- Massunari GK, Voltarelli EM, Santos DR, Santos AR, Poiani LP, de Oliveira O, *et al.* A serological and molecular investigation of American cutaneous leishmaniasis in dogs, three years after an outbreak in the Northwest of Paraná State, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2009;25(1):97-104. Doi:10.1590/S0102-311X2009000100010
- Moreira ED Jr, Mendes De Souza VM, Sreenivasan M, Nascimento EG, Pontes De Carvalho L. Assessment of an optimized dog-culling program in the dynamics of canine *Leishmania* transmission. *Vet Parasitol.* 2004;122(4):245-252. Doi:10.1016/j.vetpar.2004.05.019
- Paternina-Gómez M, Paternina LE, Díaz-Olmos Y, Bejarano EE. Alta prevalencia de infección por *Leishmania* (Kinetoplastidae: Trypanosomatidae) en perros del norte de Colombia. *Biomedica.* 2013;33(3):375-382. Doi:10.7705/biomedica.v33i3.780
- Raymond R, Boisvert S, Roy G, Ritt JF, Légaré D, Isnard A, *et al.* Genome sequencing of the lizard parasite *Leishmania tarentolae* reveals loss of genes associated to the intracellular stage of human pathogenic species. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(3):1131-1147. Doi:10.1093/nar/gkr834
- Rivero M. Identificación de *Leishmania chagasi* en *Canis familiaris* en un foco de Los Montes de María. (Trabajo de grado de Biología con énfasis en Biotecnología). Sincelejo: Universidad de Sucre; 2003. 93 p.
- Santaella J, Ocampo CB, Saravia NG, Méndez F, Góngora R, Gómez MA, *et al.* *Leishmania* (*Viannia*) infection in the domestic dog in Chaparral, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84(5):674-80. Doi:10.4269/ajtmh.2011.10-0159.
- Stevenson M. An introduction to veterinary epidemiology. New Zealand: Massey University; 2008. 99 p.
- Travi BL, Montoya J, Gallego J, Jaramillo C, Llano R, Vélez ID. Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in northern Colombia. *J Med Entomol.* 1996;33(3):278-285.
- Travi BL, Osorio Y, Becerra MT, Adler GH. Dynamics of *Leishmania chagasi* infection in small mammals of the undisturbed and degraded tropical dry forests of northern Colombia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1998;92(3):275-278.
- Travi BL, Tabares CJ, Cadena H. *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* infection in two Colombian dogs: a note on infectivity for sand flies and response to treatment. *Biomédica.* 2006;26(Supl.1):249-253. Doi:10.7705/biomedica.v26i1.1520
- Travi BL, Vélez ID, Brutus L, Segura I, Jaramillo C, Montoya J. *Lutzomyia evansi* an alternate vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1990;84:676-677.
- Vásquez-Trujillo A, González AE, Góngora A, Cabrera O, Santamaría E, Buitrago LS. Identificación de *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis* en caninos, en zona rural del municipio de Villavicencio, Meta, Colombia. *Orinoquia.* 2008;12(2):173-181.
- Velasco-Castrejón O, Rivas-Sanchez B, Munguía-Saldaña A, Habari O. Leishmaniasis cutánea de perros en México. *Enf Inf Microbiol.* 2009;29(3):135-140.
- Vélez ID, Carrillo LM, López L, Rodríguez E, Robledo SM. An epidemic outbreak of canine cutaneous leishmaniasis in Colombia caused by *Leishmania braziliensis* and *Leishmania panamensis*. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86(5):807-811. Doi:10.4269/ajtmh.2012.11-0408
- Vélez ID, Travi BL, Gallego J, Palma GI, Agudelo S, Montoya J, Jaramillo C, Llano R. Evaluación ecoepidemiológica de la leishmaniasis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. *Rev Colomb Entomol.* 1995;2(3):111-122.