

KHẢO SÁT HUYẾT THANH HỌC *LEPTOSPIRA* TRÊN CHÓ VÀ CHUỘT TẠI TỈNH CÀ MAU

Nguyễn Thị Bé Mười¹, Hồ Thị Việt Thu¹, Nguyễn Vũ Phong²

TÓM TẮT

Sự hiện hành của kháng thể kháng các nhóm huyết thanh của xoắn khuẩn *Leptospira* ở chó và chuột tại tỉnh Cà Mau đã được xác định bằng phản ứng vi ngưng kết (MAT) với 24 chủng (serogroup/serovar) kháng nguyên *Leptospira* sống. Kết quả khảo sát cho thấy 50/264 (18,94%) mẫu huyết thanh chó và 37/127 (29,13%) mẫu huyết thanh chuột có kháng thể kháng ít nhất 1 serovar. Ở chó có 14 serogroup *Leptospira* khác nhau, nhưng ở chuột có tới 15 serogroup khác nhau lưu hành. Hai serogroup hiện diện phổ biến nhất ở chuột là: *Icterohaemorrhagiae* (27,58%) và *Canicola* (19,67%), và ở chó là *Icterohaemorrhagiae* (21,31%), và *Canicola* (14,75%). Tỷ lệ nhiễm xoắn khuẩn ở chó nuôi thả là 24,44%, trong khi đó tỷ lệ này ở chó nuôi nhốt là 13,18%. Tỷ lệ nhiễm xoắn khuẩn ở chó và chuột ở vùng nước mặn thấp hơn vùng nước ngọt. Có 41/50 (82%) chó nhiễm 1 serogroup và 9/50 (18%) nhiễm nhiều serogroup. Có 26/37 (70,27%) chuột nhiễm 1 serogroup và 11/37 (29,73%) nhiễm nhiều serogroup. Kết quả khảo sát của chúng tôi đã chứng minh sự lưu hành cao của *Leptospira* ở chó và chuột tại địa bàn tỉnh Cà Mau và cảnh báo vai trò lưu giữ *Leptospira* ở hai loài động vật này có thể lây truyền sang người và động vật trong khu vực.

Từ khóa: Chó, Chuột, *Leptospira*, Phản ứng vi ngưng kết (MAT), Tỷ lệ dương tính, Tỉnh Cà Mau.

Seroprevalence of *Leptospiral* infection in dogs and rats in Ca Mau province

Nguyen Thi Be Muoi, Ho Thi Viet Thu, Nguyen Vu Phong

SUMMARY

Seroprevalence of *Leptospira* in dogs and rats in Ca Mau province was determined by microscopic agglutination test (MAT) with live antigens of 24 *Leptospira* serovars belonged to 18 serogroups.

The studied result showed that 18.94% of the samples from dogs (50/264) and 29.13% of those from rats (37/127) were positive to at least 1 serogroup. There were 14 *Leptospira* serogroups circulating among the dogs and 15 *Leptospira* serogroups circulating among the rats. The most predominant *Leptospira* serogroups found from rats were *Icterohaemorrhagiae* (27.58%) and *Canicola* (19.67%), whereas *Icterohaemorrhagiae* (21.31%) and *Canicola* (14.75%) were popularly prevalent in dogs. The seropositive rate of the free range raising dogs (24.44%) was higher than that of the in-door raising dogs (13.18%). The seropositive prevalence of *Leptospira* in dogs and rats raising in salt water region was lower than those in fresh water region. 41/50 dogs (82%) were infected with 1 serogroup and 9/50 dogs (18%) were seropositive to multiple serogroups. 26/37 rats (70.27%) were infected with 1 serogroup and 11/37 rats (29.73%) were seropositive to multiple serogroups. Our study results proved that there was a high prevalence of *Leptospira* in rats and dogs in Ca Mau province, suggesting a potentially important role of dog and rat as reservoirs of pathogenic *Leptospira*, to be transmitted to both human and animals in the region.

Keywords: Dogs, Rats, *Leptospira*, MAT, Seroprevalence, Ca Mau province

¹. Bộ môn Thú y, Khoa Nông nghiệp và SHƯĐ, Đại học Cần Thơ

². Chi cục Thú y Cà Mau

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Leptospirosis là một bệnh truyền nhiễm do những serovar khác nhau của xoắn khuẩn *Leptospira interrogans* gây ra ở người cũng như nhiều loài động vật nuôi và hoang dã. Tuy không làm bùng phát thành những trận dịch lớn, nhưng bệnh này vẫn được cho là đang tái xuất hiện trên người nhiều nơi trên thế giới, nhất là ở Nam Mỹ và châu Á và cần được tiếp tục quan tâm nghiên cứu sâu rộng hơn nữa. Bệnh leptospirosis ở động vật nuôi không những gây thiệt hại đáng kể đến hiệu quả kinh tế chăn nuôi mà còn trở thành nguồn bệnh lan truyền sang cho con người. Vì vậy, cần phải thường xuyên giám sát tình hình nhiễm leptospirosis trên các loài động vật, trong đó chuột và chó được cho là vật chủ lưu giữ tự nhiên và bài xuất mầm bệnh ra môi trường bên ngoài.

Sự hiện diện của serovar/serogroup *Leptospira* gây nhiễm thường biến động theo vùng địa lý, loài động vật bị nhiễm cũng như thời điểm khảo sát. Đến nay đã có nhiều tác giả trong và ngoài nước nghiên cứu về leptospirosis trên nhiều loài động vật khác nhau, nhưng số liệu về tình hình nhiễm xoắn khuẩn trên chó và chuột còn rất hạn chế, trong khi những loài động vật này được cho là đóng vai trò rất quan trọng của chu trình bệnh leptospirosis trong tự nhiên. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát sự lưu hành của các kháng thể kháng 24 serovar thuộc 18 serogroup *Leptospira* khác nhau trong quần thể chó và chuột tại tỉnh Cà Mau (từ tháng 8/2014 đến tháng 5/2015).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

- Chó khỏe chưa tiêm chủng vacxin phòng bệnh leptospirosis ở một số hộ dân thuộc địa bàn tỉnh Cà Mau.

- Chuột bắt được tại nhà các hộ dân thuộc địa bàn tỉnh Cà Mau.

- Mẫu máu: Huyện Thới Bình: 65 mẫu máu chó và 31 mẫu máu chuột.

Huyện Cái Nước: 67 mẫu máu chó và 32 mẫu máu chuột.

H. Đầm Dơi: 66 mẫu máu chó và 31 mẫu máu chuột.

H. U Minh: 66 mẫu máu chó và 33 mẫu máu chuột.

- Kháng nguyên gồm 24 serovars *Leptospira* thuộc 18 serogroup: *L. Australis*, *L. Autumnalis*, *L. Bataviae*, *L. Canicola* (Hond Utrecht IV và Chiffon), *L. Ballum*, *L. Icterohaemorrhagiae* (Copenhageni, *Icterohaemorrhagiae* và Tonkini), *L. Pyrogenes*, *L. Cynopterie*, *L. Grippotyphosa*, *L. Sejroe*, *L. Hebdomadis*, *L. Javanica*, *L. Panama*, *L. Semaranga*, *L. Pomona*, *L. Tarassovi* (Tarassovi và Vughia), *L. Sejroe* (hardjo và saxkoebing), *L. Hurstbridge* do Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh cung cấp.

- Dụng cụ, thiết bị phòng thí nghiệm phục vụ lấy mẫu và phân tích.

- Nghiên cứu được thực hiện tại 4 huyện thuộc tỉnh Cà Mau từ tháng 8/2014 đến tháng 5/2015.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Phương pháp lấy mẫu

264 mẫu máu chó được lấy ngẫu nhiên từ tĩnh mạch chân (khoảng 3-5 ml) cho vào ống không chứa chất kháng đông để ly trích lấy huyết thanh.

127 mẫu máu chuột được thu thập như sau: chuột sau khi bắt được tiến hành mổ lấy máu trực tiếp từ tim, mỗi chuột lấy 2 – 3ml. Sau khi để nghiêng chờ máu đông ở nhiệt độ phòng, chiết lấy huyết thanh.

Tất cả huyết thanh được bảo quản ở -20°C cho đến ngày thực hiện phản ứng vi ngưng kết.

2.2.2 Phương pháp đánh giá kết quả

Xác định tỷ lệ nhiễm leptospirosis bằng phương pháp vi ngưng kết (MAT: Microscopic Agglutination Test) dựa trên sự hiện diện của kháng thể kháng *Leptospira* có trong huyết thanh theo quy trình của Viện Pasteur Tp HCM.

Mỗi mẫu huyết thanh đều được thực hiện MAT với cả bộ kháng nguyên. Huyết thanh được pha loãng bậc 2 với PBS, bắt đầu từ 1/100 đối với huyết thanh chó và từ 1/10 đối với huyết thanh chuột.

Đánh giá kết quả phản ứng theo 4 thang ngưng kết:

+++ : Tất cả *Leptospira* ngưng kết, cụm ngưng kết lớn, không có xoắn khuẩn tự do.

++ : Trên 75% số xoắn khuẩn bị ngưng kết, ít xoắn khuẩn tự do.

++ : Từ 50% số xoắn khuẩn bị ngưng kết, có 1/2 số xoắn khuẩn tự do.

± : Từ 25% đến dưới 50% số xoắn khuẩn bị

ngưng kết, nhiều xoắn khuẩn tự do.

Mẫu huyết thanh chó có hiệu giá kháng thể $\geq 1:200$ và chuột $\geq 1:20$ ở mức ngưng kết $\geq 2+$ được xem là dương tính.

2.2.3 Xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý theo chương trình minitab 16. Phép thử χ^2 được sử dụng để so sánh tỷ lệ dương tính và giá trị $P < 0.05$ được coi là có ý nghĩa.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình nhiễm *Leptospira* trên chó và chuột tại tỉnh Cà Mau

Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát huyết thanh học (MAT) trên chó và chuột với 18 serogroup kháng nguyên *Leptospira*

STT	Các kháng nguyên <i>Leptospira</i> sử dụng trong khảo sát (serogroup)	Số mẫu khảo sát ở chó (n = 264)		Số mẫu khảo sát ở chuột (n = 127)	
		Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
1	<i>Leptospira Australis</i>	-	-	1	1,72
2	<i>Leptospira Autumnalis</i>	2	3,28	1	1,72
3	<i>Leptospira Bataviae</i>	4	6,56	5	8,62
4	<i>Leptospira Canicola</i>	12	19,67	9	14,75
5	<i>Leptospira Ballum</i>	3	4,92	3	5,17
6	<i>Leptospira Icterohaemorrhagiae</i>	13	21,31	16	27,58
7	<i>Leptospira Pyrogenes</i>	5	8,20	2	3,45
8	<i>Leptospira Cynopterie</i>	1	1,64	2	3,45
9	<i>Leptospira Grippotyphosa</i>	-	-	1	1,72
10	<i>Leptospira Hebdomadis</i>	2	3,28	-	-
11	<i>Leptospira Javanica</i>	3	4,92	2	3,45
12	<i>Leptospira Panama</i>	2	3,28	4	6,90
13	<i>Leptospira Semarangel</i>	2	3,28	-	-
14	<i>Leptospira Pomona</i>	2	3,28	2	3,45
15	<i>Leptospira Tarassovi</i>	-	-	2	3,45
16	<i>Leptospira Sejroe</i>	2	3,28	4	6,90
17	<i>Leptospira Louisiana</i>	-	-	-	-
18	<i>Leptospira Hurstbridge</i>	8	13,11	4	6,90
Tổng số mẫu dương tính		61	18,94	58	29,13

Các số liệu ở bảng 1 cho thấy có 50/264 mẫu huyết thanh chó có phản ứng MAT dương tính với ít nhất 1 serogroup, chiếm tỷ lệ 18,94%. Có 37/127 mẫu huyết thanh chuột có phản ứng MAT dương tính, chiếm tỷ lệ 29,13%. Có 14 trong 18 serogroup khác nhau đang lưu hành trên chó và trên chuột là 15 serogroup. Hai serogroup hiện diện phổ biến nhất trên chuột là *Icterohaemorrhagiae* (27,58%), *Canicola* (19,67%), và trên chó là *Icterohaemorrhagiae* (21,31%) và *Canicola* (14,75%). Như vậy, kết quả ở bảng 1 cho thấy tình hình nhiễm *Leptospira* trên chó và chuột ở tỉnh Cà Mau khá giống nhau và 2 serogroup *Icterohaemorrhagiae* và *Canicola* có ý nghĩa dịch tễ học rất quan trọng trong chu trình lây nhiễm trên người và các động vật khác trong khu vực này.

Kết quả nghiên cứu trên của chúng tôi cũng tương tự như kết quả khảo sát huyết thanh học trên chó tại Đaklak của Hoàng Mạnh Lâm & cs vào năm 2002 là 19,8%. Kết quả khảo sát tỷ lệ chuột có phản ứng MAT dương tính của chúng tôi thấp hơn nhiều so với số liệu được công bố gần đây như năm 2010 của Nguyễn Ngọc Hải & cs về tỷ lệ nhiễm *Leptospira* trên chuột bẫy được trong khuôn viên ký túc xá và các khu vực lân cận Trường Đại học Nông lâm Tp. Hồ Chí Minh (40,9%) và nghiên cứu của Lý Thị Liên

Khai (2012) tại công ty Cổ phần Thủy sản Sông Hậu, theo đó tỷ lệ nhiễm *Leptospira* trên chuột là 55% và trên chó là 40,47%. Sự chênh lệch này có thể do sự khác biệt về phương thức nuôi chó cũng như vị trí địa lý-sinh thái của địa bàn lấy mẫu.

Trước đây đã phát hiện nhiều trường hợp leptospirosis trên người ở Đồng bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL), nhưng sự hiểu biết về tình trạng dịch bệnh này trong vùng còn rất hạn chế, đặc biệt là tỷ lệ nhiễm và mắc bệnh ở người và động vật, các serovar đang lưu hành, các ổ lưu giữ nguồn bệnh... Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích là thu nhận các thông tin về tình hình lưu hành các serovar *Leptospira* trong quần thể chó và chuột ở tỉnh Cà Mau. Các số liệu thu được ở trên là bằng chứng cho thấy chó và chuột là nguồn lưu giữ mầm bệnh quan trọng này trong khu vực. Tuy không phát bệnh nhưng hai động vật này trở nên bị nhiễm trùng mạn tính và có thể bài xuất mầm bệnh trong thời gian dài, làm vấy nhiễm môi trường, có thể lây sang người và động vật khác bị phơi nhiễm.

3.2. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* trên chó theo phương thức nuôi

Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* trên chó theo phương thức nuôi

Phương thức nuôi	Số huyết thanh kiểm tra	Số huyết thanh dương tính	Tỷ lệ (%)	P
Nuôi nhốt	129	17	13,18 ^a	0,02
Nuôi thả	135	33	24,44 ^b	
Tổng	264	50	18,94	

Ghi chú: Các giá trị trong cùng cột với những chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác về mặt thống kê

Qua số liệu khảo sát huyết thanh chó nêu ở trên, cho thấy tỷ lệ nhiễm *Leptospira* ở phương thức chó nuôi thả (24,44%), cao hơn nhiều so

với chó nuôi nhốt (13,18%). Ở các nước nhiệt đới thuộc châu Phi, tỷ lệ nhiễm *Leptospira* trên chó thả rộng từ 23% đến 55% (Everard,

1992). Kết quả khảo sát của Scanziani *et al.*, 2002 ở Ý trên chó nuôi thả cũng có tỷ lệ huyết thanh dương tính với *Leptospira* là 30,3% và ở Mexico, Blum Domínguez Sdel *et al.*, 2013 khảo sát trên chó thả rông có tỷ lệ huyết thanh dương tính với *Leptospira* (26,7%), cao hơn chó nuôi nhốt (17,2%). Điều này cho thấy chó nuôi

thả rông có nhiều cơ hội nhiễm *Leptospira* từ môi trường như từ các vũng nước tù đọng và tiếp xúc với động vật khác (đặc biệt là chuột) hơn là chó nuôi nhốt.

3.3. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* theo giống chó

Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* theo giống chó

Giống chó	Số huyết thanh kiểm tra	Số huyết thanh nhiễm <i>Leptospira</i>	Tỷ lệ (%)
Chó nội	144	27	18,75
Chó lai	120	23	19,17
Tổng	264	50	18,94

Qua số liệu ở bảng 3 cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm leptospirosis giữa giống chó nội (18,75%) và giống chó lai (19,17%). Các báo cáo của Lê Huỳnh Thanh Phương (2001), Sandra *et al.*, 2006, Miller *et al.*, 2007, Nguyễn Thị Bé Mười (2008) và Kikuti (2012)

cũng cho rằng yếu tố giống không ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm *Leptospira*.

3.4. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* theo lứa tuổi chó

Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* theo lứa tuổi chó

Lứa tuổi	Số huyết thanh kiểm tra	Số huyết thanh nhiễm <i>Leptospira</i>	Tỷ lệ (%)
< 1 năm	89	15	16,85
1 - 6 năm	121	23	19,01
> 6 năm	54	12	22,22

Từ kết quả trình bày ở bảng 4 cho thấy tỷ lệ nhiễm *Leptospira* liên quan tới những nhóm chó có lứa tuổi khác nhau. Tỷ lệ nhiễm cao nhất thấy ở nhóm chó có lứa tuổi > 6 năm tuổi (22,22%), kế đến là chó từ 1 – 6 năm tuổi (19,01%) và thấp nhất là chó <1 năm tuổi (16,85%). Khi so sánh với các nghiên cứu của Lê Huỳnh Thanh Phương (2001) thì nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả tương tự, nghĩa là tỷ lệ nhiễm

Leptospira tăng dần theo lứa tuổi. Trong khi đó, nghiên cứu của Senthil *et al.*, (2013) ở Ấn Độ cho kết quả ngược lại, nghĩa là chó ≥ 5 tuổi có tỷ lệ dương tính đối với các serogroup thấp hơn chó có độ tuổi nhỏ hơn. Sự khác nhau này có thể do tác động của tiêm chủng vacxin phòng bệnh leptospirosis. Tuy nhiên, cần phải nghiên cứu tiếp theo nữa để làm sáng tỏ hơn vấn đề này.

3.5. Mức độ nhiễm *Leptospira* trên một cá thể

Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Số chủng *Leptospira* nhiễm trên một cá thể

Số serogroup <i>Leptospira</i>	Chó		Chuột	
	Số huyết thanh dương tính	Tỷ lệ (%)	Số huyết thanh dương tính	Tỷ lệ (%)
1	41	82	26	70,27
2	7	14	6	16,22
3	2	4	3	8,11
4	-	-	2	5,4
Tổng số mẫu dương tính	50	100	37	100

Tổng số 50 mẫu huyết thanh chó dương tính với *Leptospira*, có 41 mẫu huyết thanh ngưng kết với 1 serogroup (chiếm tỷ lệ 82%), 7 mẫu huyết thanh ngưng kết với 2 serogroup (14%) và 2 mẫu huyết thanh ngưng kết với 3 serogroup (4%). Còn ở chuột, trong 37 mẫu dương tính, có 26 mẫu dương tính với 1 serogroup (70,27%), phần lớn các mẫu huyết thanh còn lại dương tính với 2 – 4 serogroup. Nhìn chung, ở chó nhiễm

1 serogroup chiếm đa số, còn ở chuột nhiễm nhiều serogroup hơn. Điều này cho thấy chuột là những ổ lưu trữ các serogroup *Leptospira* trong tự nhiên.

3.6. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* trên chó theo vùng sinh thái (vùng nước mặn và vùng nước ngọt)

Kết quả được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Tỷ lệ nhiễm *Leptospira* trên chó theo vùng sinh thái

Vùng sinh thái	Số huyết thanh kiểm tra	Số huyết thanh dương tính	Tỷ lệ (%)	P
Nước mặn (Cái Nước; Đầm Dơi)	133	18	13,53	0,024
Nước ngọt (Thới Bình; U Minh)	131	32	24,42	
Tổng	264	50	18,94	

Trong 50 mẫu huyết thanh chó dương tính với *Leptospira*, có 32/131 mẫu huyết thanh ở vùng sinh thái nước ngọt (Thới Bình và U Minh) dương tính với *Leptospira* chiếm tỷ lệ cao hơn (24,42%) những chó ở vùng sinh thái nước mặn (Cái Nước và Đầm Dơi) (13,55%). Kết quả nghiên cứu trên của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Trương Quang vào

năm 2004 cho thấy tỷ lệ nhiễm *Leptospira* tại một số tỉnh Bắc Trung Bộ như vùng đồng bằng có tỷ lệ nhiễm *Leptospira* là cao nhất, kể đến là vùng trung du (25%) và miền núi (24%), thấp nhất là vùng ven biển với tỷ lệ 21,43%; điều này có thể được lý giải là do xoắn khuẩn không thể tồn tại trong nước mặn quá một ngày (Pedro, 1987).

IV. KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát trên cho thấy có sự lưu hành với rất nhiều nhóm huyết thanh của *Leptospira* trên chó và chuột tại tỉnh Cà Mau, trong đó hai serogroup *Icterohaemorrhagiae* và *Canicola* phổ biến nhất. Kết quả này một lần nữa khẳng định vai trò lưu giữ *Leptospira* gây bệnh trong tự nhiên ở hai loài động vật này, và là nguồn bệnh có thể lây truyền sang người và nhiều động vật khác trong khu vực.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Mạnh Lâm, Đậu Ngọc Hào và Đào Xuân Vinh (2002), Xác định một số serovar *Leptospira* ở chó, chuột và người tại Đaklak. *Tạp chí KHKT Thú y*, Tập IX số 1, pp 13 -18.
2. Lý Thị Liên Khai (2012), Điều tra tình hình nhiễm vi khuẩn *Leptospira* trên đàn bò sữa, chó và chuột tại công ty cổ phần thủy sản Sông Hậu. *Tạp chí khoa học* 2012, 21b, 87-96.
3. Nguyễn Thị Bé Mười (2008), Tình hình nhiễm *Leptospira* trên chó tại thành phố Cần Thơ (Luận văn ThS), Đại Học Cần Thơ.
4. Nguyễn Ngọc Hải, Nguyễn Thị Kim Loan và Nguyễn Thị Thu Năm. Tìm hiểu tình hình nhiễm *Leptospira* trên chuột. *Tạp chí KHKT Thú y*, Tập XVII- số 4-2010..
5. Lê Huỳnh Thanh Phương (2001). Tình hình nhiễm *Leptospira* ở chó một số địa phương các tỉnh phía Bắc Việt Nam và biện pháp phòng trị bệnh. Luận án tiến sĩ nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.
6. Trương Quang và Đặng Văn Minh, 2004. Tình hình nhiễm và mối tương quan về tỷ lệ nhiễm các serovar *Leptospira* ở đàn lợn giống và các động vật có liên quan tại một số tỉnh Bắc Trung Bộ. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 3: 32-36.
7. Domínguez Sdel B, Chí Dzib MY, Maldonado Velazquez MG, Nun4ez Oreza LA, Gómez Solano MI, Caballero POOT RI, and Tamay Segovia P, 2013. Detection of reactive canines to *Leptospira* in Campeche City, Mexico. *Rev Argent Microbiol.* 45 (1), 34-38. .
8. Everard C. O. R (1992), “The Epidemiology of *Leptospirosis*”, Proceedings of a CEC/STDE3, Research meeting, pp. 31-48.
9. Kikuti, M., H. Langoni, D.N. Nobrega, A.P.F.L. Correa, L.S. Ullmann, 2012. Occurrence and risk factors associated with canine *leptospirosis*. The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 18: 124-127.
10. Miller R. I, S. P. Ross, N. D. Sullivan & N. R. Perkins (2007), “Clinical and Epidemiological Features of Canine *Leptospirosis* in North Queensland”. *Australian Veterinary Journal*, 85 (1-2), pp. 13-19.
11. Pedro, N.A. and S. Boris, 1987. *Leptospirosis. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals*, 2nd ed, Pan American Health Organization press.
12. Sandra G Gompf (2006), *Leptospirosis*. <http://www.emedicine.Com/med/topic1283.htm>.
13. Scanziani E, F. Origgi, A. M. Giusti, G. Iacchia, A. Vasino, G. Pirovano, P. Scarpa & S. Tagliabue (2002), Serological survey of *leptospiral* infection in kennelled dogs in Italy. *Journal of Small Animal Practice*, 43 (4), pp. 154-157.
14. Senthil, N. R., K. M. Palanivel, and R. Rishikesavan (2013). Seroprevalence of *Leptospiral* Antibodies in Canine Population in and around Namakkal. *Journal of Veterinary Medicine*, Volume 2013, Article ID 971810, 4 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/971810>.