



UNIVERSIDAD
SAN SEBASTIAN

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA
SEDE CONCEPCIÓN**

**SEROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS EN CABALLOS FINA
SANGRE DE CARRERA EN UN HIPÓDROMO DEL SUR DE CHILE**

Memoria para optar al título de Médico Veterinario

Profesor Patrocinante: MCs. Hipólito Chávez Caro. MV.

Estudiante: Maribel Alejandra Robles Contreras

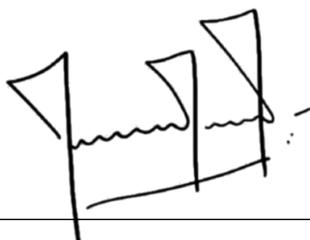
© Maribel Alejandra Robles Contreras, Hipólito Chávez Caro

Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Concepción, Chile
2023

CALIFICACIÓN DE LA MEMORIA

En Concepción, el día 13 de julio de 2023, los abajo firmantes dejan constancia que la alumna MARIBEL ALEJANDRA ROBLES CONTRERAS de la carrera de MEDICINA VETERINARIA ha aprobado la memoria para optar al título de MÉDICO VETERINARIO con una nota de 5.3.



MCs Luis Felipe Rojas Pérez
Presidente Comisión



DCs AnaLía Henríquez
Profesor Evaluador



MCs Hipólito Chávez Caro
Profesor Patrocinante

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer al Dr. Hipólito Chávez por haber cumplido su labor de profesor patrocinante de manera eficiente y adecuada, y por haberme ayudado a crecer como profesional.

De la misma forma, agradezco también al Dr. Carlos Tejeda y al Dr. Miguel Salgado del Instituto de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, por la excelente disposición que tuvieron para compartir información fundamental durante la realización de este estudio y por la calidad de los resultados obtenidos en el análisis de las muestras.

Además, agradezco a los entrenadores del hipódromo que siempre tuvieron una muy buena disposición para ayudarme con el desarrollo de esta investigación.

Finalmente, agradezco a mis padres, quienes me apoyaron en el desarrollo de este estudio y durante todo el trayecto de mi carrera, alentándome día a día con sabias palabras.

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 LEPTOSPIROSIS	1
1.1.1. Definición y distribución.....	1
1.1.2. Etiología.....	1
1.1.3. Patogenia.....	1
1.1.4. Signos clínicos.....	2
1.2. LEPTOSPIROSIS EQUINA	2
1.2.1. Transmisión de la enfermedad.....	2
1.2.2. Signos clínicos.....	3
1.2.3. Diagnóstico.....	3
1.3. LEPTOSPIROSIS EN CHILE	4
1.3.1. Ambiente susceptible y cifras de infección en animales.....	4
1.3.2. Estudios previos de leptospirosis equina.....	5
1.4. PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	6
2. HIPÓTESIS	7
3. OBJETIVOS	8
3.1. Objetivo general.....	8
3.2. Objetivos específicos.....	8
4. MATERIAL Y MÉTODO	9
4.1. DISEÑO DE ESTUDIO	9
4.1.1. Tipo de estudio.....	9
4.1.2. Población de estudio.....	9
4.1.3. Tamaño de la muestra y exclusión.....	9
4.1.4. Formación de grupos.....	9
4.1.5. Verificación de la edad y sexo.....	10

4.1.6. Autorización y consentimiento informado.....	10
4.2. METODOLOGÍA.....	11
4.2.1. Material.....	11
4.2.2. Recolección y procesamiento de muestras.....	11
4.2.3. Diagnóstico serológico.....	11
4.2.4. Análisis estadístico.....	13
5. RESULTADOS.....	14
6. DISCUSIÓN.....	17
7. CONCLUSIONES.....	22
8. REFERENCIAS.....	23
9. ANEXOS.....	30
9.1. Anexo 1. Cálculo del tamaño muestral	30
9.2. Anexo 2. Hoja de consentimiento informado.....	31
9.3. Anexo 3. Diagnóstico serológico microMAT.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies de <i>Leptospira</i> y respectivos serovares para prueba microMAT	12
Tabla 2. Seroprevalencia de leptospirosis versus la variable sexo	14
Tabla 3. Seroprevalencia de leptospirosis versus la variable edad	15
Tabla 4. Frecuencia de presentación por serovar de las muestras positivas a leptospirosis	15
Tabla 5. Frecuencia de reaccionantes positivos según título final de anticuerpos en microMAT	16

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica e infecciosa de distribución mundial, causada por bacterias patógenas del género *Leptospira*. Estas bacterias colonizan los túbulos contorneados renales proximales de mamíferos, desde donde se excretan por la orina, lo que facilita la transmisión de la enfermedad. Los roedores son los animales asintomáticos que más diseminan la enfermedad y es, por esta razón, que en el sur de Chile la prevalencia de leptospirosis sería alta en diversos hospedadores mamíferos, entre ellos el caballo. La infección en caballos puede ser asintomática, causar signos leves, cuadros sistémicos y reproductivos. No obstante, surge la necesidad de conocer el estado actual de seroprevalencia de leptospirosis en el caballo, considerando variables biológicas.

El presente estudio analítico transversal tuvo por objetivo describir la seroprevalencia de leptospirosis según edad y sexo, determinar si existen diferencias significativas e identificar los serovares y títulos de anticuerpos más frecuentes en caballos Fina Sangre de Carrera (FSC) del Club Hípico de Concepción.

Se obtuvieron muestras de sangre de 70 caballos FSC, seleccionados aleatoriamente según la variable edad, 2 y ≥ 3 años; y la variable sexo. Estas muestras fueron analizadas mediante la prueba de aglutinación en microplaca (microMAT), estudiando ocho serovares para llegar al diagnóstico serológico con títulos de anticuerpos de 1:100-1:200 y $\geq 1:400$. Los resultados se obtuvieron mediante estadística descriptiva y prueba de Chi cuadrado.

Se estimó una seroprevalencia general de 45,7%. Asimismo, la prevalencia entre los dos grupos etarios estudiados fue de 46,9 y 44,7%, respectivamente. Por otro lado, la prevalencia entre sexos fue de 47,5 y 43,3 para machos y hembras, respectivamente. No se establecieron diferencias significativas entre las dos edades estudiadas ($P = 0,86$), así como tampoco respecto de la variable sexo ($P = 0,73$). El serovar más frecuente fue *Tarassovi* (75%), *Grippotyphosa* (21,9%) y *Hardjo* (3,1%). Además, los títulos de anticuerpos más frecuentes fueron 1:400 (43,8%) y 1:800 (28,1%), lo que confirma la presencia de infección reciente o activa.

Palabras claves: Seroprevalencia, Leptospirosis, Caballos Fina Sangre de Carrera, microMAT.

ABSTRACT

Leptospirosis is a worldwide zoonotic and infectious disease caused by a pathogenic bacterium of the genus *Leptospira*. These bacteria colonize the proximal renal convoluted tubules of mammals for the excretion of virulent bacteria in the urine, which facilitates the transmission of the disease. Rodents are the asymptomatic animals that spread the disease the most. For this reason, in southern Chile the prevalence of leptospirosis is high in various host mammals, including horses. The infection in horses can be asymptomatic, cause mild signs, or cause systemic and reproductive symptoms. Nevertheless, there is a need to know the current state of seroprevalence of leptospirosis in horses, considering biological variables.

The aim of this cross-sectional analytical study was to describe the seroprevalence of leptospirosis according to age and sex, determine if there are significant differences and to identify the most frequent serovars and antibody titers in Thoroughbred horses from Club Hípico de Concepción.

Blood samples were obtained from 70 Thoroughbred horses, randomly selected according to the age variable, 2 and ≥ 3 years old; and the sex variable. These samples were analyzed by the microplate agglutination test (microMAT), studying eight serovars to reach the serological diagnosis with antibody titers of 1:100-1:200 and $\geq 1:400$. The results were obtained by using descriptive statistics and the Chi square test.

The seroprevalence of leptospirosis in this study was 45.7%. In addition to this, the prevalence between the two age groups studied was 46.9 and 44.7%, respectively. On the other hand, the prevalence between sexes was 47.5 and 43.3% for males and females, respectively. There are no significant differences between the two ages studied ($P = 0,86$), nor with respect to the sex variable ($P = 0,73$). The most frequent serovars were Tarassovi (75%), Grippotyphosa (21.9%) and Hardjo (3.1%). Moreover, the most frequent antibody titers were 1:400 (43.8%) and 1:800 (28.1%), confirming the presence of recent or active infection.

Keywords: Prevalence, Leptospirosis, Thoroughbred horses, microMAT.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LEPTOSPIROSIS

1.1.1. Definición y distribución

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa y zoonótica de distribución mundial, causada por serotipos patógenos del género *Leptospira* (Haake y Levett, 2015). La enfermedad está diseminada en todos los continentes, excepto en la Antártida, y es reconocida cada vez más en zonas urbanas y rurales de países industrializados (Adler y de la Peña Moctezuma, 2010).

1.1.2. Etiología

La *Leptospira* es una bacteria espiroqueta Gram negativa, aerobia obligada, de aproximadamente 0,1 μ de diámetro y 6-20 μ de longitud, la cual puede ser visualizada en microscopio de campo oscuro, plata o coloración fluorescente (Aranzazu et al., 2020). El género *Leptospira* se ha dividido en tres grupos según su patogenicidad: especies saprófitas, especies de patogenicidad intermedia y especies patógenas (Md-Lasim et al., 2021). Por otra parte, el serovar es la unidad donde se catalogan las diferentes especies, teniendo cada una conformación antigénica diferente. Actualmente existen más de 300 serovares, que se han clasificado en unos 32 serogrupos según su homología antigénica (Caimi y Ruybal, 2020). En cada área geográfica del mundo existe una prevalencia y distribución de ciertos serovares, los cuales fueron determinados por la ecología del lugar y varían entre diferentes países, e incluso entre regiones dentro de un país (Acha y Szyfres, 2003).

1.1.3. Patogenia

La enfermedad se manifiesta como una infección renal crónica que afecta a humanos, mamíferos domésticos y silvestres, los cuales son considerados como reservorios. Esta infección renal consiste en una colonización de los túbulos proximales que provoca la excreción de *Leptospira* spp. virulentas en la orina (Bharti et al., 2003), las cuales son capaces de sobrevivir en suelos contaminados durante varios meses (Bierque et al.,

2020), especialmente en climas húmedos subtropicales y tropicales (Adler y de la Peña Moctezuma, 2010).

Los animales se infectan por transmisión horizontal, ya sea por contacto directo, vía inhalatoria o a través de las mucosas y heridas; y de forma indirecta por exposición a fómites como el agua, suelo y alimentos contaminados (Troncoso et al., 2013). También se ha demostrado que la *Leptospira* puede transmitirse de forma vertical, de madre a feto (Adler y de la Peña Moctezuma, 2010). Por otro lado, el ser humano se puede infectar accidentalmente por factores como bajo niveles de higiene, saneamiento inadecuado, aguas contaminadas en las viviendas y por trabajos con animales (Ganoza et al., 2010). No obstante, la infección por *Leptospira* spp. varía según la especie y el serovar bacteriano (Levett, 2001).

1.1.4. Signos clínicos

Los animales reservorios naturales y portadores de *Leptospira* spp., como ratas y otros roedores, no manifiestan ningún signo evidente y eliminan las bacterias virulentas de su organismo por completo, con excepción de los túbulos renales (Haake y Levett, 2015). Sin embargo, algunos animales sintomáticos son menos capaces de controlar la infección, lo que puede conllevar a consecuencias leves y a daños en los tejidos (Ganoza et al., 2010), pero también puede ocurrir hemorragia pulmonar y la muerte por signos graves como meningitis e ictericia (Levett, 2001). Por otro lado, la capacidad de las *Leptospira* spp. para atravesar la placenta puede provocar un aborto espontáneo en las hembras (Bharti et al., 2003). Por consiguiente, los roedores son los principales diseminadores de la enfermedad, debido a su condición de portadores asintomáticos (Lau et al., 2010; Nakamura et al., 2013), y también porque contaminan el agua de regadío y de desagüe (Reis et al., 2008).

1.2. LEPTOSPIROSIS EQUINA

1.2.1. Transmisión de la enfermedad

La infección en los equinos ocurre por el consumo de agua contaminada con *Leptospira* spp. y por contacto con la orina u otros fluidos de animales infectados. Estas bacterias pueden entrar al organismo a través de las mucosas, abrasiones en piel y por vía

transplacentaria hasta finalmente llegar y colonizar los túbulos renales (Khalili et al., 2020). Por otra parte, se propuso el contagio sexual como otra vía de transmisión de la enfermedad ya que se encontró la presencia de ADN de *Leptospira* spp. en semen de equino (Hamond et al., 2013).

1.2.2. Signos Clínicos

La manifestación clínica en su forma más leve se caracteriza por fiebre, letargia y anorexia, pero en su forma más grave se caracteriza por sufusión conjuntival, ictericia, anemia, hemorragias petequiales en mucosas e insuficiencia hepática. También puede ocurrir insuficiencia renal, especialmente en los potros, y en hembras gestantes puede ocurrir abortos, mortinatos y placentitis (Timoney et al., 2011). Sin embargo, los signos que normalmente se han observado incluyen hematuria, fiebre, ictericia, anorexia, uveítis y dificultad respiratoria (Yan et al., 2010). Por otro lado, existen diferencias en los signos ya que la leptospirosis icterica clásica ocurre principalmente en potros y es comparativamente rara en caballos adultos (Timoney et al., 2011). No obstante, el desarrollo de la enfermedad en equinos se presenta en raras ocasiones (Malalana, 2019). Estudios histopatológicos en riñones de caballos jóvenes han logrado demostrar la formación de petequias e infiltración linfocítica en los túbulos proximales y glomérulos (Bernard, 1993). También se ha reportado que el serovar Pomona, al alojarse en dichos órganos ocasiona fiebre e insuficiencia renal aguda (Verma et al., 2013).

1.2.3. Diagnóstico

El diagnóstico clínico se realiza mediante pruebas de laboratorio con métodos directos o indirectos (Céspedes, 2005). Por un lado, los métodos directos más comunes son la Inmunofluorescencia y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), los cuales se caracterizan por detectar antígenos de *Leptospira* spp. en tejidos y fluidos corporales. Por otro lado, los métodos indirectos más comunes son ELISA, Hemoaglutinación Indirecta (HAI) y la Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT), los cuales se caracterizan por detectar anticuerpos específicos en el suero (Pérez et al., 2015).

Aunque los métodos de cultivo sirvan para detectar la enfermedad, no son de gran utilidad clínica porque son de alta complejidad, baja sensibilidad y tardan semanas en tener listo

los resultados (Perret et al., 2005). Así mismo, la técnica de biología molecular como PCR puede ser una alternativa conveniente en conjunto con cebadores que permitan discriminar a nivel de género o que son específicos para *Leptospira* spp. patógenas (Adler y de la Peña Moctezuma, 2010), pero esta alternativa no está ampliamente disponible (Perret et al., 2005).

No obstante, la detección de anticuerpos específicos por medio de la prueba de aglutinación microscópica (MAT) sigue siendo la técnica de referencia internacional para la confirmación de la enfermedad (Organización Mundial de Sanidad Animal, OMSA, 2021) por su alta especificidad y porque diagnostica el serovar infectante. Sin embargo, la sensibilidad del MAT es variable y depende del número de serovares incluidos en el panel (Levett, 2001), entonces se considera confirmatorio de infección aguda por *Leptospira* spp. cuando existe un incremento de títulos de anticuerpos en al menos cuatro veces entre dos muestras. Por otro lado, es importante señalar que en casos de aborto por *Leptospira* spp., la MAT en fluidos fetales y suero materno suele dar un título muy alto y es diagnóstica (Donahue y Williams, 2000).

Actualmente se está utilizando una técnica serológica similar a la MAT, pero más segura y práctica de utilizar, llamada prueba de microaglutinación en placa (microMAT). Esta técnica serológica consiste en la detección por microscopía de campo oscuro de anticuerpos específicos contra antígenos de *Leptospira* spp. patógenas mediante una reacción de aglutinación en microplaca. De esta forma, se resguarda la seguridad del operario ya que se evita la exposición a bacterias vivas, como ocurre en la MAT cuando se tiene que extraer una gota suero-problema y colocarla en un portaobjeto para observarla a microscopía. Además, la técnica microMAT posee mayor sensibilidad en comparación a la MAT y se ha demostrado un nivel de concordancia mayor al 96% entre los resultados obtenidos mediante la utilización de microMAT y de MAT (Tapia, 2014).

1.3. LEPTOSPIROSIS EN CHILE

1.3.1. Ambiente susceptible y cifras de infección en animales

El sur de Chile presenta varias características que facilitan la presencia y persistencia de *Leptospira* spp. patógenas en los hospedadores y el ambiente: a) la presencia de fauna silvestre que podría servir como reservorio potencial (Llanos et al., 2019); b) la presencia

de animales domésticos criados de forma semiextensiva o extensiva, lo que facilita el contacto con especies silvestres (Salgado et al., 2014; Salgado et al., 2015); c) la abundancia de humedales como pantanos, arroyos, estanques, remansos y cursos de agua (Ojeda et al., 2018).

Por este motivo, la enfermedad se ha estudiado en regiones del sur de Chile mediante la Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT), en donde se describen cifras altas de infección por *Leptospira* spp.: 37% en perros, 88,7 a 91,7% en bovinos, 24,9% en ovinos, 7,1% en equinos, 69,9% en porcinos y 47,2% en roedores silvestres. De esta manera, se han determinado serovares predominantes en relación con cada especie animal, pudiendo existir cruce de serovares entre especies animales (Zunino y Pizarro, 2007).

1.3.2. Estudios previos de leptospirosis equina

Según una revisión bibliográfica sobre la leptospirosis en caballos, en Chile la leptospirosis equina fue descrita inicialmente por Muñoz en 1966, quien demostró una gran variedad de serovares. En 1975, los investigadores Zamora, Kruze y Riedemann, descritos en dicha revisión bibliográfica, describieron la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* en una población animal sintomática y asintomática (Wegmann, 1983).

No obstante, el primer trabajo de prevalencia de leptospirosis equina fue realizado por Apablaza (1989) con equinos mestizos en una unidad militar de Concepción en donde la prevalencia fue del 96,68% para *L. icterohaemorrhagiae*, *L. tarassovi*, *L. bataviae*, *L. sejroe*, *L. autumnalis*, *L. ballum*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo* y *L. wolffi*.

Esto sirvió para el desarrollo de más trabajos de investigación, los cuales actualmente siguen siendo escasos y necesitan actualizarse. Sin embargo, estas investigaciones han servido para determinar serovares de leptospirosis equina más frecuentes en algunas localidades, por ejemplo: *Ballum* y *Canicola* en la región Metropolitana (Tapia, 2014); *Autumnalis*, *Bratislava* y *Canicola* en la comuna de Linares (Troncoso et al., 2013); *Canicola*, *Ballum* e *Icterohaemorrhagiae* en la comuna de Los Ángeles (France, 2015); y *Autumnalis*, *Ballum* y *Canicola* en la comuna de Valparaíso (González, 2016). Por otra parte, estudios de seroprevalencia en caballos de trabajo urbano determinaron que el serovar más frecuente fue *Ballum* seguido de *Canicola*, mientras que en el grupo de caballos de trabajo del ejército fue *Autumnalis* seguido de *Ballum* (Tadich et al., 2016).

Además, otros estudios previos señalaron que la segregación animal parece influir en la prevalencia de la enfermedad. Un estudio en caballos jugadores de polo en la zona centro-sur de Chile determinó una seroprevalencia general de leptospirosis de 48% y atribuyó este resultado a numerosos transportes durante la vida deportiva de estos ejemplares lo que aumentaría el riesgo de contagio, tanto directo como indirecto (Bay-Schmith, 2004). Por otro lado, la prevalencia de leptospirosis en una población de equinos de tiro urbano habitantes de distintas localidades de la región metropolitana de Chile alcanzó un 33,3%, resultado que explicaría el escaso contacto entre los individuos de esta muestra (Tapia, 2014). Anteriormente, la prevalencia de leptospirosis en caballos Fina Sangre de Carrera realizado en el Club Hípico de Concepción alcanzó un 45,63%, resultado que podría atribuirse al confinamiento de estos animales en ambientes que eventualmente podrían cohabitar huéspedes sinantrópicos (Roa, 2007).

1.4. PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

En relación con los antecedentes expuestos, surge la necesidad de conocer el estado actual de seroprevalencia de leptospirosis en caballos Fina Sangre de Carrera en el Club Hípico de Concepción, Chile, considerando las variables edad y sexo. Para ello nos planteamos la siguiente pregunta investigativa:

¿Existen diferencias en la seroprevalencia de leptospirosis en caballos Fina Sangre de Carrera de diferentes sexos que recién ingresan a un hipódromo (dos años), respecto de aquellos que tienen un mayor tiempo de residencia (mayores o iguales a tres años)?

2. HIPÓTESIS

2.1. Hipótesis 1

- Hipótesis nula (H_0): No existen diferencias significativas en la seroprevalencia de leptospirosis entre dos grupos de caballos Fina Sangre de Carrera según edad.
- Hipótesis alterna (H_1): Existen diferencias significativas en la seroprevalencia de leptospirosis entre dos grupos de caballos Fina Sangre de Carrera según edad.

2.2. Hipótesis 1'

- Hipótesis nula (H_0'): No existen diferencias significativas en la seroprevalencia de leptospirosis entre dos grupos de caballos Fina Sangre de Carrera según sexo.
- Hipótesis alterna (H_1'): Existen diferencias significativas en la seroprevalencia de leptospirosis entre dos grupos de caballos Fina Sangre de Carrera según sexo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Estimar la frecuencia de presentación de sueros positivos a ocho serovares de *Leptospira* spp. en caballos Fina Sangre de Carrera y su relación con variables biológicas.

3.2. Objetivos específicos

- Describir la seroprevalencia de leptospirosis según las variables edad y sexo en caballos Fina Sangre de Carrera.
- Determinar si existen diferencias significativas de la seroprevalencia con las variables edad y sexo de caballos Fina Sangre de Carrera.
- Identificar serovares y titulaciones de anticuerpos más frecuentes en caballos Fina Sangre de Carrera.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. DISEÑO DE ESTUDIO

4.1.1. Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo analítico de corte transversal sobre seroprevalencia de leptospirosis en caballos Fina Sangre de Carrera.

4.1.2. Población de estudio

La población de estudio está constituida por una muestra de caballos de raza Fina Sangre de Carrera residentes del hipódromo Club Hípico de Concepción, localizado en la comuna de Hualpén (36°47'00"S 73°05'00"O), Región del Biobío, Chile.

4.1.3. Tamaño de la muestra y exclusión

De acuerdo con el último censo poblacional del Club Hípico de Concepción S. A. (2021) que alcanzó los 396 caballos, se realiza un muestreo probabilístico aleatorio simple, cuyo cálculo considera: tamaño de población de estudio, porcentaje esperado de prevalencia de leptospirosis de un 45,63% (Roa, 2007), porcentaje de confianza de un 95% y porcentaje de error de un 10% (Roa, 2007).

De acuerdo con el cálculo, el tamaño muestral considera a 77 caballos FSC (Anexo 1). No obstante, se excluyeron siete caballos debido a la indocilidad en el manejo de toma de muestra o incomodidad del propietario. Por lo tanto, el tamaño muestral queda en 70 caballos FSC.

4.1.4. Formación de grupos

De los 70 caballos FSC, se forman al azar dos grupos de estudio clasificados por edad y sexo. Estos ejemplares se encuentran clínicamente sanos y sin vacunación previa contra leptospirosis, según los antecedentes del Servicio Veterinario Oficial del Hipódromo.

Grupos por edad:

- **Grupo A:** Constituido por caballos Fina Sangre de Carrera de 2 años que ingresan por primera vez al Hipódromo para formar parte de la población que se inicia el entrenamiento deportivo competitivo de carrera. Este grupo lo constituyen 32 ejemplares, correspondiendo al 45,7% de la muestra.
- **Grupo B:** Constituido por caballos Fina Sangre de Carrera ≥ 3 años, que llevan un tiempo variable de años residiendo en el Hipódromo, experimentados en el entrenamiento competitivo de alto rendimiento de carreras y participantes en carreras oficiales. Este grupo consta de 38 ejemplares, correspondiendo al 54,3% de la muestra.

Grupos por sexo:

- **Grupo A:** Constituido por 40 caballos Fina Sangre de Carrera machos, correspondiendo al 57,1% de la muestra.
- **Grupo B:** Constituido por 30 caballos Fina Sangre de Carrera hembras, correspondiendo al 42,9% de la muestra.

4.1.5. Verificación de la edad y sexo

La edad y sexo de los caballos participantes del estudio se verifica leyendo con un lector el microchip insertado en el ligamento de la nuca, consultado luego el código numérico en la base de datos del sitio web oficial del Stud Book de Chile:

<https://www.studbookdechile.cl/>

4.1.6. Autorización y consentimiento informado

El presente estudio se evalúa y se acepta por la comisión examinadora, considerando el principio de las "tres R" en la experimentación animal y las cinco libertades del bienestar animal. Asimismo, se requiere la autorización de los entrenadores o propietarios de caballos del Club Hípico Concepción S.A., mediante la firma de un consentimiento informado sobre la investigación y propósito de la toma de muestras sanguíneas (Anexo 2).

4.2. METODOLOGÍA

4.2.1. Material

- Guantes de látex, torulas de algodón y alcohol 95%.
- Tubos sin anticoagulantes al vacío Vacutainer Becton Dickinson ®
- Agujas Becton Dickinson ® 21 G y adaptador.
- Gradilla de tubos de muestras.
- Centrífuga Rotofix 32®, Germany.
- Tubos Eppendorf®
- Gradilla de depósito de tubos Eppendorf ®.
- Caja de refrigeración Coleman®.

4.2.2. Recolección y procesamiento de muestras

Las muestras son recolectadas en las mañanas entre el 01 y 15 de marzo del año 2023, periodo del año en el cual ya existe una suficiente población de caballos 2 años ingresada, representativa de quienes forman este grupo etario en el hipódromo.

De cada caballo se toma una muestra de sangre de aproximadamente 10 ml por venopunción yugular externa, se rotula y conserva en refrigeración a 4°C, hasta su traslado al Laboratorio Clínico del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián, Concepción (Chile).

En el laboratorio, las muestras de sangre son centrifugadas a 3500 rpm durante 10 minutos para obtener el suero sanguíneo, mismo que se vacía en tubos Eppendorf rotulados. Seguidamente, las muestras de suero se mantienen en congelación a - 20°C, hasta su envío al Instituto de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, Valdivia (Chile).

4.2.3. Diagnóstico serológico

Las muestras de suero sanguíneo se someten a la prueba de micro aglutinación en placa (microMAT), con el objetivo de determinar la presencia de anticuerpos en suero exponiéndolo a antígenos vivos (serovares de *Leptospira* spp. patógenas), para diagnóstico por aglutinación. Esta reacción antígeno-anticuerpo se captura mediante observación por microscopía de campo oscuro. Los antígenos vivos empleados consisten

en ocho serovares disponibles en el Instituto de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, Valdivia (Chile). Estos serovares pertenecen a dos especies de *Leptospira* spp.: *L. interrogans* y *L. borgpetersenii*, de acuerdo con lo indicado en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Especies de *Leptospira* y respectivos serovares para prueba microMAT.

ESPECIE	SEROVAR
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Hardjo</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Tarassovi</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Pomona</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Canicola</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Autumnalis</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Bratislava</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Grippotyphosa</i>

Adaptado de González (2016).

La prueba microMAT consta de dos fases, a saber:

- **Fase screening o tamizaje:** Consiste en someter a todos los sueros ante una dilución inicial de 1:100, para luego enfrentarlos a todos los serovares del género *Leptospira* analizados (Tapia, 2014). Según el Manual de pruebas de diagnóstico y de vacunas para los animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (2021), se consideran positivos los sueros que presenten al menos un 50% o más de aglutinación en comparación con el pocillo control.
- **Fase titulación:** Radica en obtener la titulación final de todos los sueros positivos hasta 1:1600 (Tapia, 2014).

Un título de 1:100 –1:200 se considera un título positivo bajo y se interpreta como una indicación de exposición a *Leptospira* spp. En tanto, los títulos \geq 1:400, se consideran títulos positivos altos y se interpretan como indicadores de infección reciente o activa (OMSA, 2021).

4.2.4. Análisis estadístico

Los resultados son analizados mediante estadística descriptiva, con el objetivo de determinar proporciones, distribuciones y prevalencia de sueros reaccionantes positivos a los serovares estudiados.

La estimación de la prevalencia puntual de la enfermedad se realiza empleando la siguiente proporción:

$$\text{Prevalencia (\%)} = \frac{\text{Número de casos seropositivos}}{\text{Número de sujetos estudiados}}$$

Además, para relacionar la seroprevalencia de leptospirosis con las variables edad y sexo, se emplea la prueba Chi cuadrado con un nivel de confianza de 95% ($p < 0,05$).

Para el análisis estadístico, se utiliza el software Epi Info™.

5. RESULTADOS

En el estudio de seroprevalencia de leptospirosis participa el 17,67% de la población total (n=396) de caballos Fina Sangre de Carrera (FSC) residentes en el hipódromo, constituida por 32 y 38 (n=70) ejemplares de entre 2 y ≥ 3 años respectivamente, de los cuales 40 (57,1%) son machos y 30 (42,9%) son hembras. El diagnóstico serológico microMAT se adjunta en anexo 3.

Los resultados obtenidos demuestran que de un total de 70 sueros equinos analizados, 32 reaccionaron positivamente y 38 reaccionaron de forma negativa. Esto indica un 45,7% de seropositividad a los diferentes serovares del género *Leptospira* analizados. Aunque el resultado de seroprevalencia de leptospirosis fue mayor en machos (47,5%) que en hembras (43,3%) (**Tabla 2**), no se observó diferencia estadísticamente significativa en la seroprevalencia de la enfermedad según sexo ($X^2 = 0,12$; $p = 0,73$).

Tabla 2. Seroprevalencia de leptospirosis versus la variable sexo.

Sexo	Positivos (n)	Negativos (n)	Total (n)	Seroprevalencia (%)
Macho	19	21	40	47,5
Hembra	13	17	30	43,3

Aunque el resultado de seroprevalencia de leptospirosis fue mayor en caballos de 2 años (46,9%) que en caballos ≥ 3 años (44,7%) (**Tabla 3**), no se observó diferencia estadísticamente significativa en la seroprevalencia de la enfermedad según edad ($X^2 = 0,03$; $p = 0,86$).

Tabla 3. Seroprevalencia de leptospirosis versus la variable edad.

Edad	Positivos (n)	Negativos (n)	Total (n)	Seroprevalencia (%)
2 años	15	17	32	46,9
≥ 3 años	17	21	38	44,7

Los serovares que presentaron mayor cantidad de reaccionantes positivos correspondieron a *Tarassovi* (75%) y *Grippotyphosa* (21,9%). El serovar que presentó menor frecuencia fue *Hardjo* (3,1%) (**Tabla 4**). No hubo reaccionantes positivos a los serovares *Pomona*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Autumnalis* ni a *Bratislava*.

Tabla 4. Frecuencia de presentación por serovar de las muestras positivas a leptospirosis.

Serovar	Positivos (n)	Porcentaje (%)
<i>Hardjo</i>	1	3,1
<i>Tarassovi</i>	24	75
<i>Pomona</i>	0	0
<i>Canicola</i>	0	0
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	0	0
<i>Autumnalis</i>	0	0
<i>Bratislava</i>	0	0
<i>Grippotyphosa</i>	7	21,9
Total	32	100

Para determinar el título final de anticuerpos por cada animal, cuando las muestras de sueros reaccionaron a dos o más serovares, se consideró el valor más alto de titulación obtenido, encontrando una mayor frecuencia en títulos de 1:400 (43,8%) y 1:800 (28,1%) (**Tabla 5**). Esto demuestra que el 71,9% de los seropositivos presentan una infección reciente o activa.

Tabla 5. Frecuencia de reaccionantes positivos según título final de anticuerpos en microMAT.

Títulos de anticuerpos	Positivos (n)	Porcentaje (%)
1:100	2	6,3
1:200	4	12,5
1:400	14	43,8
1:800	9	28,1
1:1600	3	9,4
Total	32	100

6. DISCUSIÓN

El presente estudio tiene como objetivo describir la seroprevalencia de leptospirosis según edad y sexo, determinar si existen diferencias significativas e identificar el serovar y las titulaciones de anticuerpos más frecuentes en caballos Fina Sangre de Carrera (FSC) de un hipódromo, ubicado en la Región del Biobío (36°47'00"S 73°05'00"O). En esta Región existen 12.712 caballos (Instituto Nacional de Estadística [INE], 2021) y el 3,11% corresponden a caballos FSC residentes en el Club Hípico de Concepción a la fecha de la presente investigación.

Estudios epidemiológicos sobre leptospirosis en caballos realizados en Chile concluyen que la seroprevalencia de la enfermedad alcanza tasas de entre 23,3% y 65,4% en estos ejemplares (Azócar-Aedo, 2023). La alta seropositividad a leptospirosis en la muestra poblacional de nuestro estudio (45,7%) ratifica la presencia de leptospirosis en estos caballos. De las mediciones más remotas hechas en este recinto deportivo hace 16 años, el estudio de Roa (2007) revela una tasa de prevalencia similar (45,63%), demostrando que el comportamiento epidemiológico de la enfermedad no ha cambiado. Sin embargo, en un estudio de prevalencia en un haras de caballos FSC de la zona centro sur de Chile se confirma la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. en una seroprevalencia de 33,2% (France, 2015).

Por otra parte, estudios previos en Chile sobre seroprevalencia de leptospirosis en caballos según el uso dado a estos ejemplares revelan cifras disímiles. Un estudio en caballos jugadores de polo en la zona centro-sur de Chile en competencia determina una seroprevalencia general de leptospirosis de 48% (Bay-Schmith, 2004), discretamente superior a nuestro estudio (45,71%). El autor atribuye este resultado a los numerosos transportes durante la vida deportiva de estos ejemplares lo que aumentaría el riesgo de contagio, tanto directo como indirecto. Por otro lado, la seroprevalencia de leptospirosis en una población de equinos de tiro urbano habitantes de distintas localidades de la región metropolitana de Chile alcanza un 33,3% (Tapia, 2014), cifra inferior a nuestro estudio. Esta menor seroprevalencia explicaría el escaso contacto entre los individuos de esta muestra, en contraposición a nuestra población donde los caballos se mantienen

confinados en un recinto común. En este mismo sentido, el estudio de Tadich et al. (2016) en caballos de tracción urbana de la región central de Chile revela una seroprevalencia de leptospirosis aún menor (26,1%), por lo que la segregación animal parecería influir significativamente en la seroprevalencia de la enfermedad. Asimismo, en un estudio más reciente en equinos de tiro de una región del sur de Chile muestra una seroprevalencia de leptospirosis del 35% (Tuemmers et al., 2021), lo que puede estar influenciado por el menor número de muestras y, nuevamente, por la estabulación de los caballos, cuyo riesgo de transmisión horizontal puede ser mayor. En nuestro país, el mayor porcentaje de caballos FSC viven confinados en los hipódromos a partir de los 2 años (Cáceres, 2008). Por lo tanto, las posibilidades de que el confinamiento promueva la presentación y transmisión de enfermedades zoonóticas en el caballo como la leptospirosis es un punto que debe considerarse. Además, la seroprevalencia de leptospirosis en un estudio de caballos de rodeo chileno en la zona centro sur de Chile reporta un 49,35% (Cabezas, 2015), cifra significativamente superior a los estudios en caballos de tracción. Comparativamente con nuestro estudio, ambas poblaciones tratan de caballos de deporte que realizan ejercicio de carrera, y se señala que el esfuerzo físico competitivo en el caballo podría afectar a uno o más sistemas orgánicos, que influiría en la presentación subclínica de la enfermedad (Hamond et al., 2012).

Es importante señalar que la seroprevalencia de la enfermedad con la variable sexo es mayor en machos (47,5%) que en hembras (43,3%). Sin embargo, al igual que en este estudio, la mayoría de las investigaciones sobre la seroprevalencia de leptospirosis en caballos demuestra que no existe una diferencia significativa entre machos y hembras ($P = 0,73$), a excepción de un estudio acerca de la prevalencia de leptospirosis equina en caballos jugadores de polo de la región del Biobío de Chile, cuya cifra es significativamente mayor en machos (67,56%) que en hembras (38,02%) (Bay-Schmith, 2004). El autor señala que esta diferencia de prevalencia entre sexos podría deberse a los hábitos de crianza de los caballos, ya que las hembras, durante sus periodos de gestación y al terminar su vida deportiva, son destinadas a potrero para ser mantenidas para la reproducción. En cambio, los machos pasan toda su vida deportiva en pesebreras, y al terminar ésta, son vendidos. De esta forma, el confinamiento de los machos en

pesebreras sería un factor predisponente para el contagio de leptospirosis a través de roedores silvestres que contaminan establos y alimentos con su orina.

La influencia de la edad en relación con la seropositividad a serovares de *Leptospira* spp. en los caballos del presente estudio revela una mayor seroprevalencia en poblaciones de 2 años que en poblaciones ≥ 3 años (46,9% y 44,7% respectivamente). Esto podría explicarse porque al año y medio de edad, los potrillos se mantienen en pesebreras individuales para otorgarles mayores cuidados (Cáceres, 2008), siendo expuestos desde pequeños al contagio por huéspedes sinantrópicos en haras. Sin embargo, este estudio no presenta diferencias significativas entre ambos estratos etarios ($P = 0,86$). En cambio, un estudio realizado en caballos Bardigiano señala que el factor edad es una variable que influye significativamente en la seroprevalencia de la enfermedad, donde este valor es significativamente mayor en caballos adultos que vivían en 43 granjas diferentes (Vera et al., 2019). Lo propio queda establecido en otros estudios (Fagre et al., 2020; Blatti et al., 2011; Båverud et al., 2009), lo cual podría atribuirse a una larga persistencia de los títulos de anticuerpos después una infección, ya sea por contacto directo como indirecto (Båverud et al., 2009).

Por otro lado, se postula que cada serovar está adaptado a uno o a más mamíferos, los cuales albergan la bacteria sin mostrar necesariamente signos de enfermedad clínica, pero excretando *Leptospira* spp. por la orina, lo que los transformaría en reservorios naturales de la enfermedad (Guerra, 2009). Así, un estudio de seroprevalencia en caballos ($n=181$) que habitan sobre tres distintos suelos (estepa, húmedo y desértico), demostró que el serovar *Bratislava* fue el más frecuente (11%) (Odontsetseg et al., 2005). Se cree que la serovariedad *Bratislava* junto a la *Icterohaemorrhagiae* serían los dos serovares más frecuentes en el caballo, de acuerdo con una revisión sistemática de la literatura realizada para el periodo 2010-2020 (Toriz-Suarez et al., 2021). Contrariamente, en nuestro estudio, el serovar más frecuente fue *Tarassovi* (75%), seguido de *Grippotyphosa* (21,9%) y *Hardjo* (3,1%), y no reaccionaron a los demás serovares investigados. En Chile, en otras poblaciones de caballos como por ejemplo de tracción, el serovar más frecuente es *Ballum*, seguido de *Canicola* (Tadich et al., 2016). En tanto, un estudio posterior en este mismo tipo de población, los serovares más diagnosticados son *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Hardjo* y *Pomona* (Tuemmers et al., 2021). Por otra parte,

un estudio de alcance nacional, realizado en Italia (n=6279) con ocho serovares investigados, demuestra una serodominancia de *Australis* en ambas diluciones >1:100 y >1:400 (Tagliabue et al., 2016). En nuestro estudio no hay sueros reaccionantes a los serovares *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae*, *Autumnalis*, *Bratislava* ni *Canicola*. Sin embargo, el serovar *Canicola* es reaccionante en las poblaciones de tracción investigadas por los autores Tadich et al. (2016) y Tuemmers et al. (2021). Esta serodiversidad se asocia a que diferentes serotipos se adaptan a otros huéspedes mamíferos reservorios en las distintas áreas de estudios, lo cual parece estar asociado, entre otros, a la altitud de los suelos (Fagre et al., 2020). Así, un estudio en África sobre caballos de tracción demuestra una seropositividad significativamente mayor en ejemplares de la agroecología de la zona montañosa (62,1%), respecto de la zona intermedia (44,4%) y la zona de llanuras (39,8%) (Tsegay et al., 2016).

Considerando que las titulaciones de anticuerpos en la MAT o microMAT pueden variar debido al nivel de pesquisa que se pretende investigar, en nuestro estudio se utiliza un corte microMAT de $\geq 1:100$ para identificar las positividades serológicas. De los sueros reaccionantes, la mayor frecuencia corresponde a títulos de 1:400 (43,8%) y 1:800 (28,1%), lo que confirma la presencia de infección reciente o activa. Asimismo, en un estudio en caballos Pura Sangre de Carrera realizado en Brasil, el 71,4% de los sueros presentaron títulos reactivos a diluciones ≥ 100 , pero el 40% y el 21,1% presentaron títulos altos a 400 y ≥ 800 , respectivamente (Hamond et al., 2012). Otros estudios utilizan un punto de corte de 400, para considerar un suero positivo y esto reduce el valor de seroprevalencia, en comparación con un punto de corte de 100. Un punto de corte de 400 es útil para reducir las posibles reacciones cruzadas y la interferencia con anticuerpos generados por vacunas (Tagliabue et al 2016). Lo que no ocurre en nuestro estudio, ya que en Chile no se vacuna a los caballos contra leptospirosis, aunque tampoco se descarta las condiciones subclínicas de la enfermedad.

Atendiendo a la epidemiología de la enfermedad, estudios previos demuestran la asociación de seroprevalencia de leptospirosis en equinos que cohabitan o están en las cercanías con otros animales de granja. Un estudio reciente de seroprevalencia entre equinos y bovinos demuestra una prevalencia global del 22,3%, con mayor (37%) y menor (6,6%) prevalencia en vacas Holstein y mulas, respectivamente (Ramin et al., 2023). En

tanto, la seroprevalencia en caballos hospedados al lado de una granja de alpacas que desarrolló un brote de leptospirosis alcanza el 58% de seroprevalencia, no pudiendo los autores determinar una asociación directa entre ambos eventos epidemiológicos (Bolwell et al., 2022). En este mismo sentido, un estudio reciente en Nueva Zelanda señala que las yeguas de cría, en comparación con los caballos de carreras y los caballos que pastan alternativamente con las ovejas, aumentan las probabilidades de exposición a cualquier serovariedad, mientras que el pastoreo simultáneo de ovejas y caballos que pastan alternativamente con el ganado, aumentan las probabilidades de exposición a serovariedades de rumiantes (Bolwell et al., 2020).

Por tratarse la leptospirosis de una enfermedad infecciosa zoonótica reemergente, nos asiste la idea de que en el futuro se realicen estudios de vigilancia de seroprevalencia que, además de los caballos, involucren a grupos humanos de riesgo por condiciones laborales, como médicos veterinarios, entrenadores y cuidadores de caballos; así como también a grupos de riesgo animal, como perros y gatos que cohabitan en estos recintos deportivos. Por otro lado, también se podría considerar estudios de control de factores de riesgo relacionados con el manejo de animales sinantrópicos y medidas sanitarias.

Estimamos que las limitaciones más importantes de este estudio radican en el menor número de muestras de caballos que recién ingresa al hipódromo (2 años / 8,08%), porcentaje que podría ampliarse en futuros estudios; así como el no disponer de una paleta más amplia de serovares aislados específicamente en caballos, cuestión relevante en la vigilancia de la infección por *Leptospira* spp. en caballos en Chile. Por otro lado, entre las limitaciones evidentes de la prueba de aglutinación microscópica (MAT) o prueba de microaglutinación en placa (microMAT) está precisamente la incapacidad para distinguir entre los anticuerpos contra *Leptospira* spp. generados como resultado de una infección natural de aquellos provenientes de una inmunización, cuestión que con análisis lipídico se puede discriminar casos infecciosos, quedando aún pendiente pruebas de diagnóstico para diferenciar estas dos respuestas inmunes (Wood et al., 2018). Una observación que pudiera tener nuestro resultado.

7. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos y resultados del presente estudio, se concluye lo siguiente:

1. La tasa de prevalencia general de leptospirosis en caballos Fina Sangre de Carrera (FSC) es más alta (45,7%), comparada con estudios realizados en otras razas de caballos en Chile.
2. Existen 32 caballos FSC positivos a tres serovares (*Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Hardjo*).
3. Existe un serovar (*Tarassovi*) con mayor frecuencia (75%) respecto del resto.
4. Los títulos de anticuerpos más frecuentes son 1:400 (43,8%) y 1:800 (28,1%), lo que confirma la presencia de infección reciente o activa.
5. La seroprevalencia general por sexo es mayor en machos (47,5%) que en las hembras (43,3%), pero sin presentar diferencias significativas ($p = 0,73$).
6. La seroprevalencia por edad es mayor en ejemplares de 2 años (46,9%) que en los ≥ 3 años (44,7%), pero sin presentar diferencias significativas ($p = 0,86$).
7. Se aceptan ambas hipótesis nulas (H_0 y H_0').

8. REFERENCIAS

- Adler, B. y de la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.012>
- Acha, P. y Szyfres, B. (2003). Leptospirosis. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a Los Animales. Eds.; OPS/OMS: Washington, DC, USA, 175–186. <t.ly/DLCdL>
- Apablaza, L. (1989). Prevalencia de la leptospirosis en los equinos mestizos de silla de un regimiento de caballería de la provincia de Concepción. *Memoria de título. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.* <t.ly/QVII8>
- Aranzazu, A., Apraez, L. y Ortiz, D. (2020). Leptospirosis en pediatría, un diagnóstico a tener en cuenta. *Revista Chilena de Infectología*, 37(6), 728–738. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182020000600728>
- Azócar-Aedo, L. (2023). Basic Aspects and Epidemiological Studies on Leptospirosis Carried Out in Animals in Chile: A Bibliographic Review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(2), 97. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8020097>
- Båverud, V., Gunnarsson, A., Engvall, E. O., Franzén, P. y Egenvall, A. (2009). *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1):15. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-51-15>
- Bay-Schmith, N. (2004). Prevalencia de leptospirosis equina en caballos jugadores de polo de la Octava región de Chile. *Memoria de título. Facultad de Ciencias Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.* <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/8665>
- Bernard, W. (1993). Leptospirosis. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 9(2), 435–444. [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(17\)30410-8](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(17)30410-8)
- Bharti, A., Nally, J., Ricaldi, J., Matthias, M., Diaz, M., Lovett, M., Levett, P., Gilman, R., Willig, M., Gotuzzo, E., Vinetz, J. y Peru-United States Leptospirosis Consortium (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet*.

- Infectious Diseases*, 3(12), 757–771. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(03\)00830-2](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(03)00830-2)
- Bierque, E., Thibeaux, R., Girault, D., Soupé-Gilbert, M. y Goarant, C. (2020). A systematic review of *Leptospira* in water and soil environments. *PLoS one*, 15(1), e0227055. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227055>
- Blatti, S., Overesch, G., Gerber, V., Frey, J. y Hüsey, D. (2011). Seroprevalence of *Leptospira* spp. in clinically healthy horses in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 153(10):449-456. <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000247>
- Bolwell, C., Rogers, C., Benschop, J., Collins-Emerson, J., Adams, B., Scarfe, K. y Gee E. (2020). Seroprevalence of *Leptospira* in Racehorses and Broodmares in New Zealand. *Animals*, 10(11), 1952. <https://doi.org/10.3390/ani10111952>
- Bolwell, C., Gee, E., Adams, B., Collins-Emerson, J., Scarfe, K., Nisa, S., Gordon, E., Rogers, C. y Benschop, J. (2022). Longitudinal Testing of *Leptospira* Antibodies in Horses Located near a Leptospirosis Outbreak in Alpacas. *Veterinary Sciences*, 9(8), 426. <https://doi.org/10.3390/vetsci9080426>
- Cabezas, C. (2015). Seroprevalencia de Leptospirosis en caballos pura raza Chilena de un club de rodeo de la ciudad de Los Ángeles (Chile). *Memoria de título. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad San Sebastián*.
- Cáceres, P. (2008). Eficiencia reproductiva y deportiva en equinos Fina Sangre Carrera en Chile. *Memoria de título. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile*. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130955>
- Caimi, K. y Ruybal, P. (2020). *Leptospira* spp., a genus in the stage of diversity and genomic data expansion. *Infection, Genetics and Evolution*, 81, 104241. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104241>
- Céspedes, M. (2005). Leptospirosis: enfermedad zoonótica y reemergente. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 22(4), 290–307. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36322408>
- Club hípico de Concepción S.A. (2021). 102 Memoria Anual 2021. *Club Hípico de Concepción*. t.ly/Q4fhk

- Cole, J., Sulzer, C. y Pursell, A. (1973). Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Applied Microbiology*, 25(6), 976–980. <https://doi.org/10.1128/am.25.6.976-980.1973>
- Donahue, J. y Williams, N. (2000). Emergent causes of placentitis and abortion. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 16(3), 443–456. [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(17\)30088-3](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(17)30088-3)
- Fagre, A., Mayo, C., Pabilonia, K. y Landolt, G. (2020). Seroprevalence of *Leptospira* spp. in Colorado equids and association with clinical disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(5), 718–721. <https://doi.org/10.1177/1040638720943155>
- France, J. (2015). Determinación de anticuerpos contra leptospiras patógenas en equinos fina sangre de carrera, con y sin antecedentes clínicos relacionados con la infección. *Memoria de título. Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile*. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2015/fvf815d/doc/fvf815d.pdf>
- Ganoza, C., Matthias, M., Saito, M., Céspedes, M., Gotuzzo, E. y Vinetz, J. (2010). Asymptomatic renal colonization of humans in the peruvian Amazon by *Leptospira*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(2), e612. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000612>
- González, D. (2016). Descripción de la presentación de sueros positivos a *Leptospira* spp. y su relación con factores individuales de equinos pertenecientes a un centro ecuestre militar de la Región de Valparaíso. *Memoria de título. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile*. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/132106>
- Guerra, M. (2009). Leptospirosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(4), 472–430. <https://doi.org/10.2460/javma.234.4.472>
- Haake, D. y Levett, P. (2015). Leptospirosis in humans. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 65–97. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_5
- Hamond, C., Martins, G. y Lilenbaum, W. (2012). Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. *Tropical Animal Health and Production*, 44(8), 1927–1930. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0158-5>

- Hamond, C., Martins, G., Medeiros, M. y Lilenbaum, W. (2013). Presence of leptospiral DNA in semen suggests venereal transmission in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33(12), 1157–1159. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.185>
- INE, Instituto Nacional de Estadística. (2021). Censo Nacional Agropecuario 2021. *Existencia de animales*. <t.ly/SBZrX>
- Khalili, M., Sakhaee, E., Bagheri Amiri, F., Safat, A., Afshar, D. y Esmaeili, S. (2020). Serological evidence of leptospirosis in Iran; A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 138, 103833. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103833>
- Lau, C., Smythe, L. y Weinstein, P. (2010). Leptospirosis: an emerging disease in travellers. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 8(1), 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2009.12.002>
- Levett P. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 296–326. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.296-326.2001>
- Llanos, S., Najle, M., Salgado, M. y González, D. (2019). Evidence of pathogenic *Leptospira* infection in a free-ranging Andean fox (*Lycalopex culpaeus*) from central Chile. *Journal of Wildlife Diseases*, 55(4), 958–960. <https://doi.org/10.7589/2018-09-237>
- Malalana F. (2019). Leptospirosis in horses: A European perspective. *Equine Veterinary Journal*, 51(3), 285–286. <https://doi.org/10.1111/evj.13022>
- Md-Lasim, A., Mohd-Taib, F., Abdul-Halim, M., Mohd-Ngesom, A., Nathan, S. y Md-Nor, S. (2021). Leptospirosis and Coinfection: Should We Be Concerned?. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(17), 9411. <https://doi.org/10.3390/ijerph18179411>
- Nakamura, I., Hang'ombe, B., Sawa, H., Kobayashi, S., Orba, Y., Ishii, A., Thomas, Y., Isozumi, R., Yoshimatsu, K., Mweene, A., Takada, A., Sugimoto, C. y Arikawa, J. (2013). Cross-reactivity of secondary antibodies against African rodents and application for sero-surveillance. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 75(6), 819–825. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0471>

- Odontsetseg, N., Boldbaatar, D., Mweene, A. y Kida, H. (2005). Serological prevalence of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava in horses in Mongolia. *The Veterinary Record*, 157(17), 518–519. <https://doi.org/10.1136/vr.157.17.518>
- Ojeda, J., Salgado, M., Encina, C., Santamaria, C. y Monti, G. (2018). Evidence of interspecies transmission of pathogenic *Leptospira* between livestock and a domestic cat dwelling in a dairy cattle farm. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 80(8), 1305–1308. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0361>
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). (2021). Capítulo 3.1.12. Leptospirosis. *Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres*. <t.ly/gBRIU>
- Pérez, Y., Obregón, A., Rodríguez, I. del C. y Alfonso, M. (2015). Actualización en el diagnóstico de la leptospirosis humana. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 44(4), 0–0. <http://ref.scielo.org/k3wcx6>
- Perret, C., Abarca, K., Dabanch, J., Solari, V., García, P., Carrasco, S., Olivares, R. y Avalos, P. (2005). Prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la Región Metropolitana. *Revista Médica de Chile*, 133(4), 426-431. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872005000400005>
- Ramin, A., Abdollahpour, G., Hosseinzadeh, A., Azizzadeh, F., Ramin, P., Klalili, Y., Sanajo, D. e Iran Nezhad, S. (2023). Comparison of anti-*Leptospira* antibodies by microscopic agglutination test in ruminants and equines of Urmia, Iran. *Veterinary Research Forum*, 14(4), 229–235. <https://doi.org/10.30466/vrf.2022.546475.3345>
- Reis, R., Ribeiro, G., Felzemburgh, R., Santana, F., Mohr, S., Meléndez, A., Queiroz, A., Santos, A., Ravines, R., Tassinari, W., Carvalho, M., Reis, M. y Ko, A. (2008). Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2(4), e228. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000228>
- Roa, D. (2007). Prevalencia de Leptospirosis equina en el Club Hípico de Concepción, VIII Región, Chile. *Memoria de título. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad San Sebastián*. <t.ly/lpeM8>
- Salgado, M., Otto, B., Sandoval, E., Reinhardt, G. y Boqvist, S. (2014). A cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira* spp. serovars

- in small holder dairy cattle farms in southern Chile. *BMC Veterinary Research*, 10, 126. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-126>
- Salgado, M., Otto, B., Moroni, M., Sandoval, E., Reinhardt, G., Boqvist, S., Encina, C. y Muñoz-Zanzi, C. (2015). Isolation of *Leptospira interrogans* serovar Hardjoprajitno from a calf with clinical leptospirosis in Chile. *BMC Veterinary Research*, 11, 66. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0369-x>
- Tadich, T., Tapia, C. y González, D. (2016). Seroprevalence of *Leptospira* spp. in Working Horses Located in the Central Region of Chile, *Journal of Equine Veterinary Science*, 38,14-18. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.12.011>
- Tagliabue, S., Figarolli, B., D’Incau, M., Foschi, G., Gennero, M., Giordani, R., Natale, A., Papa, P., Ponti, N., Scaltrito, D., Spadari, L., Vesco, G. y Ruocco, L. (2016). Serological surveillance of Leptospirosis in Italy: two-year national data (2010-2011). *Veterinaria Italiana*, 52(2), 129–138. <https://doi.org/10.12834/VetIt.58.169.2>
- Tapia, C. (2014). Frecuencia de presentación de sueros reaccionantes a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* en una población de equinos de tiro urbano de la región metropolitana de Chile. *Memoria de título. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile*. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/132106>
- Timoney, J., Kalimuthusamy, N., Velineni, S., Donahue, J., Artiushin, S. y Fettinger, M. (2011). A unique genotype of *Leptospira interrogans* serovar Pomona type kennewicki is associated with equine abortion. *Veterinary Microbiology*, 150(3-4), 349–353. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.049>
- Toriz-Suarez, O., Pérez-Rivero, J., Herrera-Barragán, A., Torres-Barranca, J. y Lombardero-Goldaracena, G. (2021). Frecuencia de leptospirosis en equinos: revisión de literatura. *Abanico Veterinario*, 11. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.23>
- Troncoso, I., Toro, J., Guzmán, A., Fuentealba, J. y Fischer, C. (2013). Evaluación serológica de *Leptospira interrogans* en equinos pertenecientes a un centro ecuestre de la provincia de Linares, Chile. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8(2), 101–107. <https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/2851>

- Tsegay, K., Potts, A., Aklilu, N., Lötter, C. y Gummow, B. (2016). Circulating serovars of *Leptospira* in cart horses of central and southern Ethiopia and associated risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 125, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.01.009>
- Tuemmers, C., Quezada, G., Morales, R. y Serri, M. (2021). Seroprevalence of *Leptospira* spp. in draft horses from indigenous communities in the Araucanía Region, Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 38(4), 580–582. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182021000400580>
- Vera, E., Taddei, S., Cavirani, S., Schiavi, J., Angelone, M., Cabassi, C., Schiano, E. y Quintavalla, F. (2019). *Leptospira* Seroprevalence in Bardigiano Horses in Northern Italy. *Animals*, 10(1), 23. <https://doi.org/10.3390/ani10010023>
- Verma, A., Stevenson, B. y Adler, B. (2013). Leptospirosis in horses. *Veterinary Microbiology*, 167(1-2), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.04.012>
- Wegmann E. (1983). Leptospirosis en caballos. *Archivos de Medicina Veterinaria* 15, 59-64. Recuperado el 22 de octubre de 2022, de t.ly/d8bA
- Wood, P., Steinman, M., Erol, E., Carter, C., Christmann, U. y Verma, A. (2018). Lipidomic analysis of immune activation in equine leptospirosis and *Leptospira*-vaccinated horses. *PLoS One*, 13(2), e0193424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193424>
- Yan, W., Faisal, S., Divers, T., McDonough, S., Akey, B. y Chang, Y. (2010). Experimental *Leptospira interrogans* serovar Kennewicki infection of horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(4), 912–917. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0507.x>
- Zunino, E. y Pizarro, R. (2007). Leptospirosis: Puesta al día. *Revista Chilena de Infectología*, 24(3), 220-226. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182007000300008>

9. ANEXOS

9.1. Anexo 1. Cálculo del tamaño muestral.

$$n = (N \times Z^2 \times p \times (1-p)) / (E^2 \times (N-1) + Z^2 \times p \times (1-p))$$

$$n = (396 \times (1,96)^2 \times 0,4563 \times (1-0,4563)) / ((0,1)^2 \times (396-1) + (1,96)^2 \times 0,4563 \times (1-0,4563))$$

$$n = 377,41 / 4,9$$

$$n = 77$$

Tamaño de la muestra (n): 77 individuos

9.2. Anexo 2. Hoja de consentimiento informado

Consentimiento informado

Objetivo de la investigación: El propósito del presente estudio es determinar la prevalencia de leptospirosis en dos grupos etarios de caballos Fina Sangre de Carrera.

Procedimiento: Durante la visita al Club Hípico de Concepción se le tomará una muestra de sangre a su caballo. Esta muestra se tomará solo una vez por un médico veterinario y solo puede causar un poco de incomodidad en el animal. Luego, las muestras serán enviadas a un laboratorio para su posterior diagnóstico.

Duración de la participación en el estudio: Una vez tomada la muestra de sangre, el animal terminará su participación en el estudio.

Beneficios y riesgos de participar en el estudio: Los sujetos participantes contribuirán a ampliar el conocimiento sobre la seroprevalencia *Leptospira* spp. en el caballo. El análisis de sangre no tendrá ningún costo adicional para el propietario ni para el entrenador.

El procedimiento de toma de muestra es inocuo y estándar. No existe riesgo, daño ni detrimento alguno en la salud o en la integridad física y/o psíquica de los participantes.

Institución patrocinante: El presente estudio, forma parte del proyecto de memoria de título de una estudiante de Medicina Veterinaria de la Universidad San Sebastián.

Declaro que: He comprendido las explicaciones que se me han dado, en un lenguaje claro y sencillo, y el investigador me ha permitido realizar todas las observaciones y preguntas necesarias, resolviéndome todas las dudas que le he planteado. También comprendo que en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar mi consentimiento. Acepto libremente tomar parte en el estudio.

Identificación del propietario o entrenador

Nombre:

Rut:

Fecha:

Firma:

9.3. Anexo 3. Diagnóstico serológico microMAT.



Universidad Austral de Chile
Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria

Muestra	<i>Hardjo</i>	<i>Pomona</i>	<i>Canicola</i>	<i>Tarasovi</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Autumnalis</i>	<i>Bratislava</i>	<i>Grippotyphosa</i>
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	400	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	400	-	100	-	100
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	100	-	800	-	200	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	400	-	-	-	200
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	100	-	200
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	200
17	-	-	-	800	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	1600	100	-	-	400
20	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	400	-	-	-	100
22	-	-	-	800	-	100	-	100
23	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-
25	100	-	-	-	100	100	200	400
26	-	-	-	-	-	-	-	100
27	-	-	-	-	-	-	-	-
28	100	-	-	400	-	-	100	100
29	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	1600	-	100	-	100
34	100	-	-	400	-	-	-	200
35	-	200	-	800	-	100	-	400
36	-	100	-	800	-	100	200	-

37	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	400	-	-	-	-
40	-	-	-	200	-	-	100	400
41	-	-	-	-	-	-	-	100
42	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	800	-	-	-	-
47	200	100	200	1600	-	100	100	-
48	-	-	-	200	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	200	-	100	-	100
52	-	-	-	-	-	-	-	-
53	400	-	-	200	-	-	-	200
54	100	100	-	400	-	-	-	100
55	-	-	-	-	-	-	-	-
56	200	-	-	800	-	100	-	400
57	-	-	-	-	-	-	-	-
58	-	200	-	400	-	-	-	-
59	400	-	-	800	-	-	-	200
60	-	-	-	-	-	-	-	-
61	-	-	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-
63	-	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-	-
65	-	-	-	200	-	100	100	400
66	-	-	-	-	-	-	-	-
67	-	-	-	800	-	-	-	200
68	200	-	-	400	-	-	100	200
69	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	-	-	-	-

Fecha de egreso: 20-04-2023.



Dr. Miguel Salgado. Responsable Diagnóstico Leptospirosis.

Dr. Carlos Tejada. Responsable elaboración del examen.

Observaciones: La presentación de títulos de anticuerpos mayor o igual a 400 indicaría que el individuo presenta una infección activa o reciente.

En el caso de presentar títulos de anticuerpos a más de un serovar, es considerado con mayor importancia el serovar que presentó los títulos más altos.