



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

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.

CONSTANZA ANDREA TAPIA CHANDÍA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de
la Producción Animal

PROFESOR GUÍA: TAMARA ALEJANDRA TADICH GALLO

Financiamiento: U-Inicia 121017019102049

SANTIAGO, CHILE

2014



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

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.

CONSTANZA ANDREA TAPIA CHANDÍA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de
la Producción Animal

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA: TAMARA ALEJANDRA TADICH GALLO
PROFESOR CORRECTOR: PEDRO ENRIQUE ABALOS PINEDA
PROFESOR CORRECTOR: MARIO NELSON ACUÑA BRAVO

Financiamiento: U-Inicia 121017019102049

SANTIAGO, CHILE

2014

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en primer lugar a la Dra. Bárbara Otto del Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Austral de Chile, por la excelente disposición que tuvo para compartir conmigo información fundamental durante la realización de este estudio y además por la calidad de los resultados obtenidos en el análisis de muestras en laboratorio.

De la misma forma, agradezco también a la Dra. Mónica Pradenas del Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile, por haberme confiado información técnica sobre ciertos procedimientos realizados en el presente estudio.

Además recalco mi gratitud hacia la Dra. Tamara Tadich, quien no solo cumplió su labor de profesora guía de manera eficiente y adecuada, sino que se convirtió en la persona que me ayudó a crecer como profesional para el día de mañana seguir realizando investigaciones que tengan trascendencia en el rubro de las ciencias veterinarias y pecuarias.

Finalmente, agradezco a mis padres, quienes me apoyaron durante todo el trayecto de mi carrera, me inculcaron el amor y el respeto que siento por los animales, y me inspiraron a seguir luchando por un mundo más fraternal en el cual los humanos puedan convivir en armonía con el resto de las especies y procuren mantener su bienestar.

A todos ellos, muchas gracias.

RESUMEN

Se analizaron muestras serológicas de 69 equinos de tiro urbano, provenientes de cinco comunas de la Región Metropolitana de Chile, con el objetivo de determinar la frecuencia de reacciones positivas a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*, determinar las comunas que presentan mayor frecuencia y determinar los serovares más frecuentes. Las muestras fueron sometidas a la prueba de microaglutinación en placa (microMAT) con una dilución inicial de 1:100 frente a cuatro serovares de la especie *Leptospira interrogans* y dos serovares de la especie *Leptospira borgpetersenii*. La vivienda de cada ejemplar fue georreferenciada según reacción positiva o negativa. La frecuencia de sueros que presentaron reacción positiva para todos los equinos testeados fue 33,33%. Se obtuvo una mayor frecuencia en la comuna de Huechuraba (100%), seguida de La Pintana (40%), San Bernardo (31,82%) y Quilicura (17,65%). La comuna de Recoleta no presentó equinos positivos. Los serovares detectados con mayor frecuencia fueron *ballum* (38,46%) y *canicola* (26,92%), seguidos de *icterohaemorrhagiae* (11,54%), *autumnalis* (11,54%) y *pomona* (7,69%). La menor frecuencia de presentación fue para *hardjo* (3,85%). Se obtuvieron títulos de 1:100 hasta 1:1600. Ningún ejemplar presentaba signos clínicos al momento de la toma de muestra. Estos resultados confirman que los equinos de tiro urbano analizados en este estudio están expuestos a la infección por *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*. Caninos y roedores podrían constituir importantes fuentes de transmisión. Las reacciones positivas a la microMAT demuestran contacto con el agente patógeno y no respuestas cruzadas frente a la vacuna.

Palabras clave: Equinos de tiro urbano, sueros reaccionantes, *Leptospira*, Chile.

ABSTRACT

Serum samples of 69 urban draught horses from five communes in the Metropolitan Region of Chile were analyzed in order to determine frequency of positive reactions to *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii*, determine the communes with higher frequency and determine the most frequent serovars. Samples were subjected at initial dilution of 1:100 against four serovars of *Leptospira interrogans* species and two serovars of *Leptospira borgpetersenii* species using microscopic agglutination test in plate (microMAT). The housing origin of each equine was georeferenced according to positive or negative reaction. The frequency of sera showing positive reactions for all equines tested was 33.33%. The highest frequency was obtained in Huechuraba (100%), followed by La Pintana (40%), San Bernardo (31.82%) and Quilicura (17.65%). Recoleta did not present any horses with positive reactions. Most frequently detected serovars were *ballum* (38.46%) and *canicola* (26.92%), followed by *icterohaemorrhagiae* (11.54%), *autumnalis* (11.54%) and *pomona* (7.69%). The lowest frequency was found for *hardjo* (3.85%). Titles from 1:100 to 1:1600 were obtained. None of the horses showed clinical signs at the time of sampling. These results confirm that urban draught horses analyzed in this study were exposed to *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* infection. Canines and rodents probably constitute the main sources of transmission. Positive reactions to microMAT would correspond to previous contact with the pathogen and not to cross reaction with vaccines.

Key words: Urban draught horses, sera reactions, *Leptospira*, Chile.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis corresponde a una enfermedad zoonótica re-emergente (Céspedes, 2005; Burriel, 2010; García-González *et al.*, 2013) de amplia distribución a nivel mundial que afecta a variadas especies de mamíferos incluyendo los caninos, bovinos, ovinos, porcinos y equinos (Levett, 2001). La infección es causada por espiroquetas del género *Leptospira sp.*, que según la clasificación fenotípica está formado por las especies *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*, las cuales son patógena y saprófita respectivamente. *Leptospira interrogans* a su vez puede clasificarse mediante técnicas de microaglutinación en 23 serogrupos y 218 serovares (Zunino y Pizarro, 2007). Sin embargo, en base a estudios de ADN existe una clasificación genotípica, en la cual el género *Leptospira sp.* comprende diez genomoespecies (Levett, 2001), de las cuales se consideran tres especies no patógenas: *L. biflexa*, *L. meyerii*, *L. wolbachii*, y siete especies patógenas: *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* y *L. weilii*; distribuidas en 24 serogrupos y 237 serovares (Zunino y Pizarro, 2007).

Algunos serovares infectan habitualmente a una especie en particular, denominada hospedero de mantención, desarrollando un cuadro subclínico o asintomático; mientras que al infectar a una especie no habitual, denominada hospedero accidental, desarrollan una enfermedad más grave que puede incluso ser letal. Los hospederos de mantención tienen mayor capacidad de diseminación del agente, ya que suelen infectarse a temprana edad y excretar las espiroquetas por la orina de forma crónica. Los roedores constituyen el principal reservorio y fuente de diseminación de la enfermedad (Levett, 2001; WHO, 2003; Perret *et al.*, 2005).

La leptospirosis puede transmitirse por contacto directo de mucosas o heridas con orina de un animal infectado, fetos abortados, mortinatos o descargas vaginales después del parto, o por contacto indirecto con terrenos húmedos contaminados, inhalación de aerosoles e ingesta de alimentos o agua contaminada. También puede ocurrir a través de la lactancia, mediante insectos vectores, por mordeduras de roedores y se ha reportado la transmisión sexual en el hombre (Zamora y Riedemann, 1976; Levett, 2001; CFSPH, 2005).

La zoonosis ocurre principalmente por contacto directo con la orina de un animal infectado o por contacto indirecto mediante agua estancada o terrenos húmedos contaminados (Zunino y Pizarro, 2007), existiendo un riesgo de exposición laboral ligado al personal de matadero, labores pecuarias y labradores de arrozales (Zamora *et al.*, 1990). Genera cuadros clínicos de distinta sintomatología y gravedad en las personas infectadas que van desde pacientes asintomáticos hasta la presentación más grave y letal conocida como Síndrome de Weil (Levett, 2001; WHO, 2003; Perret *et al.*, 2005; Zunino y Pizarro, 2007).

A partir del año 2000, el Ministerio de Salud de Chile estableció la vigilancia de laboratorio de la leptospirosis humana bajo la responsabilidad del Instituto de Salud Pública. Según el último informe, hasta el año 2011 se habían notificado cuatro casos distribuidos entre las regiones de Valparaíso, Metropolitana, Maule y Biobío, con una letalidad del 25% (MINSAL, 2011). Sin embargo, debido al amplio rango de síntomas que pueden manifestarse en la población, la enfermedad se considera sub-diagnosticada (Zunino y Pizarro, 2007).

Los equinos desarrollan mayoritariamente la presentación subclínica o asintomática (CFSPH, 2005). Los signos clínicos están mayormente asociados a uveítis recurrente y abortos (Wegmann, 1983; Verma *et al.*, 2005; Houwers *et al.*, 2011), aunque también se describen casos de mortinatos, nacimientos prematuros, disfunción renal, disfunción hepática y formas no específicas de la enfermedad que consisten en fiebre, ictericia, anorexia y letargia (Hathaway *et al.*, 1981; Divers *et al.*, 1992; Poonacha *et al.*, 1993; Vemulapalli *et al.*, 2005; Baverud *et al.*, 2009; Ali y Saeid, 2012). Sin embargo, debido a que no hay signos patognomónicos para la leptospirosis equina, las pruebas serológicas son de gran valor diagnóstico (Wegmann, 1983).

Según el último informe del Subdepartamento de Vigilancia Epidemiológica del Servicio Agrícola y Ganadero, durante el año 2011 se registró un caso de leptospirosis equina en la Región Metropolitana y dos casos en la Región del Maule, encontrándose clasificada en la lista de enfermedades prevalentes para la especie equina, aunque se considera subnotificada (SAG, 2011).

Los equinos de tiro urbano siguen siendo un vehículo de transporte y herramienta de trabajo importante en comunidades pobres de los países en vías de desarrollo (Burn *et al.*, 2010) y sus principales funciones corresponden al transporte de productos agrícolas, materiales de construcción o escombros y/o la participación en ceremonias religiosas. El riesgo que poseen de adquirir leptospirosis, así como el rol que juegan en la transmisión de la zoonosis guardaría relación con sus condiciones de tenencia (Castillo *et al.*, 2007). Estos ejemplares generalmente habitan en sectores peri-urbanos (Tadich *et al.*, 2008), donde el mal manejo de basura y residuos de alimentos atrae la presencia de roedores (Johnson *et al.*, 2004), suelen convivir con otras especies animales en las viviendas (Suárez *et al.*, 1996) y además se ven expuestos a condiciones sanitarias pobres (Lasta *et al.*, 2013).

Al respecto, en un estudio realizado en Cuba en la provincia Ciego de Ávila, un 24% de los equinos de tracción estudiados presentaron interpretación serológica positiva, a su vez, un 3,2% de los propietarios resultaron positivos a leptospirosis (Suárez *et al.*, 1996). Otro estudio realizado en Cuba reportó un 20% de seroprevalencia en equinos de tracción (Castillo *et al.*, 2007), mientras que en Brasil se obtuvo un 60% de seropositividad en equinos de trabajo (Lasta *et al.*, 2013).

En la Región Metropolitana se ha encontrado el agente presente en roedores y humanos que habitan en sectores peri-urbanos, señalándose como factores de riesgo a los cuales se encontraban expuestos la falta de medidas sanitarias y control de roedores (Perret *et al.*, 2005). Los equinos de tiro urbano se encuentran también expuestos a dichos factores. Sin embargo, no existe suficiente información epidemiológica sobre leptospirosis en equinos de la región, salvo en ejemplares pertenecientes a planteles fiscales, en los cuales se obtuvo un 54,4% de reaccionantes, de un total de 57 equinos, siendo el serovar más frecuente *icterohaemorrhagiae* (Solís, 1993). Sin embargo, tales equinos poseen condiciones de tenencia diferentes a las mencionadas. Por otra parte, se desconoce la densidad poblacional de los equinos de tiro urbano que circulan en la región debido a que no existe una base de datos que proporcione dicha información, incluyendo al censo agropecuario (INE, 2007), por lo que no se puede estimar la importancia que jugarían estos equinos como diseminadores de la enfermedad.

La prueba de aglutinación microscópica (MAT), que emplea antígenos vivos de distintos serovares de *Leptospira sp.*, es el método de referencia para el diagnóstico serológico de leptospirosis y el más ampliamente utilizado (Levett, 2001; OIE, 2008; Burriel, 2010). Su sensibilidad es óptima al incluir serovares representativos de todos los serogrupos conocidos en la región y su especificidad es alta, ya que frente a otras bacterias los anticuerpos no dan reacción cruzada con *Leptospira sp.* de manera significativa (OIE, 2008). Sin embargo, al determinar anticuerpos totales tanto IgM como IgG, presenta reacciones cruzadas significativas entre serogrupos especialmente en la fase aguda de la infección, requiriéndose personal entrenado para su interpretación (Levett, 2001). Es una herramienta muy útil para estudios epidemiológicos, proporcionando una impresión general de los serogrupos que están presentes en una población, pero en casos de infección individual o brote, es necesario el aislamiento del agente (Levett, 2001; OIE, 2008).

En la actualidad se ha desarrollado una prueba serológica muy similar a la prueba de aglutinación microscópica (MAT), denominada prueba de micro aglutinación en placa (microMAT). Algunas ventajas que ofrece el uso de esta técnica respecto de la MAT incluyen la utilización de un menor volumen de antígeno, el uso de microplacas de poliestireno con pocillos de fondo plano en lugar de los tubos de vidrio que se utilizan en MAT y el uso de micropipetas de precisión para la obtención de diluciones más rápidas y precisas (Cole *et al.*, 1973). De esta manera, disminuye el tiempo de ejecución por muestra, lo cual permite el análisis de una mayor cantidad de muestras en el mismo tiempo que la MAT. También el tiempo de incubación se reduce desde un período de dos a cuatro horas en MAT a una hora en microMAT (Otto, 2014¹). Además resguarda la seguridad del operario, ya que la lectura de la reacción se realiza en la microplaca, evitando la exposición del operario a las leptospiras vivas, lo cual si ocurre en MAT debido a que se extrae una gota suero-problema y se coloca en un portaobjeto para luego observarla a microscopía (Cole *et al.*, 1973). Incluso la lectura es más clara, ya que se observan aglutinaciones muy evidentes en comparación con MAT donde se debe evaluar tanto cantidad de leptospiras

¹OTTO, B. 2014. [Comunicación Personal]. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias. Instituto de Bioquímica y Microbiología.

como aglutinaciones presentes (Otto, 2014¹). Por otro lado, este último punto también puede ser considerado una desventaja debido a que podrían presentarse falsos negativos, que corresponderían a pocillos en los cuales no se observa aglutinación debido a que no contienen el antígeno (Cole *et al.*, 1973). Sin embargo, se ha visto en la práctica que microMAT posee mayor sensibilidad en comparación a MAT (Otto, 2014¹) y se ha demostrado un nivel de concordancia mayor al 96% entre los resultados obtenidos mediante la utilización de microMAT y de MAT (Cole *et al.*, 1973).

El objetivo general de este estudio es determinar la frecuencia de presentación de sueros reaccionantes a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* en una población de equinos de tiro urbano que permanecen en la Región Metropolitana y los objetivos específicos incluyen determinar las comunas que presentan una mayor frecuencia de reacciones positivas al agente infeccioso y determinar los serovares más frecuentes dentro de la población estudiada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizó una población de 69 equinos de tiro urbano que habitaban en distintas comunas de la Región Metropolitana, las cuales corresponden a La Pintana, San Bernardo, Quilicura, Huechuraba y Recoleta. Estos ejemplares se encontraban trabajando regularmente e incluyeron hembras, machos enteros y castrados, todos mayores de un año y medio según su cronometría dentaria. El tamaño de la población no fue estimado mediante fórmulas, ya que no se conoce la población total de equinos de tiro urbano que circulan en la Región Metropolitana y dependió de la voluntad de sus propietarios de participar en el estudio.

Para la toma de muestras, los animales provenientes de las comunas de La Pintana y San Bernardo fueron citados a consulta en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile y los provenientes de las comunas de Quilicura, Huechuraba y Recoleta fueron citados a jornadas de atención realizadas en dichas localidades. En todas las comunas, la atención veterinaria fue gratuita y llevada a cabo por un equipo de voluntarios que incluyó estudiantes de medicina veterinaria y médicos veterinarios de la Universidad de Chile. Durante la misma jornada de atención se recolectó la información del animal y dirección en la que habita.

Se extrajeron aproximadamente cinco ml de sangre a cada equino por venopunción yugular con jeringas estériles y se almacenaron en tubos sin anticoagulante. Luego, se centrifugaron a 699 g durante cinco minutos para obtener el suero sanguíneo. Todas las muestras serológicas se mantuvieron congeladas a -20 °C en tubos Eppendorf limpios y rotulados hasta su posterior análisis en el Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile (UACH), lugar donde fueron sometidas a la prueba de micro aglutinación en placa (microMAT).

Análisis serológico:

Se utilizaron como antígenos vivos, seis serovares del género *Leptospira sp.*, correspondientes a las especies *L. borgpetersenii* y *L. interrogans* según la clasificación genotípica, y pertenecientes a distintos serogrupos. Todos los serovares seleccionados corresponden a aquellos reportados en la literatura como más frecuentes de encontrar en el país y en la especie equina y se obtuvieron a partir de cultivos frescos provenientes del

Instituto de Bioquímica y Microbiología de la UACH. A continuación se detallan las especies y los serovares utilizados y el serogrupo al cual pertenece cada uno (Cuadro 1).

Cuadro 1: Especies y serovares utilizados en la microMAT y sus respectivos serogrupos.

ESPECIE	SERGRUPO	SEROVAR
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Sejroe</i>	<i>hardjo</i>
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Ballum</i>	<i>ballum</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Pomona</i>	<i>pomona</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Canicola</i>	<i>canicola</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>
<i>L. interrogans</i>	<i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i>

El procedimiento para realizar la microMAT consistió en dos fases. La primera correspondió a la fase de *screening*, en la cual todos los sueros fueron sometidos a una dilución inicial de 1:100 y enfrentados a todos los serovares. Se consideraron positivos los sueros que presentaron al menos un 50% o más de aglutinación en comparación con el pocillo control, de acuerdo con lo señalado en el Manual de la OIE sobre Animales Terrestres (OIE, 2008). La segunda fase consistió en obtener la titulación final, lo cual se logró titulando todos los sueros positivos hasta 1:1600.

Georreferencia:

Para contribuir en la localización de los equinos de tiro urbano circulantes dentro de la Región Metropolitana y determinar las comunas que presentaron mayor frecuencia de sueros reaccionantes positivos a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*, se georreferenciaron las viviendas donde habitaban los ejemplares estudiados utilizando la herramienta Googlemaps Engine LITE ®.

Análisis estadístico:

Los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva para determinar la frecuencia de presentación de sueros reaccionantes positivos a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* en la población total de equinos de tiro urbano muestreados en la Región Metropolitana, detectar las comunas que presentaron mayor frecuencia de reacciones positivas y determinar los serovares más frecuentes dentro de la población estudiada. Los resultados se presentaron como tablas y figuras.

RESULTADOS

De un total de 69 muestras serológicas analizadas, 23 reaccionaron positivamente a la microMAT, lo cual corresponde a una frecuencia de presentación del 33,33%. Esto significa que el 33,33% del total de sueros obtenidos reaccionó al antígeno de uno o más serovares de *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* (Figura 1).

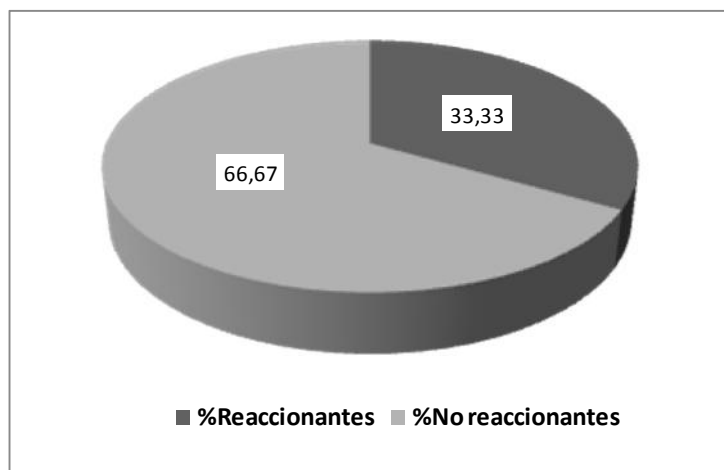


Figura 1: Distribución porcentual del total de muestras reaccionantes (gris oscuro) y no reaccionantes (gris claro) a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* a través de la microMAT (n= 69).

Mediante la utilización de Googlemaps Engine LITE ® fue posible georreferenciar a los 69 equinos de tiro urbano muestreados e identificarlos según reacción positiva o negativa a la microMAT. Para esto se confeccionó una tabla dentro de la cual cada ejemplar fue identificado con su número de ficha y se proporcionaron las coordenadas geográficas correspondientes a la ubicación de su vivienda, las comunas de la Región Metropolitana donde se localizaban y las reacciones que presentaron las muestras serológicas provenientes de cada equino frente a la microMAT (Anexo 1). El desglose de las georreferencias por comuna de la Región Metropolitana se observa a continuación (Figuras 2-6).

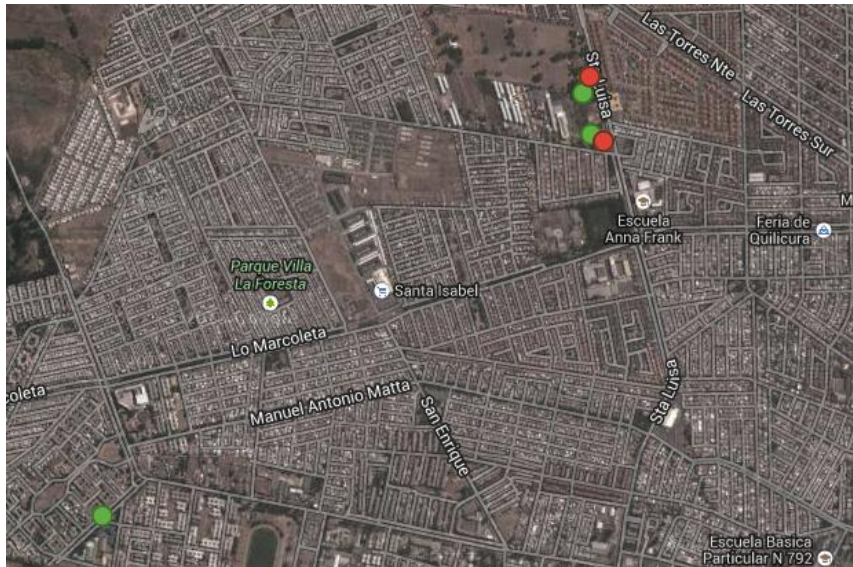


Figura 2: Georreferencia de los 17 equinos de tiro urbano muestreados en la comuna de Quilicura según reacción positiva (color rojo) o negativa (color verde) a la microMAT. Individuos de un mismo propietario quedan superpuestos.

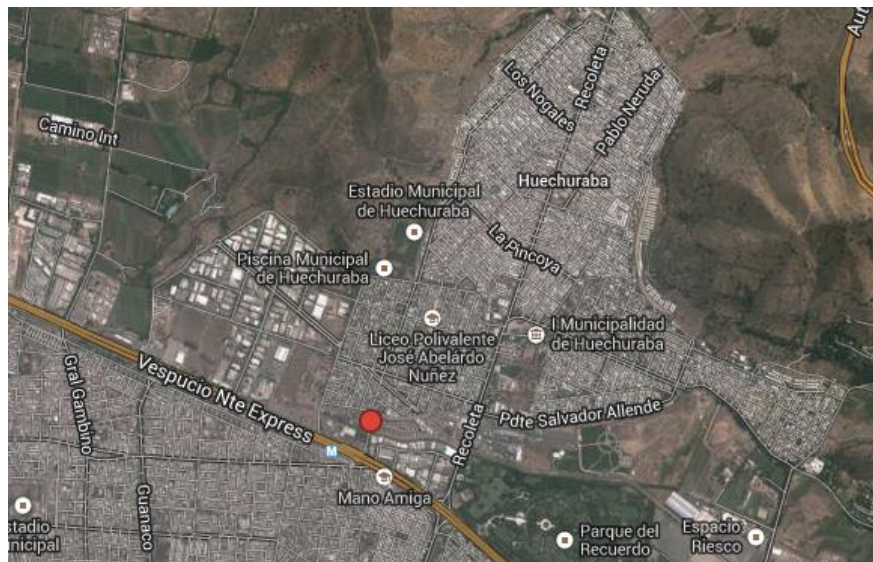


Figura 3: Georreferencia de los tres equinos de tiro urbano muestreados en la comuna de Huechuraba según reacción positiva (color rojo) o negativa (color verde) a la microMAT. Individuos de un mismo propietario quedan superpuestos.

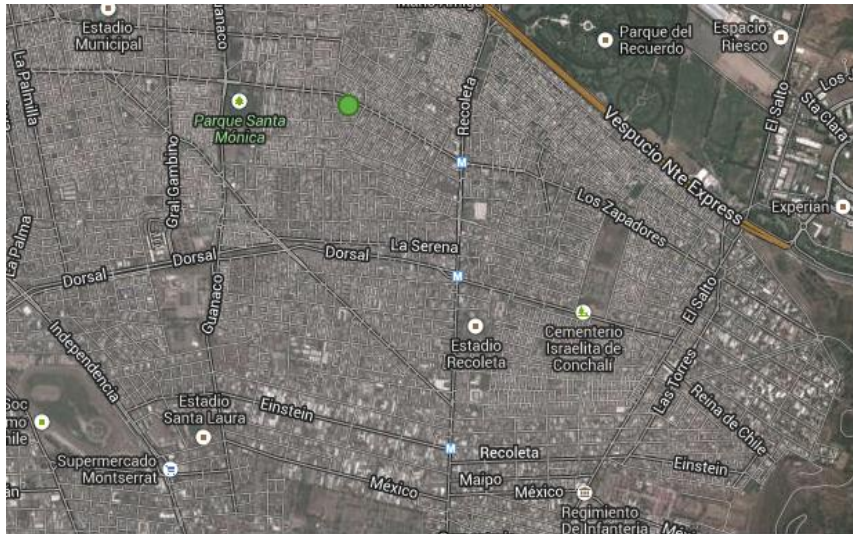


Figura 4: Georreferencia de los dos equinos de tiro urbano muestreados en la comuna de Recoleta según reacción positiva (color rojo) o negativa (color verde) a la microMAT. Individuos de un mismo propietario quedan superpuestos.



Figura 5: Georreferencia de los 25 equinos de tiro urbano muestreados en la comuna de La Pintana según reacción positiva (color rojo) o negativa (color verde) a la microMAT. Individuos de un mismo propietario quedan superpuestos.



Figura 6: Georreferencia de los 22 equinos de tiro urbano muestreados en la comuna de San Bernardo según reacción positiva (color rojo) o negativa (color verde) a la microMAT. Individuos de un mismo propietario quedan superpuestos.

Respecto a la distribución porcentual por comunas de la Región Metropolitana, la que presentó mayor frecuencia de muestras con reacción positiva a la microMAT correspondió a Huechuraba (100%) con un n=3. Este resultado fue seguido por La Pintana (40%) con un n=25, San Bernardo (31,82%) con un n=22 y Quilicura (17,65%) con un n=17. La comuna con menor frecuencia de reaccionantes fue Recoleta (0%) con un n=2 (Figura 7).

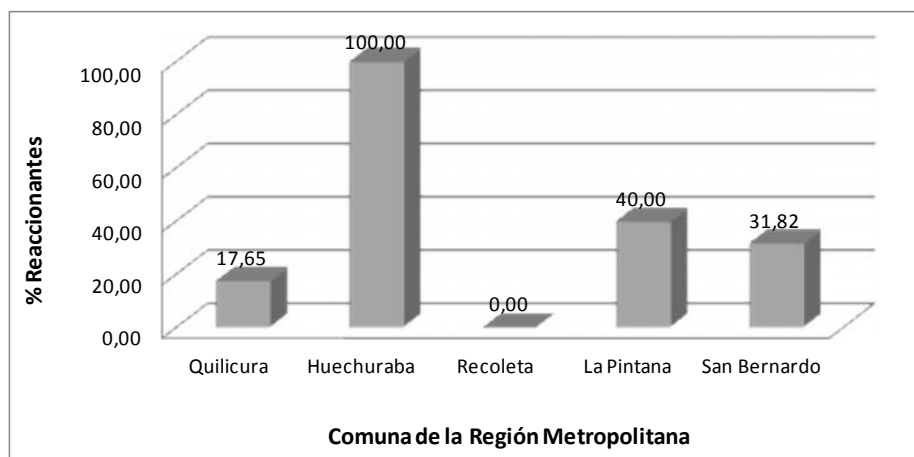


Figura 7: Distribución porcentual de muestras que presentaron reacción positiva a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* a través de la microMAT según comuna de la Región Metropolitana (n= 69).

Al realizar la distribución de frecuencias según serovares se detectó un total de 23 reacciones positivas, de las cuales tres reaccionaron positivamente frente a dos serovares distintos del género *Leptospira sp.* correspondientes a las especies *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* (Anexo 2). Por lo tanto, se consideró un n=26.

Los serovares que presentaron mayor cantidad de reaccionantes positivos correspondieron a *ballum* (38,46%) y *canicola* (26,92%), seguidos de *icterohaemorrhagiae* (11,54%), *autumnalis* (11,54%) y *pomona* (7,69%). El serovar que presentó menor frecuencia fue *hardjo* (3,85%) (Figura 8).

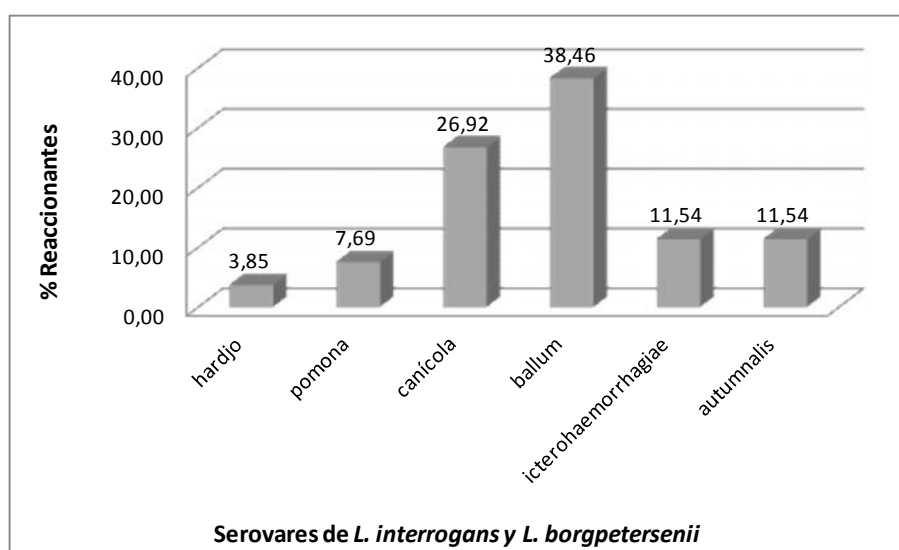


Figura 8: Distribución porcentual de muestras reaccionantes frente a distintos serovares de *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* a través de la microMAT (n= 26).

Respecto a los títulos de anticuerpos obtenidos, la mayor frecuencia correspondió al título 1:200 (30,77%), seguida de 1:100 (23,08%), 1:400 (23,08%) y 1:800 (19,23%). La menor frecuencia fue para el título 1:1600 (3,85%) (Figura 9). La mayor cantidad de reacciones a títulos altos se obtuvo para el serovar *ballum*, seguido de *canicola* e *icterohaemorrhagiae*.

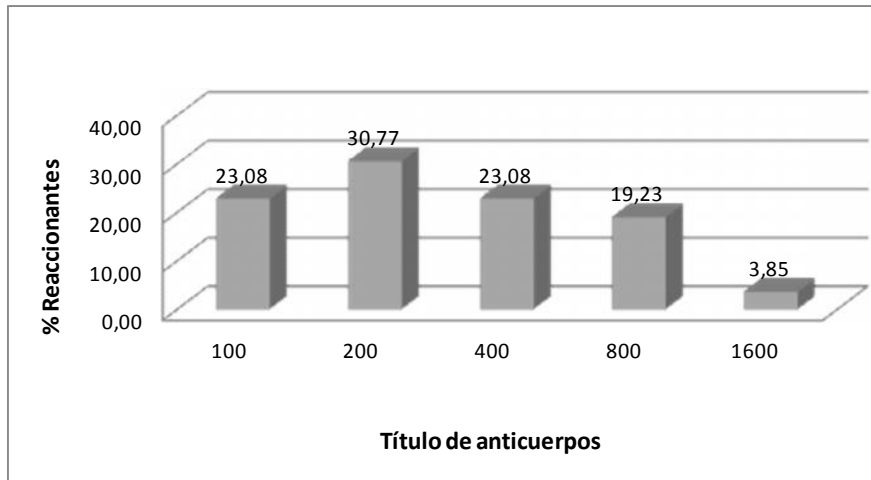


Figura 9: Distribución porcentual de frecuencias de títulos de anticuerpos obtenidos de muestras que presentaron reacción positiva a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* a través de la microMAT (n= 26).

DISCUSIÓN

El principal objetivo de este estudio fue determinar la presencia de equinos de tiro urbano positivos a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* a través de la prueba de microMAT. De acuerdo a los resultados (Figura 1) un 33,33% de los sueros reaccionó, cifra más baja que la descrita por Solís (1993), quien obtuvo un 54,4% de reaccionantes para un grupo de 57 equinos fiscales ubicados también en la Región Metropolitana. Esto podría deberse a que en el presente estudio se muestrearon ejemplares que habitaban en variadas localidades de la región, por lo que no mantenían contacto entre sí a excepción de aquellos que compartían vivienda. En cambio, en el estudio realizado por Solís (1993) se consideraron sólo dos localidades distintas con equinos sometidos a confinamiento permanente en pesebreras, es decir, que mantienen contacto entre sí, lo cual facilita la transmisión de la infección, además de estar todos sometidos a igual manejo.

Por otra parte, la leptospirosis afecta más a países de clima tropical que a países de clima templado (WHO, 2003). Esto se refleja en el caso de Brasil (Lasta *et al.*, 2013), donde en un trabajo realizado en equinos de tracción se encontró un 60% de sueros que presentaron reacción positiva (n= 125), casi el doble de este estudio realizado en Chile. Sin embargo, en los estudios realizados en Cuba con equinos de tracción tanto en la provincia de Ciego de Ávila (Suárez *et al.*, 1996) como en la ciudad de Santa Clara (Castillo *et al.*, 2007), la seropositividad resultó ser más baja que en el presente estudio (24% y 20% respectivamente), probablemente debido a que la cantidad de equinos muestreados fue considerablemente mayor en ambas investigaciones (1220 y 390 ejemplares respectivamente).

Todas las comunas estudiadas, con la excepción de Recoleta, presentaron equinos con sueros reaccionantes (Figuras 2-6). La comuna con mayor frecuencia de sueros que presentaron reacción positiva correspondió a Huechuraba (100%) (Figura 7). No obstante, tanto esta comuna como Recoleta (0%) arrojaron resultados extremos debido a que el tamaño muestral fue excepcionalmente pequeño (tres y dos equinos respectivamente) en comparación con las demás comunas. En este contexto es sumamente importante tener en consideración que las frecuencias obtenidas para La Pintana (40%), San Bernardo (31,82%)

y Quilicura (17,65%), donde se muestreó una cantidad mayor de ejemplares (25, 22 y 17 equinos respectivamente), podrían ser más representativas de dichas comunas. Por lo tanto, se recomienda continuar realizando estudios de seroprevalencia en las comunas de Huechuraba y Recoleta para determinar de manera más precisa la frecuencia de serorreacciones positivas a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*.

En la especie equina los serovares que se asocian frecuentemente con el desarrollo de la enfermedad corresponden a *hardjo*, *pomona*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae* y *sejroe* (CFSPH, 2005). De acuerdo con lo señalado en distintos estudios de seroprevalencia, los serovares que se han presentado más frecuentemente en equinos de tracción incluyen *icterohaemorrhagiae* y *pomona* en un estudio realizado en Brasil (Lasta *et al.*, 2013) y *australis*, *canicola* e *icterohaemorrhagiae* en el caso de un estudio realizado en Cuba en la ciudad de Santa Clara (Castillo *et al.*, 2007). Por otro lado, en otro estudio realizado también en equinos de tracción en Cuba en la provincia de Ciego de Ávila presentaron mayor frecuencia los serogrupos *Australis*, *Pomona* y *Pyrógenes* (Suárez *et al.*, 1996).

Dentro de los seis serovares pesquisados en esta investigación, los que presentaron mayor frecuencia correspondieron a *ballum* (38,46%) y *canicola* (26,92%) (Figura 8), ocupando el tercer lugar *icterohaemorrhagiae* (11,54%). Este resultado no concuerda con el trabajo de Solís (1993) realizado en equinos fiscales donde el serovar *icterohaemorrhagiae* resultó predominante dentro de la región e incluso a nivel nacional (69,0%). No obstante, la alta frecuencia que presentó el serovar *canicola* seguido del serovar *icterohaemorrhagiae*, en menor medida, mantiene concordancia con los trabajos de Castillo *et al.* (2007) y Lasta *et al.* (2013) donde se analizaron equinos de tracción.

Respecto a la predominancia del serovar *ballum*, es interesante tener en cuenta que tanto *canicola* como *ballum* e *icterohaemorrhagiae* son serovares que se encuentran habitualmente en especies que actúan como reservorio del género *Leptospira sp.*, siendo sus hospederos habituales caninos; ratas y ratones; y ratas respectivamente (CFSPH, 2005). Esto concuerda con las condiciones de tenencia de los equinos que fueron analizados, los cuales según se pudo observar generalmente mantienen contacto con otras especies domésticas, principalmente caninos, en el patio de las viviendas. Además, al vivir en

sectores peri-urbanos, estarían expuestos a los mismos factores de riesgo descritos para humanos en el trabajo de Perret *et al.* (2005), estos incluyen la posibilidad de tener contacto con roedores. En el mismo estudio se describió la especie a la cual pertenecían los roedores observados en dichos sectores, que correspondieron a *Mus musculus*, *Abrothrix olivaceus*, *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*, es decir, se encuentran presentes tanto ratas como ratones. Todo lo anterior sugiere que las fuentes de infección para los equinos analizados en este estudio podrían ser caninos y roedores.

Al interpretar los resultados entregados por la microMAT, es importante aclarar que las muestras serológicas que presentan reacción positiva a la prueba con títulos inferiores o iguales a 1:100 pueden corresponder a animales vacunados (Hanson, 1972) o que han cursado con infecciones pasadas (Zamora *et al.*, 1975). La reacción cruzada a vacunación es válida en países como Estados Unidos, donde es habitual el uso de vacunas *off-label* elaboradas para bovinos con el objetivo de inmunizar a la especie equina contra leptospirosis. Sin embargo, en Chile no se vacuna a los equinos contra esta enfermedad (Apablaza, 1989; Ulloa, 1991; González, 1994; Martínez, 2003), por lo cual estos títulos podrían atribuirse a infección crónica.

Por otra parte, las muestras serológicas que reaccionaron positivamente a la microMAT con títulos de anticuerpos altos, es decir, iguales o superiores a 1:400 podrían estar cursando con la infección reciente (Zamora *et al.*, 1975; Zamora y Riedemann, 1986; Solís, 1993). En el presente trabajo, el mayor título de anticuerpos obtenido fue de 1:1600 para el serovar *canicola* y correspondió a un ejemplar que habitaba en la comuna de La Pintana. Por otra parte, los serovares que presentaron la mayor cantidad de reacciones a títulos altos fueron *ballum*, *canicola* e *icterohaemorrhagiae* en orden decreciente. Debido a que estos serovares fueron también los que presentaron mayor frecuencia de presentación en este estudio (Figura 8), se recomienda realizar investigaciones posteriores con el objetivo de determinar la importancia que puedan tener para el diagnóstico de la enfermedad en equinos de tiro urbano que manifiesten signos clínicos de leptospirosis, así como también se recomienda pesquisar los mismos serovares en la población humana que mantiene contacto con dichos equinos con el objetivo de estimar el rol que juegan en la transmisión de la zoonosis.

Cabe señalar que respecto a la especie equina no existe un consenso para la interpretación de los títulos de anticuerpos que presentan las muestras reaccionantes, razón por la cual algunos trabajos interpretan títulos de 1:3.200 a 1:50.000 acompañados de signos clínicos como leptospirosis aguda, entre 1:1.100 y 1:1.600 como presentación subclínica o enfermedad en período de regresión e inferiores a 1:400 como negativos; mientras otros autores consideran títulos de 1:40 como anticuerpos residuales producto de infección temprana (Wegmann, 1983). Además, algunos estudios realizados en otras especies animales que son regularmente vacunadas han interpretado títulos menores a 1:100 como anticuerpos post vaccinales y mayores o iguales a 1:100 como infección natural (Stringfellow *et al.*, 1983); mientras otros estudios afirman que títulos mayores a 1:100 pueden atribuirse a infección sólo cuando han transcurrido seis a doce meses después de la vacunación (Hanson, 1972).

Por otro lado, es importante recalcar que ninguno de los equinos incluidos en este estudio presentó signos clínicos al momento de la toma de muestra, por lo cual es posible concluir que las muestras que reaccionaron a la microMAT corresponderían a manifestaciones subclínicas de la enfermedad, ya sea por exposición crónica al agente (Houwers *et al.*, 2011), o bien, debido al carácter subclínico del estado agudo de la enfermedad que puede pasar inadvertida si no se realizan exámenes de laboratorio (Swan *et al.*, 1981).

En conclusión, los resultados obtenidos en este estudio confirman que los equinos de tiro urbano analizados están expuestos a la infección por *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*. Teniendo en cuenta las condiciones de vida y manejo de estos equinos, así como los serovares detectados, es muy probable que tanto caninos como roedores constituyan importantes fuentes de transmisión. Por otra parte, las reacciones positivas a la microMAT demuestran contacto con el agente patógeno y no respuestas cruzadas frente a la vacuna, debido a que no existe una vacuna desarrollada para equinos y no es práctica vacunar a esta especie en el país.

BIBLIOGRAFÍA

- **ALI, H.; SAEID, S.** 2012. Seroprevalence of leptospiral infection in horses, donkeys and mules in East Azerbaijan province. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6(20): 4384-4387.
- **APABLAZA, L.** 1989. Prevalencia de leptospirosis en los equinos mestizos de silla de un regimiento de caballería de la provincia de concepción. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. Universidad de Concepción. Facultad de Medicina Veterinaria. 50p.
- **BAVERUD, V.; GUNNARSSON, A.; ENGVALL, E.; FRANZEN, P.; EGENVALL, A.** 2009. Leptospira seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Vet. Scand.* 51: 15.
- **BURN, C.; DENNISON, T.; WHAY, H.** 2010. Environmental and demographic risk factors for poor welfare in working horses, donkeys and mules in developing countries. *Vet. J.* 186(3): 385-392.
- **BURRIEL, A.** 2010. Leptospirosis: an important zoonotic disease. [en línea] vol 1. 687-693. **In:** Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Microbiology series. N° 2. <<http://www.formatex.info/microbiology2/687-693.pdf>> [consulta: 05-01-2013]
- **CASTILLO, J.; CEPERO, O.; SILVEIRA, E.; CASANOVA, R.; GONZÁLEZ, Y.; GUTIÉRREZ, I.** 2007. Prevalencia de leptospirosis en equinos de tracción en la ciudad de Santa Clara, Cuba. *REDVET* 8(7): 1-4.
- **CÉSPEDES, M.** 2005. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública* 22(4): 290-307.
- **CFSPH (THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH).** 2005. Leptospirosis. [en línea] <<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/leptospirosis.pdf>> [consulta: 05-01-2013]
- **COLE, J.; SULZER, C.; PURSELL, A.** 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl. Microbiol.* 25(6): 976-980.
- **DIVERS, T.; BYARS, T.; SHIN, S.** 1992. Renal dysfunction associated with infection of *Leptospira interrogans* in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201(9): 1391-1392.

- **GARCÍA-GONZÁLEZ, R.; REYES-TORRES, A.; BASILIO-HERNÁNDEZ, D.; RAMÍREZ-PÉREZ, M.; RIVAS-SÁNCHEZ, B.** 2013. Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev. Latinoamer. Patol. Clin.* 60(1): 57-70.
- **GONZÁLEZ, J.** 1994. Leptospirosis en equinos: relación del hemograma y nitrógeno ureico con títulos de aglutininas en equinos mestizos de tiro de un predio de la comuna de Parral. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. Universidad de Concepción. Facultad de Medicina Veterinaria. 55p.
- **HANSON, L.** 1972. Problems related to epizootiology of swine leptospirosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 160(4): 631-634.
- **HATHAWAY, S.; LITTLE, T.; FINCH, S.; STEVENS, A.** 1981. Leptospirosis infection in horses in England: a serological study. *Vet. Rec.* 108: 396-398.
- **HOUWERS, D.; GORIS, M.; ABDOEL, T.; KAS, J.; KNOBBE, S.; VAN DONGEN, A.; WESTERDUIN, F.; KLEIN, W.; HARTSKEERL, R.** 2011. Agglutinating antibodies against pathogenic *Leptospira* in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. *Vet. Microbiol.* 148(2): 449-451.
- **INE (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS).** 2007. Cuadro 12: Existencia de ganado en las explotaciones agropecuarias y forestales por especie, según región, provincia y comuna. [en línea] **In:** Censo Agropecuario y Forestal. Resultados por comuna. <http://www.ine.cl/canales/chile_estadistico/censos_agropecuarios/censo_agropecuario_07_comunas.php> [consulta: 05-01-2013]
- **JOHNSON, M.; SMITH, H.; JOSEPH, P.; GILMAN, R.; BAUTISTA, C.; CAMPOS, K.; CESPEDES, M.; KLATSKY, P.; VIDAL, C.; TERRY, H.; CALDERON, M.; CORAL, C.; CABRERA, L.; PARMAR, P.; VINETZ, J.** 2004. Environmental exposure and leptospirosis, Peru. *Emerging Infect. Dis.* 10(6): 1016-1022.
- **LASTA, C.; OLIVEIRA, S.; MERINI, L.; DASSO, M.; PEDRALLI, V.; GONZÁLEZ, F.** 2013. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em soros de equinos de tração em Porto Alegre, Brasil. *Rev. Bras. Ci. Vet.* 20(1): 23-25.
- **LEVETT, P.** 2001. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14(2): 296-326.
- **MARTÍNEZ, M.** 2003. Estado de la Leptospirosis en equinos pertenecientes a la asociación de clubes de huasos de la comuna de Retiro, provincia de Linares, VII región. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. Universidad de Concepción. Facultad de Medicina Veterinaria. 52p.

- **MINSAL (MINISTERIO DE SALUD DE CHILE). DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGÍA.** 2011. Informe Situación Epidemiológica Leptospirosis. [en línea] <http://epi.minsal.cl/epi/html/AtlasInteractivos/AtlasZoonosis/Atlas_Zoo_17/Lepto.htm> [consulta: 05-01-2013]
- **OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL).** 2008. Leptospirosis. [en línea] cap. 2.1.9. **In:** Manual de la OIE sobre animales terrestres.<http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.01.09.%20Leptospirosis.pdf> [consulta: 05-01-2013]
- **PERRET, C.; ABARCA, K.; DABANCH, J.; SOLARI, V.; GARCÍA, P.; CARRASCO, S.; OLIVARES, R.; ÁVALOS, P.** 2005. Prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la Región Metropolitana. Rev. Med. Chil. 133(4): 426-431.
- **POONACHA, K.; DONAHUE, J.; GILES, R.; HONG, C.; PETRITES-MURPHY, M.; SMITH, B.; SWERCZEK, T.; TRAMONTIN, R.; TUTTLE, P.** 1993. Leptospirosis in equine fetuses, stillborn foals, and placentas. Vet. Pathol. 30(4): 362-369.
- **SAG (SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO). MINISTERIO DE AGRICULTURA.** 2011. Situación sanitaria equina en Chile. [en línea] <<http://historico.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRJAS2Wp3v88hP0v4Wi38ZqtX9bQUzcfVXY%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivoId=40132>> [consulta: 05-01-2013]
- **SOLÍS, S.** 1993. Leptospirosis: determinación de prevalencia en equinos. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. 22p.
- **SUÁREZ, M.; JOHNSON, D.; SÁNCHEZ, A.; GORGOY, V.; ALFARO, I.; VEGA, L.** 1996. Leptospira y brucella en equinos y humanos vinculados a vehículos de tracción animal. An. Vet. (Murcia) (11): 29-35.
- **STRINGFELLOW, D.; BROWN, R.; HANSON, L.; SCHNURRENBERGER, P.; JOHNSON, J.** 1983. Can antibody responses in cattle vaccinated with a multivalent leptospiral bacterin interfere with serologic diagnosis of disease? J. Am. Vet. Med. Assoc. 182(2): 165-167.
- **SWAN, R.; WILLIAMS, E.; TAYLOR, E.** 1981. Clinical and serological observations on horses with suspected leptospirosis. Aust. Vet. J. 57(11): 528-529.

- **TADICH, T.; ESCOBAR, A.; PEARSON, R.** 2008. Husbandry and welfare aspects of urban draught horses in the south of Chile. Arch. Med. Vet. 40: 267-273.
- **ULLOA, J.** 1991. Prevalencia de leptospirosis en yeguas mestizas de un criadero militar de la comuna de Victoria. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. Universidad de Concepción. Facultad de Medicina Veterinaria. 42p.
- **VEMULAPALLI, R.; LANGOHR I.; SANCHEZ, A.; KIUPEL, M.; BOLIN, C.; WU, C.; LIN, T.** 2005. Molecular detection of *Leptospira kirschneri* in tissues of a prematurely born foal. J. Vet. Diagn. Invest. 17(1): 67-71.
- **VERMA, A.; ARTIUSHIN, S.; MATSUNAGA, J.; HAAKE, D.; TIMONEY, J.** 2005. LruA and LruB, novel lipoproteins of pathogenic *Leptospira interrogans* associated with equine recurrent uveitis. Infect. Immun. 73(11): 7259-7266.
- **WEGMANN, E.** 1983. Leptospirosis en caballos. Arch. Med. Vet. 15(2): 59-64.
- **WHO. (WORLD HEALTH ORGANIZATION).** 2003. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control. [en línea] <http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf> [consulta: 05-01-2013]
- **ZAMORA, J.; KRUZE, J.; RIEDEMANN, S.** 1975. Leptospirosis de los animales domésticos en el sur de Chile. Estudio serológico. Zentralblatt Veterinarmedizin Reihe B. 22(7): 544-555.
- **ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.** 1976. Leptospiras y leptospirosis. Arch. Med. Vet. 8(1): 49-54.
- **ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.** 1986. Consideraciones para la interpretación de la prueba de aglutinación microscópica en el diagnóstico de leptospirosis bovina. Arch. Med. Vet. 18(2): 145-150.
- **ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.; MONTECINOS, M.; CABEZAS, X.** 1990. Encuesta serológica de leptospirosis humana en ocupaciones de alto riesgo en Chile. Rev. Med. Chil. 118(3): 247-252.
- **ZUNINO, E.; PIZARRO, R.** 2007. Leptospirosis. Puesta al día. Rev. Chilena Infectol. 24(3): 220-226.

ANEXOS

Anexo 1: Detalle de los datos ingresados a Google maps Engine LITE ® para realizar la georreferencia de los ejemplares según reacción positiva o negativa a la microMAT.

IDENTIFICACIÓN	COORDENADAS X (Longitud)	COORDENADAS Y (Latitud)	COMUNA	REACCIÓN A LA microMAT
D1C1	-70.659986	-33.593625	LA PINTANA	POSITIVO
D1C2	-70.659986	-33.593625	LA PINTANA	NEGATIVO
D2C1	-70.666273	-33.593946	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D3C1	-70.666106	-33.593631	SAN BERNARDO	POSITIVO
D3C2	-70.666106	-33.593631	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D3C3	-70.666106	-33.593631	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D3C4	-70.666106	-33.593631	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D3C5	-70.666106	-33.593631	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D3C6	-70.666106	-33.593631	SAN BERNARDO	POSITIVO
D4C1	-70.666581	-33.593318	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D5C1	-70.666466	-33.593629	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D5C2	-70.666466	-33.593629	SAN BERNARDO	POSITIVO
D5C4	-70.666466	-33.593629	SAN BERNARDO	POSITIVO
D5C5	-70.666466	-33.593629	SAN BERNARDO	POSITIVO
D6C1	-70.660125	-33.594684	LA PINTANA	NEGATIVO
D6C2	-70.660125	-33.594684	LA PINTANA	POSITIVO
D7C1	-70.66465	-33.592626	LA PINTANA	NEGATIVO
D7C2	-70.66465	-33.592626	LA PINTANA	NEGATIVO
D7C3	-70.66465	-33.592626	LA PINTANA	NEGATIVO
D7C4	-70.66465	-33.592626	LA PINTANA	POSITIVO
D8C1	-70.646151	-33.588599	LA PINTANA	POSITIVO
D9C1	-70.66649794578552	-33.59393730919521	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D9C2	-70.66649794578552	-33.59393730919521	SANBERNARDO	NEGATIVO
D10C1	-70.666745	-33.593857	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D10C2	-70.666745	-33.593857	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D11C1	-70.66407859325409	-33.59519293501685	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D11C2	-70.66407859325409	-33.59519293501685	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D12C1	-70.6662780046463	-33.59370048092375	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D13C1	-70.65512	-33.593519	LA PINTANA	POSITIVO
D13C2	-70.65512	-33.593519	LA PINTANA	NEGATIVO
D14C1	-70.66373	-33.592351	LA PINTANA	POSITIVO
D14C2	-70.66373	-33.592351	LA PINTANA	NEGATIVO
D15C1	-33.593519,-70.65512	-33.593519	LA PINTANA	NEGATIVO
D15C2	-70.65512	-33.593519	LA PINTANA	NEGATIVO

D16C1	-70.653477	-33.59367	LA PINTANA	NEGATIVO
D17C1	-70.663775	-33.592712	LA PINTANA	NEGATIVO
D17C2	-70.663775	-33.592712	LA PINTANA	POSITIVO
D18C1	-70.73836	-33.355481	QUILICURA	POSITIVO
D18C2	-70.73836	-33.355481	QUILICURA	NEGATIVO
D18C3	-70.73836	-33.355481	QUILICURA	NEGATIVO
D18C4	-70.73836	-33.355481	QUILICURA	NEGATIVO
D18C5	-70.73836	-33.355481	QUILICURA	POSITIVO
D18C6	-70.73836	-33.355481	QUILICURA	NEGATIVO
D18C7	-70.73836	-33.355481	QUILICURA	NEGATIVO
D19C1	-70.738778	-33.353783	QUILICURA	NEGATIVO
D19C2	-70.738778	-33.353783	QUILICURA	POSITIVO
D19C3	-70.738778	-33.353783	QUILICURA	NEGATIVO
D21C1	-70.738778	-33.353783	QUILICURA	NEGATIVO
D21C2	-70.738778	-33.353783	QUILICURA	NEGATIVO
D22C1	-70.75396478176117	-33.36526617276757	QUILICURA	NEGATIVO
D23C1	-70.738998	-33.35424	QUILICURA	NEGATIVO
D23C2	-70.738998	-33.35424	QUILICURA	NEGATIVO
D24C2	-70.644597	-33.378914	HUECHURABA	POSITIVO
D24C3	-70.644597	-33.378914	HUECHURABA	POSITIVO
D24C4	-70.644597	-33.378914	HUECHURABA	POSITIVO
D25C1	-70.649507	-33.387925	RECOLETA	NEGATIVO
D25C2	-70.649507	-33.387925	RECOLETA	NEGATIVO
D26C1	-70.609598	-33.594136	LA PINTANA	POSITIVO
D26C2	-70.609598	-33.594136	LA PINTANA	NEGATIVO
D27C1	-70.618608	-33.560538	LA PINTANA	NEGATIVO
D27C2	-70.618608	-33.560538	LA PINTANA	NEGATIVO
D28C1	-70.6666374206543	-33.593503868279875	SAN BERNARDO	POSITIVO
D28C2	-70.6666374206543	-33.593503868279875	SAN BERNARDO	NEGATIVO
D28C3	-70.6666374206543	-33.593503868279875	SAN BERNARDO	POSITIVO
D29C1	-70.66376209259033	-33.592744224308795	LA PINTANA	POSITIVO
D30C1	-70.62900066375732	-33.58970558152763	LA PINTANA	POSITIVO
D31C1	-70.73875665664673	-33.35528357584568	QUILICURA	NEGATIVO
D31C2	-70.73875665664673	-33.35528357584568	QUILICURA	NEGATIVO

Anexo 2: Distribución de muestras reaccionantes y no reaccionantes (negativos) según comuna de la Región Metropolitana y serovar de *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* al cual reaccionaron.

COMUNA	LA PINTANA	SAN BERNARDO	QUILICURA	HUECHURABA	RECOLETA	TOTAL	% SEROVAR
MUESTRAS	25	22	17	3	2	69	
NEGATIVOS	15	15	14	0	2	46	
REACCIONANTES*	10	7	3	3	0	23	
<i>hardjo</i>	1	0	0	0	0	1	3,85
<i>pomona</i>	1	1	0	0	0	2	7,69
<i>canicola</i>	3	0	3	1	0	7	26,92
<i>ballum</i>	3	5	0	2	0	10	38,46
<i>icterohaemorrhagiae</i>	2	1	0	0	0	3	11,54
<i>autumnalis</i>	1	2	0	0	0	3	11,54
% TOTAL REACCIONANTES	40,00	31,82	17,65	100,00	0,00	33,33	

*Tres muestras presentaron reacción positiva a la microMAT frente a dos serovares distintos del género *Leptospira sp.*, pertenecientes a las especies *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*. Una muestra reaccionó frente a *ballum* y *canicola*, otra frente a *ballum* y *autumnalis*, y la última frente a *ballum* e *icterohaemorrhagiae*.