



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

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.

DANIELA ALEJANDRA GONZÁLEZ HEISE

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

PROFESOR GUÍA: TAMARA ALEJANDRA TADICH GALLO
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile
Financiamiento: U – Inicia 121017019102049
SANTIAGO, CHILE

2016



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

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.

DANIELA ALEJANDRA GONZÁLEZ HEISE

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

NOTA FINAL:

Firma

Profesor Guía	Tamara Tadich G.
Profesor Corrector	Mario Acuña B.
Profesor Corrector	Patricio Retamal M.

Financiamiento: U – Inicia 121017019102049

SANTIAGO, CHILE

2016

AGRADECIMIENTOS

Terminada esta “larga” etapa, uno mira hacia atrás y se da cuenta que fueron muchos los que estuvieron al lado dándote esa motivación constante, es a ellos a quien quiero dedicarle las siguientes palabras.

Quiero agradecer a mi tío Dr. Ricardo Kraushaar, quien gracias a su conocimiento, buenos consejos y la mejor de las disposiciones, facilitó el proceso para llevar a cabo este estudio.

A la Dra. Tamara Tadich que me orientó y entregó todas las herramientas necesarias, además de una gran paciencia para guiarme durante este proceso y enseñarme a ser una mejor profesional.

Hubo profesores claves como la Dra. Ana María Ramírez quien siempre me recibió con una sonrisa y tiempo para cada duda sobre los procedimientos del laboratorio. Al Dr. José Manuel Ibáñez, quien hizo posible el análisis estadístico teniendo una paciencia infinita con alguien que recordaba poco y nada de números y al Dr. Mario Acuña por su apoyo y motivación desde un principio.

A mis amigos, Pamela Guerra, Alejandra Guerrero, Alejandra Marambio, Ignacio Ceppi y Constanza Guzmán, gracias por esas palabras de aliento en los momentos de debilidad, esas distracciones varias completamente necesarias y sobre todo por hacerme una mejor persona. A Camila Cabezón, por decir lo preciso en el momento necesario, acompañarme en todo este proceso y celebrar como corresponde cada etapa lograda. A Andrea Gattini, mi amiga de la vida que me quiere y acepta tal como soy. Y a aquel que supo lidiar con mis momentos de estrés o frustración, dandome un apoyo incondicional, creyendo más en mí de lo que yo creía, gracias Miguel Ostornol, por escucharme, aconsejarme y acompañarme en este camino.

Y por último, quiero agradecer a mi familia, especialmente a mis padres, quienes me alentaron día a día con sabias palabras y fueron los principales motores de este logro gracias a su esfuerzo, hoy en día me puedo llamar Médico Veterinario.

RESUMEN

Leptospirosis es una enfermedad reemergente y zoonótica diseminada a nivel mundial. Ha sido poco estudiada en equinos, especie en que su presentación generalmente es subclínica. El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia a *Leptospira spp.* en una población de equinos de un centro ecuestre militar de la Región de Valparaíso. Para esto se analizó una población de 259 ejemplares, compuesta por hembras y machos de distintas edades y funciones. Las muestras de suero sanguíneo fueron sometidas a la prueba de microaglutinación en placa (micro-MAT) presentada a seis serovares del género *Leptospira spp.* La frecuencia de presentación de sueros positivos a uno o más serovares de *Leptospira spp.* con títulos mayores o iguales a 1:100 fue de un 23,55%. Los serovares más frecuentes correspondieron a Autumnalis (45,9%), Ballum (39,34%) y Canicola (14,75%). Los sueros no reaccionaron a los serovares Hardjo, Pomona e Icterohaemorrhagiae. Se obtuvieron títulos de 1:100 hasta 1:1600. Estos resultados confirman que los equinos del centro ecuestre militar están expuestos a leptospirosis. El sexo y la edad de los ejemplares no mostraron tener una relación significativa con la seropositividad a *Leptospira spp.* La función de formación tiene una relación significativa con la seropositividad, mostrando 2,94 veces menos probabilidades de contraer la infección. Eventos competitivos fuera del centro ecuestre, una alta tasa de reposición anual y una redistribución periódica de pesebreras, podrían estar relacionados con la mayor probabilidad de exposición de los equinos de deporte.

Palabras clave: Equinos, seropositividad, *Leptospira spp.*, micro-MAT, Valparaíso.

ABSTRACT

Leptospirosis is a re-emerging and zoonotic disease disseminated worldwide. It has not been studied in detail in equines, species that generally presents the subclinical form of the disease. The objective of this study was to determine the seroprevalence of *Leptospira spp.* in a population of horses from a military equestrian center of Valparaíso region. A population of 259 individuals was assessed, consisting of males and females of various ages and functions. The serum samples were subjected to microscopic agglutination test (micro-MAT) towards to six serovars of *Leptospira spp.* The frequency of positive serums to one or more serovars of *Leptospira spp.*, with titles equal or over 1: 100 was a 23.55%. The most frequent serovares present were Autumnalis (45.9%), Ballum (39.34%) and Canicola (14.75%). Serums did not react to Hardjo, Pomona and Icterohaemorrhagiae. Titers obtained varied from 1: 100 to 1: 1600. These results confirm that the military equestrian center horses are exposed to leptospirosis. Sex and age of the specimens did not have a significant relationship with seropositivity to *Leptospira spp.* The training function (protocole mounted ceremony horses) resulted as a protection factor, being 2.94 times less likely to contract the infection. Competitive events outside the equestrian center, a high rate of annual replacement and periodic redistribution of stables, could be related with the higher risk of sport horses for contracting leptospirosis.

Key words: Equine, seropositive, *Leptospira spp.*, micro-MAT, Valparaiso.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día estamos enfrentados a enfermedades que aparentemente habían sido erradicadas o su incidencia disminuida, las cuales son llamadas reemergentes siendo leptospirosis una de ellas (Suárez y Berdasquera, 2000). Esta enfermedad presenta una distribución mundial, en zonas rurales como urbanas. Según los datos de la Asociación Panamericana de la Salud, América es la región que presenta más alertas de esta enfermedad (Asociación de Médicos de Sanidad Exterior [AMSE], 2012).

La leptospirosis es una de las zoonosis más diseminada del mundo (AMSE, 2012), afectando a 160 especies de mamíferos; perros, ovejas, cabras, equinos, cerdos, camélidos sudamericanos y cérvidos son algunos de ellos, siendo raro ver la infección en gatos (Center for Food Security and Public Health [CFSPH], 2005; Zunino y Pizarro, 2007). Estos animales excretan la bacteria a través de la orina contaminando el ambiente, y de ese modo exponiendo al ser humano y otros animales a contraer dicha enfermedad (Dabanch, 2003).

La infección es causada por *Leptospira spp.*, una espiroqueta helicoidal flexible de 0,1 μm de diámetro y de 6 a 20-24 μm de largo, ganchos extremos distintivos y dos flagelos periplasmáticos responsables de su movilidad (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; Ministerio de Salud de Chile [MINSAL], 2012). Su principal antígeno son los lipopolisacáridos (LPS), siendo estructural e inmunológicamente similares a los LPS de las bacterias Gram negativas (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010). Las *Leptospiras spp.* son bacterias aeróbicas estrictas (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010), capaces de sobrevivir en agua dulce con poco movimiento (CFSPH, 2005; García-González *et al.*, 2013). No toleran la exposición directa a los rayos de sol y pH extremos hacen que pierda su motilidad. Su pH óptimo para multiplicarse es de 7,2 a 7,4 (Alfaro *et al.*, 2004; García-González *et al.*, 2013), por lo tanto, animales que producen orina alcalina, debido a una dieta herbívora como sucede en equinos, son mejores reservorios (Ramírez, 2005; Adler y De la Pena Moctezuma, 2010). Además son sensibles a la acción de antibióticos, antisépticos y desinfectantes de uso común (Carrada, 2005; CFSPH, 2005).

Pertenecen al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*. Su clasificación fenotípica, comprende dos especies: *Leptospira biflexa*, no patógena, de vida libre, saprófita que se encuentra en ambientes húmedos y aguas superficiales, y *Leptospira interrogans*, a la que pertenecen las leptospiras patógenas causantes de la leptospirosis (García-González *et al.*, 2013). Actualmente, se han clasificado genéticamente en nueve especies patógenas, cinco especies intermedias u oportunistas y seis especies saprófitas (Siuce, 2013). Sin embargo, es la clasificación serológica la con mayor utilidad diagnóstica, donde *L. interrogans* incluye alrededor de 23 serogrupos y 218 serovares y *L. biflexa*, 28 serogrupos y 60 serovares (Zunino y Pizarro, 2007; Siuce, 2013).

Animales susceptibles pueden adquirir la infección de forma indirecta mediante el contacto con agua o suelo contaminados por orina infectada, o directa, asociada a la exposición de orina, tejidos o fluidos de animales contaminados (Baverud *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2012), conocidos como reservorios. Estos animales, mantienen una relación de comensales con las bacterias y no sufren o sufren levemente la enfermedad. Los hospederos son aquellos animales que mantienen a esta bacteria viable y con capacidad de multiplicarse en sus riñones. Los hospedadores naturales, pueden excretarla de forma intermitentemente y prolongada por la orina, manifestando serología negativa, en cambio, los hospedadores accidentales tienen una leptospiúria más corta, pero se pueden enfermar de forma aguda, como sucede con el ser humano (Céspedes, 2005, CFSPH, 2005). Parte de estos reservorios en sectores rurales lo constituyen los bovinos, porcinos, equinos y roedores silvestres, y en zonas urbanas, principalmente por roedores, perros (Céspedes, 2005; Perret *et al.*, 2005) y equinos en el caso de los carretoneros, o de servicio policial (Tadich, *et al.*, en prensa)

Abrasiones, cortes en la piel, vía conjuntival e incluso inmersión prolongada en el agua, son la puerta de entrada de la leptospira (Céspedes, 2005). Raramente la infección puede darse por mordeduras de animales, transmisión sexual o transplacentaria (Céspedes, 2005; Zunino y Pizarro, 2007). Una vez en el interior, la bacteria puede inducir una amplia variedad de síntomas y signos en órganos, como en el hígado, riñón, cerebro y músculos (Céspedes, 2005; Martínez *et al.*, 2012). Su lesión primaria es provocada por la acción de

las toxinas de las leptospiras, produciendo una isquemia localizada en el endotelio de pequeños vasos sanguíneos de los órganos anteriormente mencionados (Adler y De la Pena Moctezuma., 2010).

La leptospirosis puede ser asintomática, aguda de forma leve, aguda de forma severa o crónica (CFSPH, 2005). En la mayoría de los equinos la presentación de leptospirosis es subclínica, pero cuando hay presencia de hipertermia, languidez y anorexia estamos frente a un cuadro clínico leve (Verma *et al.*, 2013). También se ha descrito que la fatiga y hemorragia pulmonar después del ejercicio son características de leptospirosis equina (Ellis, 2015). En las formas severas de la enfermedad se incluye ictericia, anemia, petequias en mucosas y depresión general. Fallas renales también pueden ocurrir, especialmente en potrillos (Verma *et al.*, 2013) así como disfunción hepática (Baverud *et al.*, 2009). En yeguas esta infección puede afectar la gestación, ya que las leptospiras pueden cruzar la placenta, provocando placentitis, muerte fetal y abortos (Verma *et al.*, 2013). Cuando esta infección se hace crónica, podemos encontrarnos con la presencia de uveítis recurrente, también conocida como panoftalmia o *moon blindness* (Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; Verma *et al.*, 2013). Esta condición puede ocurrir semanas, meses o años después de la infección, usualmente subclínica y es considerada como una enfermedad inmuno-mediada (CFSPH, 2005; Verma *et al.*, 2013).

Existe un amplio rango de leptospiras infectantes susceptibles en equinos, aunque *L. interrogans* y *L. borgpetersenii* son responsables de la mayoría de estas (Verma *et al.*, 2013). Las leptospiras de serovares Bratislava, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Autumnalis, Sejroe, Canicola y Ballum son algunos de los serogrupos responsables de la mayoría de los casos de leptospirosis de equinos (Barverud *et al.*, 2009; Dwyer, 2015; Ellis, 2015).

Al ser diversas sus manifestaciones clínicas, su diagnóstico debe ser analizado en conjunto con el cuadro clínico y los antecedentes epidemiológicos de exposición (Perret *et al.*, 2005). Su diagnóstico se debe confirmar mediante pruebas de laboratorio con métodos directos o indirectos (Céspedes, 2005). Los métodos directos, como la Inmunofluorescencia o Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), entre otros, detectan el agente causal en tejidos y fluidos corporales (Burriel, 2010), en cambio los métodos indirectos se basan en la

detección de anticuerpos específicos en suero, como lo hace ELISA, Hemoaglutinación Indirecta (HAI) y el Test de Aglutinación Microscópica (MAT) (Burriel, 2010). Este último es considerado el método serológico definitivo por su alta especificidad y porque diagnostica el serovar infectante. El MAT determina anticuerpos totales (IgM e IgG), mediante aglutinación con antígenos de distintos serovares de *Leptospira spp.* Es una técnica compleja y requiere de personal entrenado para su interpretación. Su sensibilidad es variable, dependiendo del número de serovares incluidos en el panel (Perret *et al.*, 2005), los falsos negativos se pueden dar cuando el serogrupo no está incluido dentro de este panel (CFSPH, 2005). Es importante considerar que la MAT puede verse influenciada por anticuerpos vaccinales (Burriel, 2010).

Hoy en día, existe una prueba serológica muy similar a la prueba de aglutinación microscópica (MAT), denominada prueba de microaglutinación en placa (microMAT). Esta prueba utiliza un menor volumen de antígeno, microplacas de poliestireno con pocillos de fondo plano y micropipetas de precisión, permitiendo la obtención de diluciones más rápidas y precisas (Cole *et al.*, 1973). De esta manera disminuye el tiempo de ejecución por muestra, permitiendo analizar una mayor cantidad de muestras en el mismo tiempo que el MAT, y a la vez disminuye el tiempo de incubación de dos a cuatro horas en MAT a una hora en microMAT (Tapia, 2014). 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 en microscopio (Cole *et al.*, 1973). Su lectura es más clara, ya que se observan aglutinaciones muy evidentes en comparación con MAT donde se debe evaluar tanto cantidad de leptospiras como aglutinaciones presentes (Tapia, 2014). Se ha visto en la práctica que microMAT posee mayor sensibilidad en comparación a MAT 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).

Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud y la Sociedad Internacional de Leptospirosis, señalan alrededor de 350.000 a 500.000 casos humanos anualmente en el mundo (Martínez *et al.*, 2012). En Chile ha tenido una escasa detección en los últimos años, ya que al tener un amplio espectro clínico, no es una patología muy considerada dentro de

los posibles diagnósticos, y por consiguiente es sub notificada (Fuenzalida, 2012). Según datos confirmados por el Laboratorio Nacional y de Referencia del Instituto de Salud Pública de Chile, durante el año 2015, se presentaron cuatro casos de leptospirosis humana (Instituto de Salud Pública, 2015). La ocupación es un factor de riesgo importante en la presentación de casos para los humanos. El contacto directo con las orina de los animales infectados puede ocurrir en agricultores, veterinarios, desratizadores, mineros, guardabosques y militares, entre otros (Céspedes, 2005).

La importancia zoonótica de esta enfermedad y su bajo diagnóstico en equinos, hace necesario establecer la real prevalencia de leptospirosis en ellos, especialmente en establecimientos donde existe un contacto diario y cercano entre petiseros y jinetes con el animal, como sucede en háras, hipódromos y en el caso del presente estudio, en centros ecuestres militares. El Regimiento de Caballería Blindada N° 1 “Granaderos”, centro ecuestre donde se realizó el estudio, se encuentra localizado en la comuna de Quillota, el cual cubre un terreno de 756 Há., donde se disponen 300 caballerizas, que albergan un gran número de caballares, diversos en género, edad y función. Los roedores y la población canina podrían ser algunos de los factores de riesgo en la transmisión de leptospirosis a equinos dentro del centro ecuestre. Para el primero, el centro cuenta con un plan de gestión ambiental, el cual se realiza tres veces al año, colocando un cerco perimetral alrededor de las pesebreras, utilizando cebos con rodenticida; en relación a la población canina, es difícil su control por lo extenso del terreno y porque no existen muros o rejas que cierren en su totalidad el establecimiento, provocando que los ejemplares equinos puedan verse vulnerables a adquirir serovares provenientes de estos reservorios (Kraushaar, 2015*). Debido a esto es que se planteó el objetivo de determinar la seroprevalencia a *Leptospira spp.* en una población de equinos de un centro ecuestre militar. Como objetivos específicos se identificarán los serovares de *Leptospira spp.* más frecuentes y determinará si existe una relación significativa entre, las variables de sexo, edad y función del ejemplar, con la seropositividad a *Leptospira spp.*

* **KRAUSHAAR, R.** 2015. [Comunicación personal]. Médico veterinario a cargo del centro ecuestre militar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizó una población de 259 ejemplares equinos provenientes del centro ecuestre militar de la comuna de Quillota, Región de Valparaíso. Esta población se compone de hembras y machos, de distintas edades y funciones, como caballares de formación, caballares de deporte y caballares de tiro, los cuales son ubicados según su función en distintas naves. La distribución de las naves y el canal de regadío del centro ecuestre se muestran en el anexo Nro. 1.

La toma de muestra se realizó en el centro ecuestre, con la ayuda del médico veterinario a cargo. Con una jeringa de 10cc. se extrajo cuatro mL. de sangre por venopunción yugular de cada ejemplar, la cual fue vertida en tubos sin anticoagulantes, para su posterior traslado a la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Llegadas las muestras, estas fueron centrifugadas por 15 minutos a 800 RCF (xg). Una vez obtenido el suero sanguíneo, se utilizó una pipeta para extraerlo y ser colocado en tubos Eppendorf limpios y rotulados con el número del ejemplar muestreado. Luego estas muestras serológicas fueron almacenadas en un congelador a -20° C hasta su posterior análisis en el “Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile (UACH)”, donde fueron sometidas a la prueba de microaglutinación en placa (microMAT).

Para este test se utilizaron antígenos vivos de seis serovares del género *Leptospira* spp.; correspondientes a las especies *L. borgpetersenii* y *L. interrogans*, los cuales se detallan en la tabla Nro. 1. 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.

Tabla Nro. 1. Especies y serovares utilizados en microMAT y sus respectivos serogrupos.

ESPECIE	SEROGRUPO	SEROVAR
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjo
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis

El procedimiento de microMAT consistió en dos fases. La primera fue 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. Los ejemplares con títulos de anticuerpos iguales o superiores a 1:100 fueron considerados positivos.

Toda la información recopilada de cada ejemplar más los resultados de la prueba de microMAT fueron ingresados a una planilla Excel, de la cual se generaron tablas y gráficos determinando la distribución porcentual, promedios y frecuencia de la seroprevalencia a *Leptospira spp.* Para determinar la relación entre seropositividad y las variables de sexo, edad y función del ejemplar, se utilizó el programa estadístico InfoStat® con el modelo de regresión logística multivariada, en el cual se tomó como variable dependiente la seropositividad a *Leptospira spp.*, obteniendo una respuesta dicotómica, seropositivo/seronegativo; las variables independientes de sexo y función fueron utilizadas como variables de clasificación y edad como variable regresora. Se estableció un valor de $p < 0,05$ como significativo.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 259 muestras serológicas de equinos, de las cuales 148 (57,14%) corresponden a machos y 111 (42,86%) a hembras. Sus edades fluctúan entre los tres y 27 años y se encuentran divididos en tres funciones dentro del centro ecuestre, 148 caballares de formación (57,14%), 97 caballares de deporte (37,45%) y 14 caballares de tiro (5,4%).

En la tabla Nro. 2 podemos observar que la edad media entre los equinos seropositivos y negativos no difiere en más de un año. Hembras y machos obtuvieron 48% y 52% de seropositividad respectivamente, difiriendo en un 4% (Tabla Nro. 3). Los resultados por función (Tabla Nro. 4) nos muestran que la función de formación tiene un 16% de seropositividad, menor a los porcentajes de la función de deporte (35%) y función de tiro (29%).

Tabla Nro. 2. Media, Desviación estándar (DE) y Coeficiente de variación (CV) de la variable edad de los equinos de acuerdo a la seropositividad (n=259).

Seropositivo/Seronegativo	VARIABLE	N	MEDIA	D.E	CV	MIN.	MAX.
Seronegativo	Edad	198	12,28	6,28	51,17	3	27
Seropositivo	Edad	61	11,11	6,28	56,50	3	25

Tabla Nro. 3. Frecuencia absoluta (FA) y Frecuencia relativa (FR) de presentación de sueros positivos y negativos de acuerdo a la variable de sexo de los equinos (n=259).

Seropositivos/seronegativos	VARIABLE	CATEGORÍA	FA	FR
Seronegativo	Sexo	MACHOS	119	0,60
Seronegativo	Sexo	HEMBRAS	79	0,40
Seropositivo	Sexo	MACHOS	29	0,48
Seropositivo	Sexo	HEMBRAS	32	0,52

Tabla Nro. 4. Frecuencia absoluta (FA) y Frecuencia relativa (FR) de presentación de sueros positivos y negativos de acuerdo a la variable de función de los equinos (n=259).

Función	VARIABLE	CATEGORÍA	FA	FR
F. de formación	Seronegativo/Seropositivo	SERONEGATIVO	125	0,84
F. de formación	Seronegativo/Seropositivo	SEROPOSITIVO	23	0,16
F. de deporte	Seronegativo/Seropositivo	SERONEGATIVO	63	0,65
F. de deporte	Seronegativo/Seropositivo	SEROPOSITIVO	34	0,35
F. de tiro	Seronegativo/Seropositivo	SERONEGATIVO	10	0,71
F. de tiro	Seronegativo/Seropositivo	SEROPOSITIVO	4	0,29

Del total de las muestras, 61 ejemplares fueron positivos a uno o más de los seis serovares analizados, lo cual corresponde a una frecuencia de presentación del 23,55% (Figura Nro. 1).



Figura Nro. 1. Distribución porcentual del total de muestras seropositivas y seronegativas a *Leptospira spp.* (n= 259).

De los 61 sueros reaccionantes, los serovares más frecuentes correspondieron a Autumnalis 45,9% (n=28), Ballum 39,34% (n=24) y Canicola 14,75% (n=9). Ninguno de los sueros reaccionó frente a los serovares Hardjo, Pomona e Icterohaemorrhagiae (Figura Nro. 2).

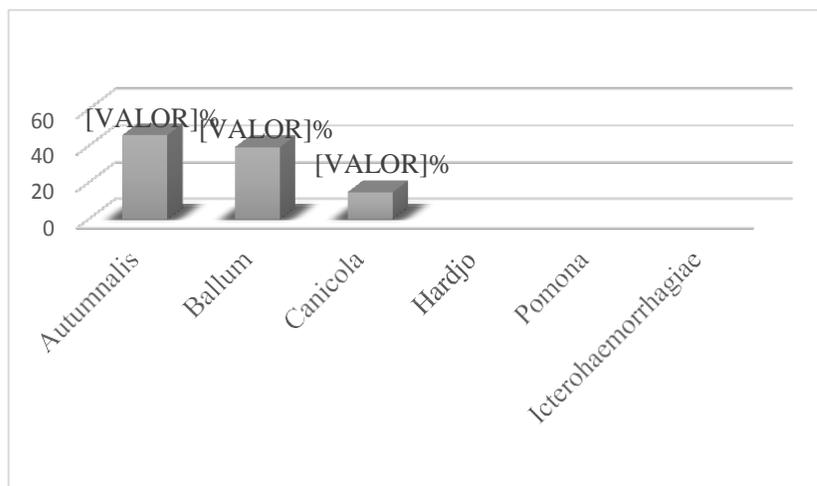


Figura Nro. 2. Distribución porcentual de los equinos seropositivos de acuerdo al serovar de *Leptospira spp.* (n= 61).

La Figura Nro. 3 muestra el porcentaje de sueros reaccionantes de acuerdo a la titulación. La mayor frecuencia corresponde a títulos de 1:100 (59,01%), mientras que la menor frecuencia fue de 4,9% para los títulos de 1:800 y 1:1600.

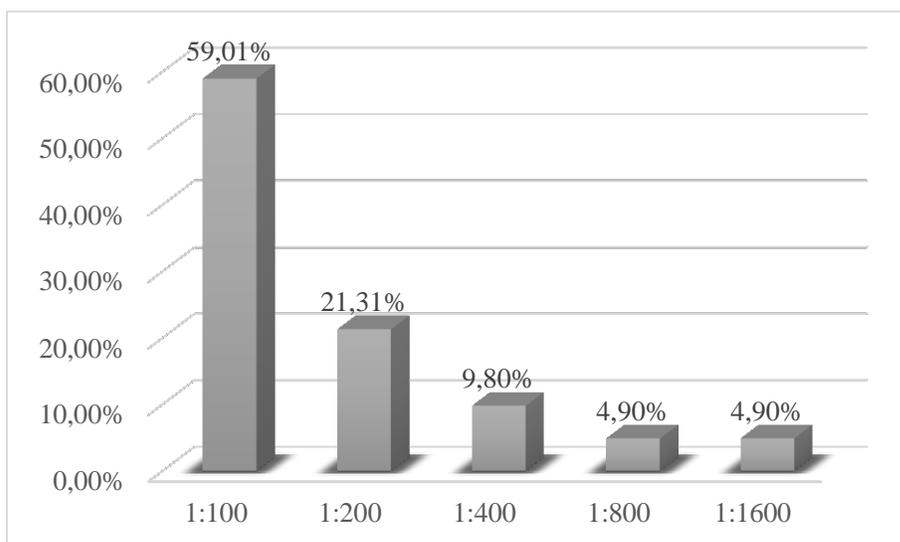


Figura Nro. 3. Distribución porcentual de frecuencias de títulos de anticuerpos obtenidos de muestras que presentaron reacción positiva a *Leptospira spp.* (n= 61).

A través del método de regresión logística multivariada se determinó la posible existencia de una relación significativa entre las variables sexo, edad y función del ejemplar, con la probabilidad de seropositividad a *Leptospira spp.* (Tabla Nro. 5).

Tabla Nro. 5. Resultados de la regresión logística multivariada entre las variables de sexo, función y edad de los ejemplares, y su seropositividad a *Leptospira spp.*

Parámetros	EST.	E.E.	O.R.	WALD LI (95%)	WALD LS (95%)	WALD CHI2	P - VALOR
Constante	-0,92	0,36	0,40	0,20	0,80	6,64	0,0100
Sexo yegua	0,49	0,31	1,62	0,88	3,00	2,40	0,1214
Función de formación	-1,07	0,35	0,34	0,17	0,69	9,21	0,0024
Función de tiro	-0,07	0,67	0,93	0,25	3,48	0,01	0,9174
Edad	0,01	0,03	1,01	0,95	1,06	0,04	0,8498

El sexo, la edad y la función de tiro de los ejemplares no mostraron tener una relación significativa con la presentación de seropositividad a *Leptospira spp.* ($p>0,05$). En cambio, la función de formación de los ejemplares mostró un valor de $p=0,0024$, lo cual indica una relación significativa con la seropositividad. El O.R. de la función de formación es de 0,34, al ser comparado con la función que fue llevada a cero, en este caso, la función de deporte (Tabla Nro. 5). Este valor de O.R. indica que la función de formación corresponde a un factor de protección. Es decir, la función de formación tuvo 2,94 ($1/0,34$) veces menos probabilidades de contraer la infección al compararla con la función de deporte, por lo tanto, la función de deporte tendrá 2,94 veces más riesgo de contraer leptospirosis.

En las siguientes tablas (Tabla Nro. 6, 7 y 8) se muestra si existe o no una relación significativa entre las variables de sexo, edad y función del ejemplar con cada uno de los serovares detectados en el presente estudio, correspondientes al serovar Autumnalis, Ballum y Canicola, respectivamente.

Tabla Nro. 6. Resultados de la regresión logística multivariada entre las variables de sexo, función y edad de los ejemplares con reaccionantes positivos al serovar Autumnalis.

Parámetros	EST.	E.E.	O.R.	WALD LI (95%)	WALD LS (95%)	WALD CHI2	P-VALOR
Constante	-2,31	0,50	0,10	0,04	0,27	21,10	<0,0001
Sexo yegua	0,60	0,42	1,81	0,80	4,11	2,04	0,1534
Función de formación	-0,41	0,47	0,66	0,27	1,66	0,77	0,3812
Función de tiro	-0,43	1,13	0,65	0,07	5,97	0,15	0,7030
Edad	0,01	0,04	1,01	0,94	1,09	0,12	0,7304

Como se observa (Tabla Nro. 6) ninguna de las variables, sexo, edad o función, mostró resultados significativos al relacionarse con la seropositividad al serovar Autumnalis.

Tabla Nro. 7. Resultados de la regresión logística multivariada entre las variables de sexo, función y edad de los ejemplares con reaccionantes positivos al serovar Ballum.

Parámetros	EST.	E.E.	O.R.	WALD LI (95%)	WALD LS (95%)	WALD CHI2	P-VALOR
Constante	-2,34	0,54	0.10	0,03	0,28	19,04	<0,0001
Sexo yegua	0,45	0,47	10,56	0,63	3,89	0,92	0,3370
Función de formación	-0,83	0,52	0,44	0,16	1,21	2,56	0,1099
Función de tiro	0,82	0,80	2,27	0,47	10,96	1,04	0,3085
Edad	0,02	0,04	1,02	0,94	1,10	0,17	0,6845

Las variables de sexo, edad y función no muestran relación significativa para los reaccionantes positivos al serovar Ballum (Tabla Nro. 7).

Tabla Nro. 8. Resultados de la regresión logística multivariada entre las variables de sexo, función y edad de los ejemplares con reaccionantes positivos al serovar Canicola.

Parámetros	EST.	E.E.	O.R.	WALD LI (95%)	WALD LS (95%)	WALD CHI2	P-VALOR
Constante	1,62	0,72	5,08	1,24	20,70	5,13	0,0235
Sexo yegua	0,32	0,71	1,38	0,34	5,51	0,21	0,6498
Función de formación	18,61	1984,41	120440459,56	0,00	Sd	8,8E-05	0,9925
Función de tiro	18,72	6470,65	135398503,64	0,00	Sd	8,4E-06	0,9977
Edad	0,06	0,08	1,07	0,92	1,24	0,71	0,3983

Al igual que para el serovar Autumnalis y Ballum, la tabla muestra que no existe relación significativa entre las variables de sexo, edad y función con la seropositividad al serovar Canicola (Tabla Nro. 8). Además el número de reaccionantes positivos al serovar Canicola dentro del muestreo es muy bajo (9), menor a un 5%, por lo que el algoritmo que se utiliza en la regresión logística multivariada no converge.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se analizaron 259 muestras de suero provenientes de ejemplares equinos de un centro ecuestre militar de la comuna de Quillota. Se obtuvo una seroprevalencia a *Leptospira spp.* de 23,55% a títulos 1:100 o superiores, resultados obtenidos a través de la prueba de microMAT. Este porcentaje es inferior a la obtenida por la gran mayoría de estudios realizados a nivel nacional. Ejemplo de esto, tenemos el trabajo de Apablaza (1989) quien obtuvo un 96,9% y Ulloa (1991) el cual obtuvo un 80% de seropositividad. Ambos estudios se realizaron en equinos pertenecientes a centros ecuestres, utilizando los mismos 12 serovares en la prueba de MAT, a diferencia de este estudio, en el cual se utilizaron solo seis serovares, por lo que los equinos pudiesen haber presentado seropositividad frente a serovares no incluidos en el presente estudio aumentando así la frecuencia de presentación. En estudios más recientes, tanto Arias (1999) como Martínez (2003) utilizaron seis serovares, los cuales son los mismos del presente estudio a excepción del serovar Grippotyphosa, el cual fue remplazado en el presente estudio por Autumnalis, obteniendo una seroprevalencia de 51,81% y 42% respectivamente. Estos resultados nos muestran la importancia de la diversidad de serovares que se utilicen como antígeno en MAT. A menor variedad de antígenos utilizados, menor será la posibilidad de reacción de los sueros, siendo importante contar con antecedentes de los serovares presentes en el área a fin de optimizar los recursos. Salvo (1999) quien estudió 50 equinos de un centro ecuestre militar de la Región Metropolitana, utilizando los serovares Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hardjo, Grippotyphosa y Bratislava, obtuvo un 26% de sueros reaccionantes a *Leptospira spp.*, resultado similar a lo reportado en el presente estudio, lo cual podría ser explicado por la similitud en los manejos ambientales, sanitarios y veterinarios que se realizan en ambos centros ecuestres militares.

Por otra parte, estudios realizados en México, con equinos pertenecientes a tres centros ecuestres del ejército, con características similares a las del presente estudio, como encontrarse estabulados y pertenecer a la misma raza, reportaron un 86,5% (n=89) de sueros reaccionantes, cifra bastante superior al presente estudio (Gómez-Molina, 2005). La ubicación geográfica de México, con zonas de clima tropical pudiese tener relación con esta alta cifra, ya que presenta mejores condiciones de sobrevivencia para la bacteria,

resistiendo por más tiempo en el medio. Por otro lado los tres centros ecuestres estudiados cuentan con manejos de otras especies animales como bovinos, caprinos, ovinos y caninos, los cuales se comportan como reservorios de *Leptospira spp.* (Gómez-Molina, 2005), aumentando la probabilidad de encontrar una mayor diversidad de serovares.

Todos los estudios nombrados, obtuvieron prevalencias mayores a la obtenida en el presente estudio. Esto nos puede indicar que la procedencia de los animales, sus manejos alimentarios y sanitarios pudiesen tener estrecha relación con el resultado obtenido, o que no se hayan incluido serovares que pudiesen haber estado presentes. Los ejemplares de este estudio al pertenecer a un centro ecuestre, gran parte del tiempo son mantenidos en confinamiento, disminuyendo las posibilidades de contacto con el agente causante de la enfermedad. Aun así, esta misma ventaja puede volverse en contra, ya que al estar confinados, son alimentados con concentrados y fardos que al estar almacenados tienen la posibilidad de ser contaminados con orina de ratones.

En relación a los serovares estudiados, se obtuvo seropositividad para Autumnalis (45,9%), Ballum (39,34%) y Canicola (14,75%) (Figura Nro. 1) Este resultado no concuerda con el trabajo de autores como Apablaza (1989) quien obtuvo en su estudio una mayor frecuencia para el serovar de Icterohaemorrhagiae, al igual que Solís (1993), González (1994) y Martínez (2003), pero existe concordancia en que Ballum sea el segundo serovar más frecuente en los estudios de Solís (1993) realizado en equinos fiscales, y el de Arias (1999) en equinos de la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, los cuales obtuvieron un 10% y 24,4% respectivamente. El serovar Canicola, al igual que en otros estudios nacionales (Ulloa, 1991; Arias, 1999; Martínez, 2003) se presenta en frecuencias menores.

La alta frecuencia de presentación de los serovares Autumnalis y Ballum, se puede relacionar con la presencia de uno de sus reservorios principales, las ratas (*rattus rattus*). A pesar de los manejos de desratización realizados en el recinto, estos roedores son una potencial fuente de contaminación de los alimentos y agua de bebida de los equinos. Por otra parte los cánidos son también un reservorio importante para los serovares Autumnalis y Canicola. Dentro del establecimiento existe presencia de perros, tanto domésticos como asilvestrados lo cual pudiese explicar la presentación de estos serovares. En el caso de que

estos canidos estén vacunados, esta no incluye el serovar Autumnalis, protegiéndolos solo de los serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae (Berrios, 2001). La no presentación de equinos seropositivos al serovar Icterohaemorrhagiae se puede deber a su presencia en la vacuna de caninos, y a la no presencia de sus otros posibles reservorios, como bovinos y caprinos (Riedemann y Zamora, 1987) en el recinto, disminuyendo así su transmisión.

Lo mismo puede explicar la no presencia de los serovares Hardjo y Pomona siendo los porcinos el principal reservorio para Pomona, y bovinos en el caso de Hardjo (Zamora y Riedemann, 1999).

Un porcentaje importante de la población estudiada presentó títulos entre 1:100 y 1:200, 59,01% y 21,31% respectivamente (Figura Nro. 3). Con estos títulos un equino podría encontrarse en un estado reciente de infección o un estado crónico. En países como Estados Unidos 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 realiza vacunación contra leptospirosis (González, 1994; Martínez, 2003), por lo tanto estos títulos no podrían estar asociados a anticuerpos vaccinales. La menor frecuencia corresponde a títulos de 1:400 a 1:1600, títulos que podrían reflejar una infección en curso. Para tener la certeza de que los títulos bajos representan un cuadro de leptospirosis reciente, debería realizarse exámenes serológicos seriados e intentar el aislamiento del agente (Solis, 1993).

Según los resultados de este estudio, no existe una relación significativa entre las variables de sexo, edad y seropositividad a *Leptospira spp.* ($p>0,05$). En cuanto al sexo, hay estudios serológicos que revelan que no tiene un papel importante en la infección (Hogan *et al.*, 1996). Por lo tanto hembras y machos pueden infectarse por igual, como sucede en estudios realizados en el país (Ulloa, 1991; González, 1994; Arias, 1999), indicándonos que el sexo no predispone a la presentación de la enfermedad en la especie equina.

La edad tampoco presentó una relación con la seropositividad, similar a lo reportado en el estudio de González (1994). Esto se contrapone a estudios realizados en equinos de la comuna de Doñihue (Arias, 1999) y equinos de la comuna de Victoria (Ulloa, 1991), donde se observó que a mayor edad de los animales, mayor fue el porcentaje de seropositividad.

Esto podría deberse a que animales con más edad han tenido un mayor tiempo de permanencia en los centros ecuestres, por ende una mayor exposición a la bacteria ya sea a través del ambiente o contacto con reservorios.

La variable función de los ejemplares mostró tener una relación significativa ($p < 0,05$) con la seropositividad, específicamente la función de formación, la cual al tener un O.R. menor a 1 debe ser tomada como un factor de protección (Tabla Nro. 5). Esto significa que aquellos ejemplares pertenecientes a la función de formación tienen 2,94 veces menos probabilidad de contraer la infección. Por lo tanto, la función de deporte tiene 2,94 veces más probabilidad de infectarse. Este resultado se puede deber a tres acontecimientos principales asociados a los manejos que reciben los equinos de acuerdo a su función. En primer lugar los ejemplares pertenecientes a la función de deporte tienen una mayor cantidad de salidas con fines deportivos, tanto a nivel nacional como internacional, viajando varios días en camión y quedándose en distintas pesebreras y condiciones que pueden aumentar el riesgo de exposición a la bacteria; en cambio, aquellos ejemplares de formación, tienen una salida anual a Santiago por el día. En segundo lugar la tasa de reposición anual de los ejemplares de deporte es de un 15-20%, y en la función de formación es de un 2%, pudiendo ingresar animales que ya tuvieron exposición a la bacteria. Por último en las naves de los ejemplares de deporte se realiza una redistribución de pesebreras de forma periódica, en cambio, en las naves de formación, pasan un mayor tiempo en la misma pesebrera disminuyendo las probabilidades de ingresar a pesebreras con presencia de la bacteria en este último grupo (Kraushaar, 2015[†]). Estos tres factores hacen que los ejemplares de la función de deporte tengan un mayor porcentaje de individuos infectados (35%), los cuales, a su vez podrían poner en riesgo a los ejemplares de tiro (29%), debido a la cercanía de las naves (Anexo Nro. 1).

Los resultados de la presentación de seropositividad por serovar, no mostraron tener una relación significativa con las variables, lo que nos indica que no existe preferencia de alguno de los serovares estudiados por el sexo, edad o función de los equinos.

[†] **KRAUSHAAR, R.** 2015. [Comunicación Personal]. Médico veterinario a cargo del centro ecuestre militar.

A modo de conclusión podemos decir que en comparación a otras investigaciones el porcentaje de prevalencia de leptospirosis en el centro ecuestre es menor, aun así, se hace necesario considerarla como una enfermedad presente en nuestro país y se debe considerar al momento de examinar un equino que tenga síntomas compatibles con la enfermedad, debido al riesgo de transmisión. Por otra parte conocer los serovares presentes en un lugar determinado permitirá desarrollar estrategias de prevención y control efectivos, ya sea a través de cambios de manejo o control de reservorios. Por último y teniendo en cuenta el carácter zoonótico de la enfermedad, sería interesante en futuros estudios evaluar el estado de seropositividad de las personas que trabajan en contacto directo con estos equinos.

BIBLIOGRAFÍA

- **ADLER, B.; DE LA PENA MOCTEZUMA A.** 2010. Leptospira and Leptospirosis. Rev. Vet. Microbiol. 140 (3): 287-296.
- **AMSE (Asociación de Médicos de Sanidad Exterior).** 2012. Leptospirosis, epidemiología y situación mundial. [en línea] <http://www.amse.es/index.php?option=com_content&view=article&id=184:leptospirosis-epidemiologia-y-situacion-mundial&catid=42:inf-epidemiologica&Itemid=50> [consulta: 10-08-2015].
- **ALFARO, C; ARANGUREN, Y.; CLAVIJO, A.** 2004. Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis como fundamentos para el diseño de estrategias de control. [en línea] CENIAP HOY N° 6. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n6/arti/alfaro_c/arti/alfaro_c.htm [Consulta: 29-07-2015]
- **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. U. Concepción. Fac. Medicina Veterinaria. 50p.
- **ARIAS, C.** 1999. Prevalencia de leptospirosis equina en la comuna de Doñihue, VI Región. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. U. Concepción. Fac. Medicina Veterinaria. 36p.
- **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.
- **BERRIOS, P.** 2001. Vacunas no tradicionales y nuevas tecnologías aplicadas en su preparación. TecnoVet. 7(2).
- **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: 29-07-2015].

- **CFSPH (CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH).** 2005. Leptospirosis. [en línea] <<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/leptospirosis.pdf>> [consulta: 22-07-2015].
- **CARRADA, T.** 2005. Leptospirosis humana: Historia natural, diagnóstico y tratamiento. *Rev. Mex. Patol. Clin.* 52 (4): 246 – 256.
- **CÉSPEDES, M.** 2005. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública* 22(4): 290-307.
- **COLE, J.; SULZER, C.; PURSELL, A.** 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl. Microbiol.* 25(6): 976-980.
- **DABANCH, J.** 2003. Zoonosis. *Rev. Chil. Infectol.* 20 (1): 47 – 51.
- **DWYER, R.M.** 2015. Equine Zoonoses: Consequences of Horse – Human Interactions. **In:** *Zoonoses – Infections Affecting Humans and Animals.* Springer Netherlands. Lexington, USA. pp. 643 – 657.
- **ELLIS, W. A.** 2015. Animal Leptospirosis. **In:** *Leptospira and Leptospirosis.* Springer Berlin Heidelberg. Belfast, Northern Ireland. pp. 99-125.
- **FUENZALIDA, F.** 2012. Vigilancia epidemiológica de zoonosis y enfermedades transmitidas por vectores. Chile, 2009-2010. *El vigía* 27. 13(27): 75 – 80.
- **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.
- **GÓMEZ - MOLINA, T.** 2005. Serovariedades de *Leptospira* presentes en ganado de tres centros ecuestres pertenecientes al Ejército Mexicano. *Rev Sanid Milit Mex,* 59(4), 260-264.
- **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 de Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. U. Concepción. Fac. Medicina Veterinaria. 46p.
- **HOGAN, P.; BERNARD, W.; KAZAKEVICIUS, P.; FITZGERALD, M.** 1996. Acute renal disease due to *Leptospira interrogans* in a weanling. *Equine Vet. J.* 28(4): 331-333.

- **INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA.** 2015. Reportes mensuales de agentes de vigilancia. Departamento de asuntos científicos. [en línea] <http://www.ispch.cl/resultados_reportes_mensuales/buscararchivos.php> [consulta: 2-11-2015].
- **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. U. Concepción. Fac. Medicina Veterinaria. 52p.
- **MARTÍNEZ, P.; ORTEGA, D.; SALINAS K.** 2012. Evolución de la leptospirosis según el sistema de vigilancia epidemiológica nacional, Chile 2003-2009. Rev. Chil. Infectol. 29 (6): 648 – 654.
- **MINSAL. (MINISTERIO DE SALUD DE CHILE). DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGÍA** 2012. Leptospirosis, situación epidemiológica. [en línea] <http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/Leptospirosis/Leptospirosis_2012.pdf> [consulta: 28-07-2015].
- **OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL).** 2008. Leptospirosis. [en línea] cap. 2.1.9. In: Manual de la OIE sobre animales terrestres. [consulta: 12-10-2015].
- **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.
- **RAMÍREZ, G.** 2005. Manual de Semiología Clínica Veterinaria. Editorial Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 199 p.
- **RIEDEMANN, S.; ZAMORA, J.** 1987. Leptospirosis animal. Serogrupos y serovares presentes en Chile y su importancia. Arch. Med. Vet. 19(2):69-72
- **SALVO, C.** 1999. Leptospirosis clínica y subclínica en un centro ecuestre de la Región Metropolitana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Iberoamericana de Ciencias y Tecnologías. Fac. Medicina Veterinaria y Ciencias Pecuarias. 57p.

- **SIUCE, J.** 2013. Leptospirosis. Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria de San Marcos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria.
- **SOLIS, S.** 1993. Leptospirosis: determinación de prevalencia en equinos. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile. Fac. Cs. Veterinarias. 22p.
- **SUAREZ, C.; BERDASQUERA, D.** 2000. Enfermedades emergentes y reemergentes: factores causales y vigilancia. Rev Cubana Med Gen Integr. 16 (6): 593-597.
- **TADICH, T.; TAPIA, C.; GONZÁLEZ, D.** Seroprevalence of *Leptospira spp.* in working horses located in the central region of Chile. J. Equine Vet. Sci. In press.
- **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. Titulo Médico Veterinario. Santiago. U. Chile. Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 24 p.
- **ULLOA, J.** 1991. Prevalencia de leptospirosis en yeguas mestizas de un criadero militar de la comuna de Victoria. Memoria Titulo Médico Veterinario. Chillán, Chile. U. Concepción. Fac. Medicina Veterinaria. 42p.
- **VERMA, A.; STEVENSON, B.; ADLER, B.** 2013. Leptospirosis in horses. Rev. Vet. Microbiol. 167(1):61-66.
- **ZAMORA, J; RIEDEMANN S.** 1999. Animales silvestres como reservorios de leptospirosis en Chile. Una revisión de los estudios efectuados en el país. Arch. Med. Vet. 31(2) 151-156.
- **ZUNINO, E.; PIZARRO, R.** 2007. Leptospirosis. Puesta al día. Rev. Chilena Infectol. 24 (3): 220-226.

ANEXOS



Anexo Nro. 1. Georreferencia de las pesebreras (1: función de formación; 2: función de deporte; 3: función de tiro) y canal de regadío (línea azul) dentro del centro ecuestre militar.