



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

**FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN DE SUEROS POSITIVOS A
LEPTOSPIRA SPP. EN PERROS DE LA COMUNA DE LA PINTANA**

Sebastián Eduardo Mercado Lafertte

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

PROFESOR GUÍA: TAMARA TADICH GALLO
Universidad de Chile
Financiado por Proyecto U-Inicia N° 121017019102049

SANTIAGO, CHILE
2017



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

**FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN DE SUEROS POSITIVOS A
LEPTOSPIRA SPP. EN PERROS DE LA COMUNA DE LA PINTANA**

Sebastián Eduardo Mercado Lafertte

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

PROFESOR GUÍA: TAMARA TADICH GALLO
Universidad de Chile
Financiado por Proyecto U-Inicia N° 121017019102049

SANTIAGO, CHILE
2017

Nota Final:

Profesor Guía: Dra. Tamara Tadich _____

Profesor Corrector: Dr. Patricio Retamal _____

Profesor Corrector: Dr. Pedro Ábalos _____

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por estar siempre presente y darme el apoyo necesario para terminar esta etapa universitaria. Doy las gracias también a aquellas personas que se esfuerzan día a día en ayudar y cuidar de aquellos animales que aparecen en nuestras vidas, que los valoran como son y entregan todo por ellos.

RESUMEN

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial causada por bacterias de tipo espiroqueta del género *Leptospira*. La transmisión de este patógeno comúnmente se produce por contacto directo o indirecto con orina de animales infectados. Los animales de vida silvestre juegan un papel importante en la trasmisión de la bacteria, siendo los roedores el principal reservorio silvestre. Las fuentes de agua también favorecen la diseminación pudiendo permanecer en ella por largos períodos de tiempo. Con el fin de identificar *Leptospiras* patógenas y su relación de seropositividad con variables biológicas y de manejo de perros en la comuna de La Pintana se tomaron muestras de sangre de 119 caninos domésticos. Los sueros fueron analizados mediante la técnica de microMAT para nueve serovares. Además se realizó una encuesta a los propietarios para determinar manejos e información individual de cada perro. Se detectaron *Leptospiras* patógenas en 15 de 119 individuos, siendo el serovar Canicola el más frecuente. Las variables vacunación séxtuple, grado de supervisión al pasear, consumo de agua potable y contacto con roedores, presentaron una relación significativa con seropositividad, pudiendo ser los roedores una fuente de diseminación en las zonas semiurbana y la falta de conocimiento de los propietario con respecto a la Tenencia Responsable de sus mascotas los principales factores que favorecen la infección de los cánidos.

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonosis with global distribution caused by bacteria of the spirochete type of the genus *Leptospira*. The transmission of this pathogen is produced by direct or indirect contact with urine of infected animals. Wildlife animals play an important role in the transmission of the bacteria, with rodents being the main wild reservoir. Water sources also favor dissemination of the bacteria, which can remain in it for long periods of time. To identify pathogenic *Leptospiras* and their relationship between seropositivity with biological variables and the management of dogs in La Pintana commune, blood samples were taken from domestic canines. To assess the presence of nine serotypes of *Leptospira*, the microMAT technic was used. A survey was applied to owners to collect information on management and individual factors of the dogs. Pathogenic *Leptospira* were detected in 15 of 119 individuals, with Canicola being the most frequent serovar. The variables vaccination, degree of supervision during walks, consumption of drinking water and contact with rodents, had a significant association with seropositivity, rodents being a source of dissemination in the semi-urban areas and the lack of knowledge of the owners regarding the responsible ownership of pets being the main factors that favor the infection of canids.

INTRODUCCIÓN

Actualmente variadas enfermedades infecciosas zoonóticas afectan a animales y personas en el mundo. Muchas de estas tienen un reservorio silvestre difícil de controlar, por lo que los riesgos de contagio son variables entre enfermedades. Entre ellas se encuentra la leptospirosis, enfermedad infecciosa considerada como reemergente, causando problemas en la salud pública de distintos países. En Chile, desde el año 2000 en el ser humano se realiza un seguimiento de la enfermedad, siendo de notificación obligatoria desde el año 2004. Durante el período 2003-2010 se han notificado a través del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Obligatorias 142 casos en humanos.

La enfermedad es causada por una bacteria de tipo espiroqueta del orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae*, género *Leptospira*. Antes de 1989, el género se dividió en dos especies, *L. interrogans*, que comprende todas las cepas patógenas, y *L. biflexa*, que contiene las cepas saprófitas aisladas del medio ambiente. Actualmente, el género ha sido dividido genotípicamente en 21 especies, o por medio de sus antígenos, describiéndose más de 260 serovares. También es clasificada en 3 grupos: patógenas, oportunistas y saprófitas.

Su control es difícil debido al ciclo silvestre, donde la bacteria es eliminada a través de la orina de pequeños mamíferos, principalmente roedores. Por esto, la prevención juega un rol fundamental a través de vacunaciones anuales a perros, generando inmunidad contra serovares *L. interrogans* Canicola y *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae, existiendo también una vacuna tetravalente, la cual incluye además *L. interrogans* Pomona y *L. kirshneri* Grippotyphosa. El control de roedores y un buen manejo higiénico y sanitario ayudan a disminuir la probabilidad de contagio.

Existen diversos métodos para detectar *Leptospira spp.* siendo la prueba de aglutinación microscópica (*Microscopic Agglutination Test*) aceptada internacionalmente por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial para la Sanidad Animal como de validez diagnóstica. Al existir escasos estudios de seroprevalencia de esta bacteria en la región Metropolitana de Chile es que se busca estimar la frecuencia de presentación de sueros positivos a nueve serovares de *Leptospira spp.* en perros de la comuna de La Pintana y su relación con conductas asociadas a la tenencia responsable de mascotas.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial que afecta a mamíferos domésticos y silvestres, incluido los humanos, generando un impacto social, económico y sanitario, considerándose un problema de salud pública global (Gualtieri *et al.*, 2012; Tuemmers *et al.*, 2013; Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

La enfermedad es causada por una bacteria de tipo espiroqueta móvil del orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae*, género *Leptospira* (Azócar-Aedo *et al.*, 2014), siendo este último dividido en varias especies según su clasificación taxonómica. Algunos autores describen que hay más de 260 serovares (Levett, 2001; Gualtieri *et al.*, 2012). Por otro lado, se pueden clasificar en 21 genotipos distintos, que incluyen los diversos serovares existentes (Levett, 2001). Existe una tercera clasificación en donde el género se divide en 3 grupos: patógenas, oportunistas y saprófitas. El grupo patógeno comprende especies que han sido aisladas desde humanos y animales. El grupo oportunista comprende aquellas bacterias que no ha sido demostrada su virulencia experimentalmente. Por último, el grupo de no patógenas o saprófitas corresponde a las cepas ambientales (Slack *et al.*, 2006; Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

Las cepas patógenas no pueden reproducirse fuera de su hospedero, por lo que necesitan la presencia de animales portadores y/o enfermos, y condiciones favorables para la supervivencia de la bacteria en el entorno (Azócar-Aedo *et al.*, 2014). Roedores y pequeños mamíferos silvestres actúan como reservorios primarios de la mayoría de los serovares de *Leptospira spp.*, eliminando al ambiente grandes cantidades de bacterias por la orina (Gualtieri *et al.*, 2012), siendo transmitida directa o indirectamente entre animales, o de los animales a las personas. La forma directa se produce al entrar en contacto con orina, sangre, tejidos u órganos de animales infectados. La forma indirecta es la más frecuente, donde el agua contaminada con orina de animales portadores de la bacteria ingresa al organismo a través de la mucosa oral, conjuntival, nasal o genital, como también por la piel con laceraciones o reblandecida por la humedad (Tuemmers *et al.*, 2013), luego pasan a la sangre y se distribuyen al hígado, riñón, bazo y a veces a las meninges. Este microorganismo puede penetrar el endotelio vascular e ingresar al lumen tubular por medio de las uniones intercelulares laterales de las células renales, permaneciendo en los túbulos

renales, incluso en los humores oculares y útero donde la actividad de anticuerpos es mínima (Luna *et al.*, 2008). La bacteria además persiste en las células epiteliales tubulares del riñón, siendo eliminadas intermitentemente durante meses por la orina (Azócar-Aedo *et al.*, 2014). Este patógeno puede sobrevivir por más de 180 días en superficies sólidas y por varios meses en aguas con poco movimiento o estancadas. Tiene una temperatura óptima de crecimiento de 28 a 30°C y un rango de pH entre 6,2 a 8,0 (Tuemmers *et al.*, 2013; Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

Los distintos serovares pueden afectar a humanos y una variedad de animales como roedores, bovinos, equinos, cerdos, caninos y felinos. Esta enfermedad es considerada un riesgo laboral, siendo los más afectados los médicos veterinarios, agricultores y empleados de matadero (Silva y Riedemann, 2007; Tuemmers *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2015). Actualmente existe una disminución del contagio por riesgo ocupacional y ha aumentado el riesgo recreacional, debido al aumento del turismo en zonas donde los visitantes pueden utilizar aguas estancadas (Tuemmers *et al.*, 2013).

La leptospirosis es más frecuente en zonas geográficas con un clima cálido y alta precipitación anual (Tuemmers *et al.*, 2013; Azócar-Aedo *et al.*, 2014). Tiene una tendencia estacional en los climas templados y en climas tropicales puede afectar durante todo el año, aumentando los brotes después de períodos de inundaciones o aumento de las lluvias. En las zonas áridas, las infecciones son más comunes en torno a las fuentes de agua (Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

Leptospirosis en Chile

En Chile es una enfermedad endémica que registra su incidencia en el ser humano desde el año 2000, por medio del Reglamento N° 712 sobre Notificación de Enfermedades de Declaración Obligatoria, donde se estableció que *Leptospira spp.*, será objeto de vigilancia. En el año 2004, el Decreto N° 158, incluyó a la leptospirosis como una enfermedad de notificación obligatoria inmediata (MINSAL, 2004). Durante el período 2003-2010 se han notificado a través del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Obligatorias 142 casos de leptospirosis en humanos, variando la cantidad de estos de acuerdo al año (Anexo 1) (Fuenzalida, 2012; Martínez *et al.*, 2012).

En relación a los animales, a nivel nacional se han realizado estudios que describen la frecuencia de presentación de *Leptospira spp.* en perros, los cuales se describen en la Tabla N°1.

Tabla N° 1: Frecuencia de positividad a *Leptospira spp.* reportados en perros en estudios realizados en Chile.

CIUDAD	AÑO	POSITIVIDAD (%)
Valdivia	1975	41,9
Chillán	1987	38,3
Chillán	1996	38,3
Chillán	1997	31,05
Valdivia	2007	14,8
Chillán	2008	30

Fuente: Tuemmers *et al.*, 2013; Azócar-Aedo *et al.*, 2014

En zonas urbanas los principales reservorios son roedores y caninos, considerándose a estos últimos como fuente potencial de infección para el hombre (Silva y Riedemann, 2007; Gualtieri *et al.*, 2012). Conductas normales como la de celo, olfateo y lamidos, favorecen la transmisión entre ellos (Luna *et al.*, 2008). Por lo mismo, los perros machos podrían tener una mayor probabilidad de contraer *Leptospira spp.* que las hembras debido a su comportamiento natural de vagabundeo. Los cánidos destinados a la caza o pastoreo también tienen mayor riesgo de infectarse al igual que aquellos que no tienen acceso a agua potable (Azócar-Aedo *et al.*, 2014). A su vez, los perros callejeros juegan un rol importante en cuanto al reservorio y transmisión de la infección debido al contacto potencial con sus pares y roedores infectados. Las zonas rurales presentan un mayor riesgo de infección ya que tienden a tener grandes concentraciones de ganado, roedores y pequeños mamíferos que actúan como reservorios y eliminadores de la bacteria (Luna *et al.*, 2008; Azócar-Aedo *et al.*, 2014). Las formas de presentación de la enfermedad en el canino doméstico pueden

ser per-aguda, subaguda, aguda o crónica, quedando como portadores asintomáticos y excretando a través de la orina la bacteria (Luna *et al.*, 2008; Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

Control y prevención

El control de la enfermedad en los perros se torna dificultoso debido al reservorio silvestre que presenta, por lo que la prevención toma una mayor relevancia. Las vacunas que actualmente se utilizan en el país son bivalentes, generando inmunidad contra *L. interrogans* Canicola y *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae. En los últimos años, se desarrolló una vacuna tetravalente la cual incluye los dos serovares mencionados anteriormente más *L. interrogans* Pomona y *L. kirshneri* Grippotyphosa. Los niveles de protección contra los distintos serovares de *Leptospira spp.* persisten entre uno a tres meses post vacunación, los cuales declinan con el tiempo. Se recomienda que perros que se sitúen en zonas de mayor riesgo utilicen la vacuna tetravalente anualmente (Azócar-Aedo *et al.*, 2014). Las vacunas protegen contra la enfermedad clínica, pero no contra colonización de la bacteria a nivel renal y, por ende, el estado de portador asintomático. Sin embargo, este último, puede llegar a disminuirse hasta en 50% con un correcto protocolo de vacunación (Luna *et al.*, 2008).

Dentro de las formas de prevenir el contagio de animales domésticos y humanos se encuentran la mantención de la limpieza de las áreas en que conviven y alojan los animales; evitar el consumo de agua no potable; eliminación de la bacteria mediante el uso de radiación ultravioleta, desecación y desinfectantes como el yodo, cloro, peróxido de hidrógeno y amonio cuaternario. Además es necesario considerar el control de roedores, debido a que son los principales diseminadores de la bacteria a través de la orina y mantenedores del ciclo silvestre (Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

La esterilización es un método de control de población canina que otorga un manejo de los perros callejeros y su impacto en la salud humana y silvestre. Además permite prevenir partos indeseados, la transmisión de enfermedades como brucelosis y tumor venéreo transmisible (TVT). En el caso de las hembras previene distocias, piometra, neoplasias ováricas, uterinas y mamarias. En los machos previene hiperplasia prostática, hernias perineales y tumores testiculares, además de disminuir las conductas de agresión y marcaje

urinario significativamente, conductas que podrían aumentar el riesgo de diseminación de la bacteria. Las tasas de complicaciones quirúrgicas varían de 2,6% a 20% de los casos, con una tasa de mortalidad que no supera el 0,1%, por lo que en general es una medida de tenencia responsable con altos beneficios positivos asociados. Si a la esterilización sumamos paseos supervisados, se podría evitar la transmisión de distintas enfermedades que eventualmente podrían afectar a cánidos y a personas (McKenzie, 2010).

Diagnóstico

Existen diversos métodos para el diagnóstico de *Leptospira spp.*, aunque ninguno de ellos por si solo es definitivo. Las técnicas incluyen la detección de anticuerpos específicos por pruebas de aglutinación microscópica (MAT), ensayo por inmunoadsorción ligados a enzimas (ELISA), observación por microscopio de campo oscuro, prueba de anticuerpos fluorescentes, histopatología, cultivo bacteriológico y reacción de polimerasa en cadena (PCR) (Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

El cultivo de la bacteria desde muestras de sangre u orina es el método de elección para el diagnóstico de *Leptospira spp.*, pero la dificultad para realizarlo hace que sea de poca utilidad. Esto debido a que requiere de medios especiales de incubación entre 3 a 6 meses, lo que se vuelve complejo para un diagnóstico temprano (Silva y Riedemann, 2007; Luna *et al.*, 2008; Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

La prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA) es utilizada para detectar anticuerpos IgM o IgG para *Leptospira spp.* IgM es detectable durante la primera semana de infección y su detección con ELISA puede ser más sensible que con MAT, cuando las muestras son tomadas en fase aguda de la enfermedad. Una de sus desventajas es que solo evidencia un antígeno de un género en específico y no el serovar que podría estar causando la enfermedad (Azócar-Aedo *et al.*, 2014).

La prueba de aglutinación microscópica (*Microscopic Agglutination Test*, MAT) es una prueba serológica “gold” estándar que entrega estimaciones de títulos de anticuerpos contra *Leptospira spp.* presentes en el suero. Varias diluciones del suero se pueden combinar con serovares de *Leptospira spp.* vivas de diferentes serogrupos conocidos y luego ser observadas en un microscopio de campo oscuro para determinar si ocurre el proceso de

aglutinación. Esta prueba es serovar específica, dependiendo de la disponibilidad de serovares con los que cuente el laboratorio. Títulos positivos en MAT confirman una exposición del paciente a la bacteria, pero no que presente una enfermedad clínica. Puede ser consistente con infección por *Leptospira spp.* en casos de signos clínicos compatibles con la enfermedad, un período de vacunación mayor a 3 meses y títulos de anticuerpos de 1:800 a 1:1600 (Azócar-Aedo *et al.*, 2014), debido a que títulos de 1:100 a 1:400 se presentan en las semanas siguientes post vacunación y posteriormente ocurre un marcado descenso. Títulos de 1:50 son sospechosos, $\geq 1:100$ son positivos, de 1:100 a 1:200 son de importancia principalmente en animales no vacunados, y títulos $\geq 1:800$ con una sola muestra generalmente indican infección y son de valor diagnóstico siempre y cuando existan signos clínicos compatibles con la enfermedad. En caso de dar una reacción negativa, no se debe descartar la posibilidad de infección, debido a que el paciente puede estar infectado con una serovariedad distinta a las analizadas o no presentar una respuesta inmunológica (Luna *et al.*, 2008). Esta prueba es considerada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial para la Sanidad Animal (OIE) como de validez diagnóstica (Silva y Riedemann, 2007; Luna *et al.*, 2008).

El diagnóstico de leptospirosis debe estar basado en una correlación entre los factores de riesgo, signos clínicos, análisis de laboratorio, títulos de anticuerpos y/o identificación del ADN mediante PCR (Luna *et al.*, 2008).

En esta Memoria de Título se analizará la frecuencia de presentación de sueros positivos a nueve serovares de *Leptospira spp.* en perros de la comuna de La Pintana para generar información objetiva de aquellos serovares de *Leptospira spp.* presentes y su relación con ciertas conductas asociadas a la tenencia responsable de mascotas.

OBJETIVO GENERAL

Estimar la frecuencia de presentación de sueros positivos a nueve serovares de *Leptospira spp.* en perros de la comuna de La Pintana y su relación con variables biológicas y de manejo de estas mascotas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar los serovares de *Leptospira spp.* más frecuentes en perros de la comuna de La Pintana.
2. Determinar si existe una relación significativa entre las variables de sexo, edad, estado sanitario, estado reproductivo, grado de supervisión al pasear, contacto con animales de granja, contacto con roedores y consumo de agua potable con la probabilidad de seropositividad a *Leptospira spp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio se analizaron muestras de sangre (suero) de 119 perros de la comuna de La Pintana, previo consentimiento de los propietarios. El tamaño muestral fue escogido por conveniencia debido a que no existe información publicada del número de perros presentes en la comuna de La Pintana y de la frecuencia de presentación de la enfermedad en dicha comuna. Los criterios de exclusión corresponden a pacientes con patologías graves que por consideración médica no pueden ser sometidos al procedimiento. No se excluyó por edad, raza, presencia de celo, peso o vacunaciones recientes. Las muestras fueron obtenidas de pacientes que asistieron al Centro de Salud Veterinario (CESAVE) El Roble, y de perros pertenecientes a la Asociación de Ayuda al Animal Abandonado (4A) y Estudiantes por la Protección Animal (EPA) ubicados en la comuna de La Pintana.

A cada animal se le registraron los datos del propietario (nombre, Rut y dirección) y, datos del paciente, nombre, sexo, edad, raza y estado reproductivo. A los propietarios se les realizaron preguntas relacionadas con las vacunas séxtuple y antirrábica, cuándo fue vacunado, grado de supervisión con la que su mascota sale a la calle, convivencia con otros animales y de qué especie son, si ha sido castrado o no, si ha tenido contacto con animales de granja o ratones, y acceso a agua potable.

Por medio de una jeringa estéril de 5 mL con aguja de 21G se realizó punción de la vena cefálica del miembro anterior derecho o izquierdo, o de la vena yugular, extrayendo 4 mL de sangre desde cada paciente. Posteriormente esta se almacenó en tubos estériles sin anticoagulantes, se centrifugaron a 600 G durante 3 minutos para obtener el suero sanguíneo, el cual fue depositado en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL, rotulado y congelado a -20°C.

Las muestras fueron analizadas en el Instituto de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, donde se sometieron al test de microaglutinación microscópica (microMAT).

El microMAT se realizó para *Leptospira interrogans*: Pomona; Gryppotyphosa; Autumnalis; Bratislava; Canicola; Icterohaemorrhagiae. *L. santarosai*: Tarassovi; y de *L.*

borgpetersenii: Ballum; Hardjo (Lelu *et al.*, 2015). Estos serovares fueron escogidos debido a la disponibilidad del laboratorio y de la información bibliográfica.

Para la interpretación de los resultados se consideraron títulos de 1:50 como sospechosos y de $\geq 1:100$ como positivos, siendo los títulos entre 1:100 y 1:200 de importancia en animales no vacunados, y títulos mayores con una sola muestra a 1:800 usualmente indicativos de infección, aunque serán de valor diagnóstico siempre y cuando existan datos compatibles con el cuadro clínico (Luna *et al.*, 2008).

Se utilizó un consentimiento informado (Anexo 2), el cual fue firmado por los propietarios, previo al procedimiento del animal. Además se cuenta con un certificado de bioseguridad (Anexo 3).

Análisis de resultados

Los resultados se analizaron mediante determinación de la frecuencia de presentación para identificar los serovares más frecuentes y los títulos de anticuerpos del panel de nueve serovares analizados, en la población de caninos estudiada. Por otro lado, se analizaron de forma descriptiva en relación a serovares, títulos de anticuerpos y número de serovares presentes por animales. Estos resultados se presentan a través de tablas.

Para determinar la relación entre seropositividad y las variables individuales (sexo y edad), y de manejo (tiempo de vacunación, grado de supervisión al pasear, si se encuentra o no castrado, contacto con animales de granja o ratones y consumo de agua potable) se utilizó la prueba de Chi cuadrado (X^2) o la prueba de Exacta de Fisher según sea necesario, aplicando un nivel de significancia de $p < 0,1$. Los resultados obtenidos se presentan en tablas.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 119 sueros caninos, de los cuales 45 corresponden a machos y 74 a hembras. Las edades de los perros participantes variaban desde los 2 meses a los 14 años, correspondiendo el 89,91% a animales mayores a 1 año de edad. En cuanto a la raza, 110 (92,44%) caninos fueron mestizos y 9 fueron animales de raza de acuerdo a la información de los dueños (Tabla N° 2).

TABLA N° 2: Distribución de los caninos (n=119) de acuerdo a frecuencia y porcentaje de las características individuales.

Característica	Clasificación	n (%)
SEXO	Machos	45 (37,02%)
	Hembras	74 (72,18%)
EDAD	>1 año	107 (89,91%)
	<1 año	12 (10,09%)
RAZA	Mestizo	110 (92,44%)
	Raza	9 (7,56%)

Los resultados de la prueba de microMAT para *Leptospira spp.* se muestran en la Tabla N° 3. De las 119 muestras, 15 reaccionaron positivamente a uno a más de los nueve serovares analizados, lo cual corresponde a una frecuencia de presentación del 12,6%. Tres animales reaccionaron positivamente a solo un serovar de *Leptospira spp.*, cinco perros reaccionaron a dos serovares distintos, seis a tres serovares distintos y sólo un animal reaccionó a cuatro serovares distintos (Tabla N° 4). En cuanto a los títulos obtenidos, estos se presentan en la Tabla N° 5, en donde la mayoría de los caninos reaccionaron con títulos de 1/100 (40%), mientras que sólo una muestra presentó titulación de 1:1600 (serovar Canicola).

TABLA N° 3: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos (n=15) a *Leptospira spp.* de acuerdo a cada uno de los serovares estudiados y al origen de los perros (de refugio o con dueño).

SEROVAR	Refugio n (%)	Con dueño n (%)	Total
Hardjo	1 (6,67%)	0 (0%)	1 (6,67%)
Pomona	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Canicola	11 (73,33%)	1 (6,67%)	12 (80%)
Ballum	10 (66,66%)	1 (6,67%)	11 (73,33%)
Icterohaemorrhagiae	3 (20%)	0 (0%)	3 (20%)
Autumnalis	1 (6,67%)	0 (0%)	1 (6,67%)
Tarassovi	7 (46,67%)	0 (0%)	7 (46,67%)
Gripotyphosa	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Bratislava	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

TABLA N° 4: Distribución del número y porcentaje de perros seropositivos (n=15) a uno o más serovares de *Leptospira spp.*

Perros seropositivos a:	n (%)
1 serovar	3 (20%)
2 serovar	5 (33,33%)
3 serovar	6 (40%)
4 serovar	1 (6,67%)
Total	15 (100%)

TABLA N° 5: Frecuencia de sueros reaccionantes de acuerdo a serovar de *Leptospira spp.*, y titulación en la prueba de microMAT.

SEROVAR	Titulación de la muestra en microMAT				
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
Hardjo	1	0	0	0	0
Pomona	0	0	0	0	0
Canicola	6	1	3	1	1
Ballum	5	2	0	4	0
Icterohaemorrhagiae	0	3	0	0	0
Autumnalis	0	1	0	0	0
Tarassovi	2	2	3	0	0
Gripotyphosa	0	0	0	0	0
Bratislava	0	0	0	0	0
Total	14	9	6	5	1

De los 119 animales analizados para los nueve serovares de *Leptospira spp.*, 12 (10,08%) de ellos se encontraban esterilizados, 3 (2,52%) con vacunación séxtuple al día, 1 (0,84%) de ellos tenía acceso sólo a agua potable, 7 (5,88%) tenían paseos supervisados con correa, 6 (5,04%) tenían contacto con animales de granja, y cabe destacar que los 15 (12,6%) animales seropositivos estuvieron en contacto con ratones (Tabla N° 6).

TABLA N° 6: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos a *Leptospira spp.* de acuerdo a las características de tenencia responsable de los perros analizados (n=119).

Variable	Descripción	Seropositivo n (%)
Estado reproductivo	Castrado	12 (10,08%)
	No castrado	3 (2,52%)
Estado sanitario (manejo vacunas)	Con vacunación séxtuple	3 (2,52%)
	Sin vacunación séxtuple	12 (10,08%)
	Con vacunación antirrábica	12 (10,08%)
	Sin vacunación antirrábica	3 (2,52%)
Consumo de agua potable	Con agua potable	1 (0,84%)
	Sin agua potable	14 (11,76%)
Grado de supervisión al pasear	Con paseos supervisados	7 (5,88%)
	Sin paseos supervisados	8 (6,72%)
	No pasea	0 (0%)
Grado de contacto con animales de granja	Contacto con animales de granja	6 (5,04%)
	Sin contacto con animales de granja	9 (7,56%)
Grado de contacto con roedores	Contacto con roedores	15 (12,6%)
	Sin contacto con roedores	0 (0%)

Los 15 perros que presentaron seropositividad a uno o más de los 9 serovares de *Leptospira spp.* analizados eran mayores a 1 año de edad (Tabla N° 7). De acuerdo a la prueba de chi cuadrado, no se encontró asociación entre la variable seropositividad y edad de los animales estudiados ($X^2=1,92$; $P= 0,3530$).

TABLA N° 7: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación a la edad de los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Jóvenes < 1 año	0 (0%)	12 (100%)	12
Adultos > 1 año	15 (14,02%)	92 (85,98%)	107
Total	15	104	119

De los 15 animales seropositivos a *Leptospira spp.*, 8 correspondían a caninos hembras y 7 a caninos machos (Tabla N°8). De acuerdo a la prueba de chi cuadrado, no se encontró asociación entre la variable seropositividad y sexo de los animales estudiados ($X^2= 1,76$; $P= 0,2979$).

TABLA N° 8: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación al sexo los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Hembra	8 (17,78%)	37 (82,22%)	45
Macho	7 (9,46%)	67 (90,54%)	74
Total	15	104	119

De los 15 animales seropositivos a *Leptospira spp.*, solo uno de los perros se encontraban con su vacuna séxtuple al día (Tabla N° 9). De acuerdo a la prueba de chi cuadrado, se encontró asociación significativa entre la variable seropositividad y no tener la vacunación séxtuple al día de los animales estudiados ($X^2= 11,24$; $P= 0,0021$).

TABLA N° 9: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación al estado sanitario con respecto a la vacunación séxtuple de los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Con vacuna séxtuple	1 (1,79%)	55 (98,21%)	56
Sin vacuna séxtuple	14 (22,22%)	49 (77,78%)	63
Total	15	104	119

De los 15 animales seropositivos a *Leptospira spp.*, 12 de ellos se encontraban esterilizados al momento de la toma de la muestras y 3 no estaban esterilizados (Tabla N° 10). De acuerdo a la prueba de chi cuadrado, no se encontró asociación entre la variable seropositividad y estado reproductivo de los animales estudiados ($X^2= 0,62$; $P= 0,6310$).

TABLA N° 10: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación al estado reproductivo de los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Castrado	12 (14,12%)	73 (85,88%)	85
No castrado	3 (8,82%)	31 (91,18%)	34
Total	15	104	119

De los 15 perros seropositivos a *Leptospira spp.*, 6 tienen contacto con animales de granja constantemente y 9 de ellos no tienen contacto con animales de granja (Tabla N° 11). De acuerdo a la prueba de chi cuadrado, se encontró asociación entre la variable seropositividad y contacto con animales de granja de los perros estudiados ($X^2= 8,27$; $P= 0,0128$).

TABLA N° 11: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación al contacto con animales de granja de los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Contacto con animales de granja	6 (33,33%)	12 (66,67%)	18
Sin contacto con animales de granja	9 (8,91%)	92 (91,09%)	101
Total	15	104	119

Todos los perros seropositivos a *Leptospira spp.* tenían contacto con ratones en el lugar donde vivían (Tabla N° 12), encontrándose una asociación significativa para esta variable (Prueba Exacta de Fisher, P= 0,0054).

TABLA N° 12: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación al contacto con roedores de los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Contacto con roedores	15 (18,52%)	66 (81,48%)	81
Sin contacto con roedores	0 (0%)	38 (100%)	38
Total	15	104	119

De los 15 animales seropositivos a *Leptospira spp.*, 7 paseaban con correa en todo momento al salir a la calle y 8 no pasean con correa (Tabla N° 13). De acuerdo a la prueba de chi cuadrado, se encontró asociación entre la variable seropositividad y grado de supervisión al pasear de los animales estudiados ($X^2= 5,17$; P= 0,0752).

TABLA N° 13: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación al grado de supervisión al pasear de los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Paseos supervisados	7 (24,14%)	22 (75,86%)	29
Sin paseos supervisados	8 (9,64%)	75 (90,36%)	83
No pasea	0 (0%)	7 (100%)	7
Total	15	104	119

De los 15 animales seropositivos a *Leptospira spp.*, solo uno consumía agua potable en todo momento y 14 de ellos tenían acceso a agua no potable (Tabla N° 14). De acuerdo a la prueba de chi cuadrado, se encontró asociación entre la variable seropositividad y el consumo de agua no potable de los animales estudiados ($X^2= 5,87$; $P= 0,0330$).

TABLA N° 14: Distribución del número y porcentaje de sueros seropositivos y seronegativos a *Leptospira spp.* en relación al consumo de agua potable de los perros analizados (n=119).

	Seropositivo n (%)	Seronegativo n (%)	Total
Con consumo de agua potable	1 (2,44%)	40 (97,56%)	41
Sin consumo de agua potable	14 (17,95%)	64 (82,05%)	78
Total	15	104	119

DISCUSIÓN

Este estudio es la primera aproximación a la frecuencia de presentación de *Leptospira spp.* en perros de la comuna de La Pintana. La frecuencia de presentación obtenida fue de 12,6%, lo que es similar a lo encontrado por Silva y Riedemann (2007) en la ciudad de Valdivia con una seroprevalencia de 14,8%. Por su parte, Tuemmers *et al.* (2013) en la ciudad de Temuco encontraron una positividad en perros de 21,3% y, en la Región de Los Ríos se exhibe una seroprevalencia del 25,1% en caninos de zonas urbanas marginales y rurales (Lelu *et al.*, 2015), ambas investigaciones con resultados mayores a los encontrados en este estudio. Estas variaciones en la frecuencia de presentación de *Leptospira spp.* podrían deberse al número de animales muestreados en el presente estudio, que están por debajo de la cantidad utilizada por estudios nacionales (400 animales utilizados por Tuemmers *et al.* (2014), al igual que Silva y Riedemann (2007)); al tipo de examen escogido que impacta directamente en la comparación de los resultados entre estudios o al número de serovares diferentes seleccionados, ya que individuos que reportamos como negativos pudiesen estar positivos a serovares no analizados.

La leptospirosis es más prevalente en áreas geográficas con gran precipitación anual y clima cálido, variando de acuerdo a la época del año. Además la exposición de los caninos a los reservorios domésticos y salvajes influyen en la distribución geográfica del patógeno (Levett, 2001; Azócar-Aedo *et al.* 2014; Lelu *et al.*, 2015). El presente estudio fue realizado en el mes de Enero, encontrándose Chile en temporada de verano, por lo que, los valores de frecuencia de presentación podrían aumentar en temporada de invierno donde las lluvias también se acrecientan. En un estudio retrospectivo realizado en Estados Unidos, donde se evaluaron 44.916 muestras de suero caninos por medio de MAT desde el 2000 hasta el 2010 para 7 serotipos distintos, un 4,48% de las muestras eran seropositivas, mostrando patrones estacionales desiguales en las zonas geográficas evaluadas, indicando un aumento estacional en las temporadas donde las lluvias eran más abundantes (Lee *et al.*, 2014), aunque el riesgo de infección en los perros está presente durante todo el año.

Los serovares más predominantes en este estudio fueron Canicola (10,08%) y Ballum (9,24%). La vacuna bivalente con serovares inactivados de *Leptospira* que se utiliza en Chile y en varios países del mundo disminuye la prevalencia de la enfermedad asociada a

los serovares Icterohaemorrhagiae y Canicola (Sessions y Greene, 2004; Schreiber *et al.*, 2005). A pesar de esto, el serovar Canicola fue el más frecuente en los perros estudiados en la comuna de La Pintana, en particular en aquellos perros que no presentaban su vacuna séxtuple al día (tiempo de vacunas superior a tres meses) corroborando la importancia de los planes de vacunación anual de los animales. Los animales seropositivos (n=15) presentaron reactividad a uno o más de los serovares analizados. De ellos sólo un animal presentaba su vacuna séxtuple al día, reaccionando positivamente al serovar Canicola y Ballum, pudiendo ser la sero-reacción a Canicola producto de la vacuna y/o exposición a la bacteria, y Ballum a consecuencia del patógeno (Sessions y Greene, 2004; Andre-Fontaine, 2013). En cuanto a los 14 caninos restantes, se les administró su vacuna para los serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae cinco o seis meses previo a la toma de muestra, por lo que los títulos de *Leptospira* se relacionan con la exposición a la bacteria y pobremente a la vacunación, al ser esta superior a 3 meses desde la extracción de sangre (Sessions y Greene, 2004; Andre-Fontaine, 2013).

El resto de los serovares identificados no presentan protección por vacunas en el caso de Chile, por lo que, el objetivo principal en estos casos sería controlar la fuente de contagio de los animales, las que podrían ser principalmente la presencia de roedores o el agua de consumo por parte de estos. En un estudio realizado en la Región de Los Lagos en el sur de Chile se encontró la bacteria en diferentes fuentes de agua de consumo directo o indirecto de animales tanto en zonas rurales como urbanas (Mason *et al.*, 2016).

Existe una vacuna multivalente que genera inmunidad contra el virus Distemper Canino, Parainfluenza Canina, Adenovirus Tipo 2, Parvovirus Canino, Virus de la Rabia y los serovares inactivados de *Leptospira spp.*, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bratislava y Grippotyphosa que se distribuye comercialmente en países donde la frecuencia de presentación es alta de los serovares que protege. La vacuna genera anticuerpos contra los serovares mencionados de *Leptospira* hasta un año luego de la primera vacunación con un máximo de titulación a los 3 meses, siguiendo el protocolo de aplicación de dos dosis separadas por 21 días. Esta vacuna reduce la severidad de los signos clínicos de la enfermedades, pero no evita el estado portador del animal (Wilson *et al.*, 2013a; Wilson *et al.*, 2013b). En América del Norte se han incluidos los serovares Grippotyphosa y Pomona

en las bacterinas de las vacunas disponibles, en cambio en Europa, han sido reportados como serovares emergentes Grippotyphosa y Bratislava. Esto corrobora la necesidad de identificar los serovares locales más importantes debido a los cambios epidemiológicos que ésta presenta (Ellis, 2010; Klaasen y Adler, 2015).

Otro punto importante a considerar es que los caninos que presentaron positividad a *Leptospira spp.* se expusieron a más de un serovar presentando la mayoría anticuerpos a 2 o 3 serovares distintos, lo que indica que los diferentes factores de virulencia son esenciales para la colonización del hospedero y su probable papel en la progresión de la enfermedad (Adler, 2015). Además es importante considerar que la bacteria puede sobrevivir por más de 180 días en superficies sólidas y por varios meses en aguas con poco movimiento o estancadas (Tuemmers *et al.*, 2013; Azócar-Aedo *et al.*, 2014), por lo que el riesgo de infección de los perros a los diferentes serovares es más alto.

A pesar de que uno de los perros presentó anticuerpos para 4 serovares distintos, no presentó signos de enfermedad evidente a la examinación clínica, incluso cuando algunos serovares marcaron titulación de 1:1600 en una sola muestra, lo que de acuerdo a Luna *et al.* (2008) es indicativo de infección, no enfermedad. Varios animales presentaron títulos de 1:200 para los serovares Canicola, Ballum, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis y Tarassovi (Tabla N°5), no estando vacunados estos animales, lo que indica el valor de la vacunación para los dos serovares correspondientes (Canicola e Icterohaemorrhagiae) y lo peligroso que se puede volver para la salud humana la presentación de serovares patógenos que pueden ser transmitidos de perros a humanos y que no pueden ser prevenidos a través de estrategias de vacunación.

Los títulos post vacunación suelen estar entre 1:100 y 1:400, aunque ocasionalmente pueden elevarse hasta 1:3.200, permaneciendo en circulación por al menos de 3 meses (Sessions y Greene, 2004). Andre-Fontaine (2013) describe que títulos menores a 1:3200 son comunes en perros vacunados no infectados con la bacteria, y títulos superiores a 1:3200 se relacionan con una vacunación menor a 6 meses o un refuerzo de esta, para los serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae, a la que los perros fueron expuestos. Por lo tanto, títulos igual o mayor a 1:400 para los serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae son indicativos de infección si presentan signología clínica compatible con leptospirosis.

A pesar de que se describe que los caninos entre 4 y 10 años de edad presentan mayor riesgo de contagio que animales menores de 1 año de edad (Ward, 2002; Sessions y Greene, 2004) probablemente por sus conductas de celo, olfateo y lamidos que favorecen la transmisión de la enfermedad entre ellos (Luna *et al.*, 2008) siendo los machos los que presentan mayor probabilidad de contraer leptospirosis que las hembras (Ward, 2002; Sessions y Greene, 2004; Azócar-Aedo *et al.*, 2014; Azócar-Aedo y Monti, 2016) debido a que los machos tienden a buscar a hembras en celo, huyendo de sus hogares para lograr sus fines reproductivos, exponiéndose al contagio de la bacteria al no saber si aquella hembra está vacunada. Además, estos mismos machos tienden a marcar más con orina el ambiente (Hart y Eckstein, 1997; Lisberg y Snowdon, 2009; Lisberg y Snowdon, 2011), lo que favorecería la diseminación de la bacteria. A pesar de los antecedentes existentes, en el presente estudio no se pudo establecer una asociación significativa con la edad, sexo y condición reproductiva del individuo (castrado o no castrado).

Los cánidos destinados a la caza o pastoreo también tienen mayor riesgo de infectarse al igual que aquellos que tiene acceso a aguas no potables probablemente por la exposición a un ambiente poco controlado (Sessions y Greene, 2004; Meeyam *et al.*, 2006; Azócar-Aedo *et al.*, 2014; Azócar-Aedo y Monti, 2016). Al tener nula supervisión de los animales cuando realizan sus actividades al aire libre estos pueden acceder a alimento o agua contaminada con la bacteria pudiendo contraer la enfermedad más fácilmente que aquellos caninos que pasean con correa.

Como demuestran los resultados del presente estudio, el acceso a agua no potable resultó ser un factor asociado significativamente a la seropositividad de los perros. En estudios nacionales en la Región de Los Ríos se describe que las fuentes de infección pueden existir en charcos, canaletas, recipientes, bebederos para animales, canales, ríos, e incluso el agua potable. Las muestras de los charcos y canaletas contienen niveles más altos de contaminación con *Leptospira spp.* que las muestras de pozos y el agua potable, sugiriendo estos estudios también una asociación positiva entre la presencia de charcos contaminados en los hogares y el aumento del número de señales de roedores, así como con la presencia de los perros, siendo los roedores la principal especie que mantiene el ciclo silvestre de *Leptospira spp.*, que van contaminando el suelo y agua por medio de su orina infectada, y

los perros los que transmiten la enfermedad a las personas (Muñoz-Zanzi *et al.*, 2014; Lelu *et al.*, 2015).

Se ha descrito también una relación positiva entre el hacinamiento y la seropositividad de los animales (Lelu *et al.*, 2015), esto puede ser debido al contacto directo ya sea entre los mismo perros como las cosas que comparten, ya sea alimento, agua, cama o lugares de descanso y deposiciones. Aunque en este estudio no se determinó hacinamiento como parámetro, si se observó que los perros de refugio fueron los que presentaron mayores reacciones positivas, lo que podría relacionarse al hacinamiento y otras condiciones de alojamiento al que estos perros están sometidos, como la circulación de roedores y acceso a agua no potable.

Leptospira interrogans es más común de encontrar en casas donde se mantiene ganado positivo a esta bacteria (Azócar-Aedo y Monti, 2016; Mason *et al.*, 2016), lo que concuerda con lo encontrado en este estudio en donde animales seropositivos tuvieron contacto con animales de granja. Además, se ha encontrado seropositividad en animales silvestres (Núñez, 2013; Moya, 2016) y en cautiverio (Medina-Vogel, 2013; Moreno-Beas *et al.*, 2015). El crecimiento de la urbanización a zonas suburbanas o rurales permite el contacto de los perros con animales silvestres que eventualmente podrían transmitir la bacteria a ellos (Azócar-Aedo y Monti, 2016). Esto se condice con el caso de la comuna de La Pintana que se caracteriza por su condición de peri-urbana con un alto número de parcelas con ganado de traspatio y de campamentos sin acceso a servicios básicos.

CONCLUSIÓN

En el presente estudio se encontró una frecuencia de presentación de 12,6% de perros positivos a *Leptospira*, siendo los serovares más frecuentes Canicola (10,08%) y Ballum (9,24%). Además se encontró una asociación positiva con conductas asociadas a tenencia responsable como vacunación séxtuple, contacto con animales de granja, contacto con roedores, paseos supervisados de los animales y consumo de agua no potable.

Nuestro rol como médicos veterinario es influir en las decisiones en cuanto a la salud pública debido nuestro estrecho vínculo con los animales de compañía. Es necesario generar programas de vigilancia epidemiológica en relación a enfermedades zoonóticas para resguardar la seguridad de las personas, siendo importante los estudios locales en la decisión de cuales son los serovares de elección de las vacunas que se utilizan.

El contagio de la bacteria hacia las mascotas puede tener implicancias económicas y de salud pública, debido al riesgo de transmisión de la enfermedad hacia los dueños de estas y a otros animales, por lo que es necesario aplicar medidas de prevención, además de continuar con más investigaciones para determinar las características epidemiológicas de la *Leptospira spp.* en caninos.

BIBLIOGRAFÍA

- ADLER, B.** 2015. *Leptospira and Leptospirosis*. Springer. Melbourne, Australia. 293 p.
- ANDRE-FONTAINE, G.** 2013. Diagnosis algorithm for leptospirosis in dogs: disease and vaccination effects on the serological results. *Vet. Rec.* 172: 502-509.
- AZÓCAR-AEDO, L.; SMITS, H.; MONTI, G.** 2014. Leptospirosis in dogs and cats: epidemiology, clinical disease, zoonotic implications and prevention. *Arch. Med. Vet.* 46: 337-348.
- AZÓCAR-AEDO, L.; MONTI, G.** 2016. MetaAnalyses of Factors Associated with Leptospirosis in Domestic Dogs. *Zoonoses Public Health.* 63: 328–336.
- ELLIS, W.** 2010. Control of canine leptospirosis in Europe: time for a change?. *Vet. Rec.* 167: 602-605.
- FUENZALIDA, F.** 2012. Vigilancia epidemiológica de zoonosis y enfermedades transmitidas por vectores. Chile, 2009 - 2010. [en línea]. < <http://www.veterinaria-agronomia-udla.cl/portales/tp290d66e66p22/uploadImg/File/vigilancia-epidemiologica-zoonosis-enfermedades-transmitidas-vectores2009-2012.pdf>> [consulta: 13-06-2016].
- GUALTIERI, C.; CARLÍN, C.; PERALTA, L.; PEIRONE, C.; GATTARELLO, V.; MARC, L.; MOLteni, H.; ARESTEGUI, M.; FRANÇOIS, S.** 2012. Evaluación clínica, bioquímica y hematológica de caninos seropositivos a distintos serovares de *Leptospira interrogans*. *InVet.* 14(2): 131-139.
- HART, B.; ECKSTEIN, R.** 1997. The role of gonadal hormones in the occurrence of objectionable behaviours in dogs and cats. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 52: 331-344.
- KLAASEN, E.; ADLER, B.** 2015. Recent advances in canine leptospirosis: focus on vaccine development. *J. Vet. Med. Res.* 6: 245–260.
- LEE, H.; LEVINE, M.; GUPTILL-YORAN, C.; JOHNSON, A.; VON KAMECKE, P.; MOORE, G.** 2014. Regional and Temporal Variations of *Leptospira* Seropositivity in Dogs in the United States, 2000–2010. *J. Vet. Intern. Med.* 28: 779–788.

- LELU, M.; MUÑOZ-ZANZI, C.; HIGGINS, B.; GALLOWAY, R.** 2015. Seroepidemiology of leptospirosis in dogs from rural and slum communities of Los Rios Region, Chile. *BMC Veterinary Research*. 11: 31.
- LEVETT, P.** 2001. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14(2): 296–326.
- LISBERG, A.; SNOWDON, C.** 2009. The effects of sex, gonadectomy and status on investigation patterns of unfamiliar conspecific urine in domestic dogs, *Canis familiaris*. *Anim. Behav.* 77: 1147–1154.
- LISBERG, A.; SNOWDON, C.** 2011. Effects of sex, social status and gonadectomy on countermarking by domestic dogs, *Canis familiaris*. *Anim. Behav.* 81: 757-764.
- LUNA, A.; MOLES, C.; GAVALDON, R.; NAVA, V.; SALAZAR, G.** 2008. La leptospirosis canina y su problemática en México. *Rev. Salud Anim.* 30(1): 1-11.
- MARTÍNEZ, P.; ORTEGA, D.; SALINAS, K.** 2012. Evolución de la leptospirosis según el Sistema de Vigilancia Epidemiológica Nacional, Chile 2003-2009. *Rev. Chilena Infectol.* 29(6): 648-654.
- MASON, M.; ENCINA, C.; SREEVATSAN, S.; MUÑOZ-ZANZI, C.** 2016. Distribution and Diversity of Pathogenic *Leptospira* Species in Peri-domestic Surface Waters from South Central Chile. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10(8): 1-16.
- MCKENZIE, B.** 2010. Evaluating the benefits and risks of neutering dogs and cats. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources.* 5(45): 1–18.
- MEDINA-VOGEL, G.** 2013. Emerging Infectious Diseases of Wildlife and Species Conservation. *Microbiol. Spectrum.* 1(2): 1-10.
- MEEYAM, T.; TABLERK, P.; PETCHANOK, B.; PICHPOL, D.; PADUNGTOD, P.** 2006. Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in dogs. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 37(1): 148-53.

MINISTERIO DE SALUD (MINSAL). 2004. Aprueba reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de declaración obligatoria. [en línea]. <<http://www.leychile.cl/navegar?idnorma=237770&idversion=2015-01-24>> [consulta: 05-02-2016].

MORENO-BEAS, E.; ABALOS, P.; HIDALGO-HERMOSO, E. 2015. Seroprevalence of nine *Leptospira interrogans* serovars in wild carnivores, ungulates, and primates from a zoo population in a Metropolitan Region of Chile. *J. Zoo Wildl. Med.* 46(4): 774–778.

MOYA, S. 2016. Detección de anticuerpos contra *Brucella canis* y *Leptospira* spp. en cánidos silvestres y domésticos de la Isla Grande de Tierra del Fuego, Región de Magallanes y Antártica Chilena. Tesis Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 45 pp.

MUÑOZ-ZANZI, C.; MASON, M.; ENCINA, C.; ASTROZA, A.; ROMERO, A. 2014. *Leptospira* Contamination in Household and Environmental Water in Rural Communities in Southern Chile. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 11: 6666-6680.

NÚÑEZ, C. 2013. Detección de *Leptospira* spp. en muestras de riñón y sangre del mustélido *Neovison vison*. Tesis Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 23 pp.

RODRIGUES, T.; CARVALHO, E.; ISAAC, L.; SILVA, A. 2015. *Leptospira* and Leptospirosis. **In:** *Molecular Medical Microbiology*. Second Edition. Elsevier. Londres, Reino Unido. pp. 1973 – 1990.

SCHREIBER, P.; MARTIN, V.; NAJBAR, W.; SANQUER, A.; GUEGUEN, S.; LEBREUX, B. 2005. Prevention of a severe disease by a *Leptospira* vaccination with a multivalent vaccine. *Revue Méd. Vét.* 156 (8-9): 427-432.

SESSIONS, J.; GREENE, C. 2004. Canine Leptospirosis: Epidemiology, Pathogenesis, and Diagnosis. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 26: 606-618.

SILVA, R.; RIEDEMANN, S. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con

las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. Arch. Med. Vet. 39(3): 269-274.

SLACK, A.; SYMONDS, M.; DOHNT, M.; SMYTHE, L. 2006. Identification of pathogenic *Leptospira* species by conventional or real-time PCR and sequencing of the DNA gyrase subunit B encoding gene. BMC Microbiology. 6: 95-105.

TUEMMERS, C.; LÜDERS, C.; ROJAS, C.; SERRI, M.; ESPINOZA, R.; CASTILLO, C. 2013. Prevalencia de leptospirosis en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, 2011. Rev. Chilena Infectol. 30(3): 252-257.

WARD, M.; GLICKMAN, L.; GUPTILL, L. 2002. Prevalence of and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970–1998). J. Am. Vet. Med. Assoc. 220 (1): 53-58.

WILSON, S.; STIRLING, C.; THOMASA, A.; KING, V.; PLEVOVÁ, E.; CHROMÁ, L.; SIEDEK, E.; ILLAMBAS, J.; SALT, J.; STURE, G. 2013 (a). Duration of immunity of a multivalent (DHPPi/L4R) canine vaccine against four *Leptospira* serovars. Vaccine. 31: 3126– 3130.

WILSON, S.; STIRLING, C.; THOMASA, A.; KING, V.; PLEVOVÁ, E.; CHROMÁ, L.; SIEDEK, E.; ILLAMBAS, J.; SALT, J.; STURE, G. 2013 (b). A new multivalent (DHPPi/L4R) canine combination vaccine prevents infection, shedding and clinical signs following experimental challenge with four *Leptospira* serovars. Vaccine. 31: 3131– 3134.

ANEXO 1

Número de casos por año de Leptospirosis notificados por el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Obligatorias en Chile desde el año 2003 al año 2010.

AÑO	NÚMERO DE CASOS
2003	27
2004	18
2005	27
2006	28
2007	18
2008	6
2009	13
2010	5
TOTAL DE CASOS	142

Fuente: Fuenzalida, 2012; Martínez *et al.*, 2012.

ANEXO 2

Consentimiento Informado

Objetivo de la investigación: El propósito del presente estudio es determinar la presencia de anticuerpos a diversos serovares de *Leptospira spp.* los cuales pueden o no estar presentes debido a la vacunación periódica de su perro.

Procedimiento: Durante su visita al veterinario se le tomará una muestra de sangre a su perro. Esta muestra se tomará solo una vez y solo puede causar un poco de incomodidad en su mascota. Luego las muestras serán enviadas a un laboratorio para su posterior diagnóstico. Además se le harán preguntas rutinarias respecto al manejo de su mascota.

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

Beneficios y riesgos de participar en el estudio: Los sujetos participantes contribuirán a ampliar el conocimiento sobre los serovares de *Leptospira spp.* presentes en la zona y sobre la efectividad de los planes de vacunación. El análisis de sangre no tendrá ningún costo adicional para el propietario.

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

Institución patrocinante: El presente estudio, forma parte del proyecto de tesis de un estudiante de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

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

Identificación del dueño:

Nombre:
Rut:
Fono:
Firma:

Identificación del investigador:

Tamara Tadich Gallo
RUT: 13.846.907-7
Fono: 90899101



Fecha:

ANEXO 3



CERTIFICADO N° 79

Santiago, 18 de agosto del 2016

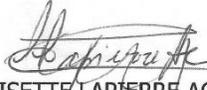
El Comité de Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, ha revisado proyecto de memoria de título: "Frecuencia de presentación de sueros positivos a *Leptospira* spp. en perros de la comuna de la Pintana" cuya profesora guía es la Dra. Tamara Tadich G, académica de FAVET.

La toma de muestra se realizará en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Chile (FAVET), y su análisis, se realizará en un laboratorio privado.

Respecto al trabajo en FAVET:

- 1.- El memorista recibirá una inducción en normas de bioseguridad. Se utilizará vestimenta adecuada para realizar el trabajo con los animales.
- 2.- El manejo de los perros será realizado por memorista con la supervisión de médicos veterinarios especialistas en clínica menor.
- 3.- Todo el material corto punzante utilizado será eliminado en contenedores apropiados (EDLAB) y entregados a una empresa para su correcta eliminación final.

Este proyecto fue revisado por el comité de bioseguridad en base a las especificaciones contenidas en el "Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, de la Organización Mundial de la Salud (versión 2005)" y el "Manual de Bioseguridad de Conicyt" (versión 2008), que previenen los riesgos para las personas, los animales y el medioambiente.


LISETTE LAPIERRE ACEVEDO
Coordinadora
Comité de Bioseguridad

