SEROPREVALENCIA DE *Leptospira* PATÓGENA, SEROGRUPOS INFECTANTES Y TÍTULOS DE ANTICUERPOS DETECTADOS EN EQUINOS DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS, SUR DE CHILE

SEROPREVALENCE OF PATHOGENIC *Leptospira*, INFECTING SEROGROUPS AND ANTIBODY TITERS DETECTED IN HORSES FROM LOS LAGOS REGION, SOUTHERN CHILE

Tecsia Moreno^{1a}, René Ramírez^{1b} y Lucía Azócar-Aedo^{1c*}

- ^{1a} Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, dirección postal 5480000, Puerto Montt, Chile https://orcid.org/0009-0002-8160-3278
- ^{1b} Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, dirección postal 5480000, Puerto Montt, Chile https://orcid.org/0009-0003-2555-4413
- ^{1c} Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, dirección postal 5480000, Puerto Montt, Chile https://orcid.org/0000-0002-1602-9866
- * Autor de correspondencia: lucia.azocara@uss.cl

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica bacteriana desatendida de distribución mundial. En caballos (Equus caballus) puede ser asintomática o provocar problemas reproductivos, abortos o uveítis recurrente. Se determinó la seroprevalencia de Leptospira patógena, serogrupos causantes de reacciones serológicas y títulos de anticuerpos en caballos de la Región de Los Lagos, sur de Chile. Se analizaron 51 muestras de suero mediante la Prueba de Aglutinación Microscópica con un panel de ocho serogrupos de Leptospira. Se consideraron reaccionantes a animales con títulos iguales o mayores a 1:100. Se determinó una seropositividad del 68,6% (IC 95%=61,5-75,7) (35/51). Tarassovi fue el serogrupo detectado con mayor frecuencia (71,4%), seguido de Grippotyphosa (8,6%), Autumnalis (5,7%) y Sejroe (2,9%), observándose coaglutinaciones entre serogrupos (11,4%). Los títulos de anticuerpos oscilaron entre 1:100 y 1:1600, siendo los más frecuentes 1:200 (31,4%) y 1:400 (34,3%). Hubo una mayor seropositividad en machos (71,4%) y entre los animales positivos, la razón macho:hembra fue 25:10. Se concluye que la seropositividad y exposición a Leptospira patógena está presente en caballos de la región de Los Lagos, sur de Chile, con una alta seroprevalencia y exposición. Es necesario aumentar la atención para la leptospirosis en los propietarios y en aquellas personas que trabajan y tienen contacto con estos animales, debido al potencial zoonótico y a las probables consecuencias de la infección. Se requieren más estudios para determinar otras características demográficas de los animales seropositivos y dilucidar el papel que pueden tener los caballos como posibles centinelas de la exposición a Leptospira a nivel local y en el país.

Palabras clave: Leptospira, caballos, serología, seropositividad, serogrupos, Chile.

Recibido: 25 de abril de 2024 Aceptado: 30 de julio de 2024

ABSTRACT

Leptospirosis is a neglected bacterial zoonotic disease with worldwide distribution. In horses (Equus caballus), it can be an asymptomatic pathology or cause reproductive problems, abortions, or recurrent uveitis. The present study determined the seroprevalence of pathogenic Leptospira, serogroups causing serological reactions and antibody titers in horses from Los Lagos Region in southern Chile. A total of 51 serum samples were analyzed using the Microscopic Agglutination Test with a panel of eight Leptospira serogroups. Animals with titres equal or higher than 1:100 were considered as serological reactors. A seropositivity of 68.6% (IC 95%=61.5-75.7) (35/51) was determined. Tarassovi was the most frequently detected serogroup (71.4%), followed by Grippotyphosa (8.6%), Autumnalis (5.7%), and Sejroe (2.9%), while coagglutinations between serogroups were also noted (11.4%). Antibody titers ranged between 1:100 and 1:1600 and the most frequent levels were 1:200 (31.4%) and 1:400 (34.3%). A higher seropositivity was observed in males (71.4%) and the male-female ratio among seropositive animals was 25:10. It is concluded that pathogenic Leptospira is present in horses from Los Lagos regions in southern Chile with a high seroprevalence and exposure. An increase of awareness regarding leptospirosis is needed by owners and those people who work and have contact with these animals, due to the zoonotic potential and the probable consequences of the infection. More studies are required to determine other demographic characteristics of seropositive animals and to elucidate the role that horses may play as possible sentinels of exposure to Leptospira at local and country levels.

Keywords: Leptospira, horses, serology, seropositivity, serogroups, Chile.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica reemergente de importancia mundial (Romero-Vivas y Falconar, 2016). Es causada por espiroquetas del género *Leptospira*, existiendo una gran divergencia serológica del agente con más de 300 serovariedades organizados en 30 serogrupos (OIE, 2022).

Las leptospiras colonizan los túbulos renales proximales de los hospedadores y se eliminan al medio ambiente a través de la orina (Costa et al., 2015). Las aguas y suelos contaminados con orina son fuentes comunes de exposición en los huéspedes susceptibles y distintos animales domésticos y silvestres pueden ser reservorios de la bacteria, aunque los roedores son considerados como los principales hospederos (Andersen et al., 2016; Cilia et al., 2021).

La leptospirosis es un problema de salud mundial debido a su creciente pública prevalencia en países desarrollados y en vías de desarrollo, por su potencial epidémico y su carga socioeconómica. En los animales afecta la reproducción, la producción y la economía del sector agropecuario. También es un problema en el medio ambiente por su distribución global y porque el agua facilita el crecimiento, mantenimiento y transmisión de la bacteria. No obstante, la enfermedad se considera frecuentemente olvidada y desatendida (Garba et al., 2018; Bouscaren et al., 2019; Urbanskas et al., 2022). En humanos y animales genera cuadros clínicos que varían de leves a graves, con mortalidad en algunos casos (Coburn et al., 2021).

En equinos la leptospirosis se presenta con frecuencia de forma subclínica (Ellis, 2015), sin embargo, la bacteria puede afectar los riñones, tejidos placentarios, el feto y el sistema ocular. Las infecciones intrauterinas en yeguas preñadas pueden provocar abortos, enfermedades neonatales o el nacimiento de potros sanos, pero serológicamente positivos. Las leptospiras se encuentran en la placenta, hígado, riñón y otros tejidos de la cría y los abortos se producen generalmente a las 2 a 4 semanas después de que la hembra contrae la infección (Divers et al., 2019). La uveítis recurrente ("oftalmia periódica" o "ceguera de la luna") es considerada una enfermedad autoinmune asociada a la infección leptospiral v cursa con inflamación intraocular y dolor después de la infección aguda pudiendo derivar en ceguera (Malalana et al., 2017), constituyendo un problema económico importante en medicina de equinos en el mundo (Divers et al., 2019).

La leptospirosis es una enfermedad de interés en equinos y su frecuencia de presentación es desconocida en muchas áreas geográficas (Nogueira y Lilenbaum, 2022). Es un problema que ocurre en la interfase animal-humanoambiente por lo cual es importante contar con información epidemiológica actualizada en las diferentes especies de animales que presentan susceptibilidad (Pal et al., 2021). Estudios epidemiológicos sobre leptospirosis en equinos en Chile basados en serología con la prueba de Aglutinación Microscópica (MAT) dan cuenta que la frecuencia de presentación varía. En la zona

central de Chile se determinó una seroprevalencia de un 30,6% en caballos de tiro y de un 23,3% en caballos del ejército (Tadich et al., 2015) y otro estudio en Linares, estimó una seroprevalencia de un 65,4% (Troncoso et al., 2021).

Los objetivos del presente estudio son: 1) determinar la seroprevalencia de *Leptospira* patógena en una muestra de caballos de la Región de Los Lagos, en el sur de Chile; 2) identificar los serogrupos más frecuentes en los animales muestreados; 3) cuantificar títulos de anticuerpos contra *Leptospira* patógena y, 4) asociar la seropositividad al sexo (macho-hembra) del equino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio y localización

Esta investigación corresponde a un estudio observacional transversal, descriptivo y cuantitativo (Hernández et al., 2010).

El estudio se realizó en la Región de Los Lagos, sur de Chile, que se ubica entre 40°15′ y los 44°14′ de latitud sur. Esta región cuenta con una superficie de 48.583,60 kilómetros cuadrados y se caracteriza por la presencia de lagos, ríos y vegetación dada principalmente por el bosque lluvioso. El clima es templado oceánico o lluvioso, con ausencia de período seco (Biblioteca del Congreso Nacional, 2023).

Muestra en estudio

Se utilizó una muestra de 51 caballos (*Equus caballus*), donde 18 de ellos fueron pacientes del Hospital Clínico Veterinario de animales mayores de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, Puerto Montt, mientras que los restantes 23 pertenecieron a una población de caballos que a voluntad de sus propietarios decidieron participar en el estudio donde se incluyeron tanto machos como hembras de todas las edades. Cada propietario estuvo de acuerdo con participar en el estudio y firmó un consentimiento informado en donde autorizaba la recolección de la muestra de sangre en sus animales.

El tamaño muestral fue calculado a través de la plataforma Working in Epidemiology (WinEpi) (De Blas et al., 2006). La población de equinos en la Región de Los Lagos, Chile es de 9.749 ejemplares (INE, 2021). Tomando en cuenta una prevalencia esperada del 50,0%, un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 15%, el tamaño muestral mínimo estimado fue de 43 animales.

Recolección de muestras

La recolección de muestras se realizó desde diciembre de 2022 hasta abril de 2023, en donde se tomaron muestras individuales de 5 mL de sangre a través de venopunción yugular, las cuales se mantuvieron a temperatura ambiente en tubos sin anticoagulante por 24-48 h para esperar la formación del coágulo y obtener del suero sanguíneo por centrifugación, el cual se congeló a -17°C.

Diagnóstico serológico mediante la prueba MAT

Se empleó la prueba MAT para determinar el serogrupo causante de la reactividad serológica y la presencia de anticuerpos anti *Leptospira* patógena con su posterior titulación (Faine et al., 1999; WHO-ILS, 2003).

Se utilizó un panel de ocho serovariedades y serogrupos, pertenecientes a tres especies de Leptospira patógena: Leptospira interrogans serovariedad Hardio (serogrupo Seiroe), Pomona (serogrupo Pomona), Canicola (serogrupo Canicola), Ballum (serogrupo Ballum), Icterohaemorrhagiae (serogroupo Icterohaemorrhagiae), Autumnalis (serogroupo Autumnalis), Bratislava (serogrupo Australis), Leptospira borgpetersenii serovariedad Tarassovi (serogrupo Tarassovi) y Leptospira kirschneri serovariedad Grippotyphosa (seroroupo Grippotyphosa).

Los títulos de anticuerpos fueron: 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 y 1:1.600. Se consideró al título de anticuerpos más alto en cada muestra positiva como el causante de la reactividad serológica y títulos de anticuerpos iguales frente a diferentes serogrupos se catalogaron como coaglutinaciones (Silva y Riedemann, 2007).

Análisis de datos

La seropositividad o seroprevalencia fue calculada con una fórmula (modificada) (Dohoo et al., 2003): Número de individuos positivos a prueba MAT/ Número de individuos sometidos a la prueba diagnóstica MAT.

Adicionalmente se calcularon los Intervalos de Confianza del 95% (IC 95%) para la seroprevalencia con la fórmula: Prevalencia ⊚ 1,96 * √ [(Prevalencia*(1 - Prevalencia) /Tamaño muestral] (Noordiuzen et al, 2007).

Se estimaron frecuencias absolutas y relativas para presentar los resultados de los serogrupos/serovariedades y la cuantificación de títulos de anticuerpos. La relación macho: hembra se determinó valorando la razón o cociente entre animales seropositivos machos y animales seropositivos hembras.

Se realizó la prueba de Chi-cuadrada para comparar proporciones con corrección de Yates con un valor p menor a 0,05 como significancia estadística (Romero, 2011), con las aplicaciones de EpiInfo versión 6.04 (Center for Disease Control [CDC], 2022).

Aspectos éticos

El proyecto de investigación del cual se desprende este estudio (VRID FAPPE 22-04), contó con la aprobación del Comité Institucional de Ética en Cuidado y Uso de Animales, Universidad San Sebastián, Chile, año 2022 (código de aprobación 015-22).

RESULTADOS

Seroprevalencia de Leptospira patógena

De un total de 51 muestras serológicas recolectadas, 35 resultaron positivas al análisis mediantela prueba MAT presentando anticuerpos anti-*Leptospira* patógena, lo que corresponde a una seropositividad o seroprevalencia del 68,6% (IC 95%=61,5-75,7%).

Serogrupos más frecuentes de *Leptospira* patógena en los animales positivos

En las 35 muestras positivas se detectó seropositividad para cinco de los serogrupos incluidos en el panel de MAT, siendo Tarassovi (71,4%) el más frecuente seguido de Grippotyphosa (8,6%), Autumnalis (5,7%) y Sejroe (2,9%), con coaglutinaciones en un 11,4% de las muestras (Fig. 1). No se observaron

diferencias estadísticamente significativas entre estas proporciones (p mayor a 0,05). Las coaglutinaciones fueron entre los serogrupos Tarassovi-Grippotyphosa (2 muestras), Hardjo-Tarassovi (1 muestra) y Canicola-Grippotyphosa (1 muestra).

Un 20,0% de los animales reaccionantes presentó seropositividad para un solo serogrupo de *Leptospira*. En un 14,3% se observó positividad para dos serogrupos, mientras que en un 40,0% y un 25,7% de las muestras se detectó seropositividad para tres y cuatro o más serogrupos respectivamente (Fig. 2). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estas proporciones (p mayor a 0,05).

Títulos de anticuerpos contra Leptospira patógena

La mayor frecuencia correspondió a títulos de 1:400 (34,3%) y 1:200 (31,4%). Títulos de 1:800 y 1:1600 se presentaron en un 14,3% de los animales seropositivos respectivamente. Sólo en un 5,7% de los positivos se encontraron títulos de 1:100 (Fig. 3), no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre estas proporciones (p mayor a 0,05).

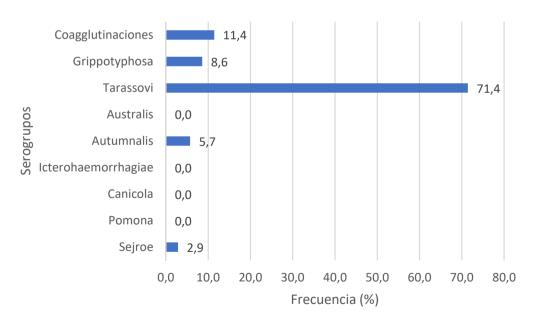
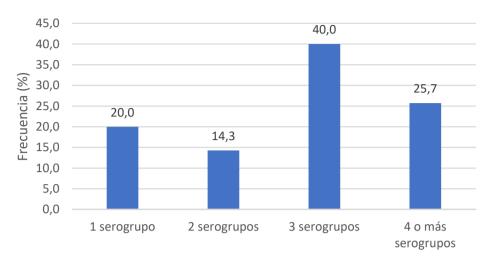


Fig. 1. Frecuencia de presentación (%) de seropositividad a serogrupos de *Leptospira* patógena en equinos de la Región de Los Lagos, Chile, año 2023.

Fig. 1. Frequency (%) of seropositivity to pathogenic *Leptospira* serogroups in horses from Los Lagos Region, Chile, year 2023.



Positividad a diferente número de serogrupos

Fig. 2. Frecuencia de presentación (%) de co-infección para distintos serogrupos de *Leptospira* patógena en equinos de la Región de Los Lagos, Chile, año 2023.

Fig. 2. Frequency (%) of coinfection for different pathogenic *Leptospira* serogroup in horses from Los Lagos Region, Chile, year 2023.

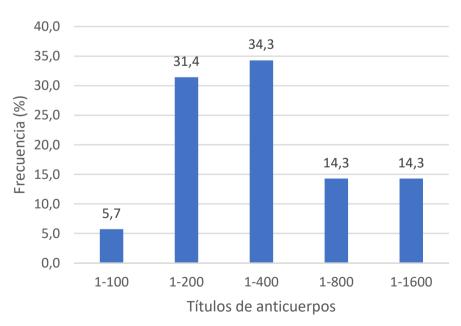


Fig. 3. Frecuencia de presentación de títulos de anticuerpos contra *Leptospira* patógena en equinos de la Región de Los Lagos, Chile, año 2023.

Fig. 3. Frequency of presentation of antibody titers for pathogenic *Leptospira* in horses from Los Lagos Region, Chile, year 2023.

Asociación de la seropositividad a *Leptospira*

equino

Se presentó una mayor frecuencia en machos en un total de 25 de las 35 muestras positivas (71,4%), mientras que 10 sueros reaccionantes fueron de hembras (28,6%) (Fig. 4). No hubo diferencias estadísticamente significativas (p mayor a 0,05). La relación macho-hembra fue de 25:10.

patógena con el sexo (macho-hembra) del

DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de *Leptospira* patógena en una muestra de 51 equinos de la Región de Los Lagos en el sur de Chile a través de la Prueba MAT y detectar los serogrupos implicados en las reacciones serológicas, además de cuantificar títulos de anticuerpos y establecer la relación macho:hembra entre los animales seropositivos. Se determinó una elevada seropositividad, la más alta reportada hasta el momento en equinos en el país, lo que implica que se debe aumentar la atención dada a la enfermedad desde el punto de vista epidemiológico, como también en medicina de equinos y en salud pública.

En Chile, la leptospirosis en humanos es una enfermedad de notificación obligatoria. En el último informe epidemiológico disponible de la enfermedad entregado por el Ministerio de Salud del año 2021 se notificaron 9 casos (tasa de incidencia de 0,05 por 100.000 habitantes) y los casos se presentaron en las regiones del centro y sur del país (MINSAL, 2021). En

animales domésticos y silvestres, existen estudios principalmente con serología y una menor cantidad utilizando pruebas diagnósticas directas como PCR, inmunofluorescencia y cultivo bacteriológico (Azócar-Aedo, 2023). Se han realizado investigaciones en animales domésticos como caninos (Tuemmers et al., 2013; Lelu et al., 2015; Azócar-Aedo y Monti, 2022), felinos (Azócar-Aedo et al., 2014; Dorch et al., 2020), bovinos (Salgado et al., 2014; Monti et al., 2023), zorros culpeo y zorros chilla (Moya et al., 2019) y diferentes especies de mamíferos y aves silvestres (Balcázar et al., 2024).

Autores como Hammond et al. (2013) han sugerido que los caballos juegan un papel en la transmisión de leptospirosis en zonas urbanas propagando el agente en el medio ambiente, por lo que es necesario realizar estudios epidemiológicos en esta especie. En Chile, la presente investigación es la primera que se realiza en la zona sur austral demostrándose que 35 de 51 equinos estuvieron expuestos a Leptospira spp., con una seropositividad de un 68,63%, resultado que es más alto comparado con estudios realizados anteriormente en el país, en donde han estimado seroprevalencias de un 35,0% en la Región de la Araucanía (Tuemmers et al., 2021) y de un 65,4% en Linares (Troncoso et al, 2013). A la vez, Tadich et al. (2016) establecieron una seropositividad del 30,63% en caballos de tiro y 23,31% en caballos del ejército en la zona central del país y Tapia (2014) en la Región Metropolitana estimó una prevalencia de un 33,33% en caballos de tiro urbano.

El sur de Chile presenta condiciones ambientales y ecológicas que favorecen la

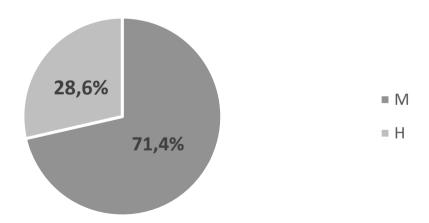


Fig. 4. Seropositividad asociada al sexo (macho o hembra) de los caballos muestreados. Región de Los Lagos, Chile, año 2023.

Fig. 4. Seropositivity associated to sex (male of female) of sampled horses. Los Lagos Region, Chile, year 2023.

presentación y sobrevivencia de las leptospiras (Azócar-Aedo y Monti, 2022), lo que podría explicar la elevada seroprevalencia estimada en el presente estudio. Factores como temperaturas cálidas en verano, humedad, pH neutro en el suelo y agua superficial estancada, aumentan las probabilidades de infección (Simbizi et al., 2016). El clima lluvioso genera suelos húmedos y en los últimos años se ha registrado un alza en las temperaturas, lo que favorece la sobrevivencia de la bacteria y en la mayoría de los casos, la leptospirosis se propaga después de inundaciones o lluvias intensas (Azócar-Aedo y Monti 2022; Urbanskas et al., 2022). A esto se debe sumar la exposición a reservorios como los roedores (por ejemplo, Rattus norvergicus), cuya presencia constituye un factor de riesgo para la infección por Leptospira (Haake y Levett, 2015). También es relevante mencionar que la Región de Los Lagos posee una alta población de fauna silvestre y un estudio reciente en esta zona determinó la presencia de anticuerpos anti-Leptospira en varias especies de mamíferos como zorros chillas (Lycalopex griseus) pudús (Pudu puda), guiñas (Leopardus guigna) y aves silvestres como pingüinos magallánicos (Spheniscus magellanicus), bandurrias (*Theristicus melanopis*) y loros choroy (Enicognathus leptorhynchus) con seropositividad frente a los serogrupos Tarassovi, Grippotyphosa y Sejroe (Balcázar et al., 2024).

En una revisión sistemática en Latinoamérica se determinó que la infección por Leptospira está muy extendida en animales domésticos de la región y aparentemente es más común en caballos que en las otras especies, pero a pesar de esto existe limitada información sobre leptospirosis en equinos a nivel mundial (Pinto et al., 2017; Toriz-Suárez et al., 2021). Sin embargo, algunas investigaciones dan cuenta de seropositividades similares a este estudio, como por ejemplo en caballos en el norte de Italia (67,2%) (Vera et al., 2019) o bien prevalencias mayores como las reportadas en Colombia (85,0%) (Calderón et al., 2019), en Colorado, EE.UU. (82,0%) (Fagre et al., 2020) o en el sur de Brasil (75,8%) (Finger et al., 2014). También se han estimado frecuencias más bajas como en caballos árabes en Polonia (33,2%) (Wasinski et al., 2021), en el noreste de Brasil (28,0%) (Alves et al., 2016), en caballos de carrera y de cría pura sangre en Nueva Zelanda (25,0%) (Bolwell et al., 2020) y en un grupo de equinos en Alemania (17,2%) (Pikalo et al., 2016), lo que denota las diferencias en las frecuencias de presentación de la infección por Leptospira dependiendo del área geográfica en que se realice el estudio, pero en general se evidencian prevalencias mayores al 10%.

Se detectaron varios serogrupos implicados

en las reacciones serológicas en los equinos muestreados. Se obtuvo mayor seropositividad para el serogrupo Tarassovi (71,4%) seguido en forma decreciente Grippotyphosa (8,6%), Australis (5,7%) y Sejroe (2,9%), además de una proporción considerable de coaglutinaciones (11,4%) (Fig. 1), es decir, títulos iguales frente a diferentes serovariedades. Además, se observó la presencia de seropositividad a más de una serovariedad en la mayoría de las muestras con reacción serológica (seropositividad a 2, 3 o 4 serovariedades); lo que indica la alta frecuencia de coinfecciones y diversidad de infección con distintos serogrupos (Fig. 2). La serología, principalmente la prueba MAT, es adecuada para detectar títulos de inmunoglobulinas IgM e IgG (OIE, 2022) y su valor diagnóstico reside en la cuantificación del nivel de anticuerpos y en su capacidad para predecir los serogrupos circulantes, lo cual es relevante en epidemiología porque se puede inferir el posible reservorio animal desde donde puede provenir la infección (Stoddard et al., 2020; Di Azevedo y Lilenbaum., 2020). La identificación de los hospedadores de mantención y su asociación con las especies animales cobra importancia al estudiar la epidemiología de la leptospirosis en un área geográfica determinada para proponer medidas de prevención y control (Romero-Vivaz y Falconar, 2016).

La alta frecuencia de presentación de la serovariedad/serogrupo Tarassovi se puede relacionar con la presencia de cerdos. Cilia et al. (2020) han confirmado a los cerdos como hospedadores de mantención para esta serovariedad y además describe que está relacionado con jabalíes. De igual manera, los ratones se han propuesto como reservorio de la serovariedad Grippotyphosa y se ha encontrado seropositividad asociada a este serogrupo en diferentes estudios en bovinos (Soares et al., 2020). Es importante mencionar también que durante los últimos años en Chile ha existido una alta migración de familias desde la cuidad al campo. Muchos de estos nuevos hogares están utilizando territorio que era habitado por la fauna silvestre, lo que explicaría también el alto porcentaje de infección por serovariedades de Leptospira con reservorios de vida silvestre (SAG, 2023).

Las serovariedades/serogrupos detectados en este estudio en general difieren de los mencionados en otras investigaciones en equinos en Chile. Por ejemplo, Troncoso et al. (2013) evidenciaron en la zona de Linares una mayor seropositividad para Autumnalis, Bratislava y Canicola. En el estudio de Tadich et al. (2016), Ballum y Canicola reaccionaron con mayor seropositividad en caballos de trabajo urbano,

mientras que en el grupo de caballos del ejército fue Autumnalis seguido de Ballum. Tapia (2014) determinó reacciones serológicas principalmente para Ballum, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Autumnalis en equinos de tiro urbano de comunas de la Región Metropolitana (Chile). Dentro de las razones que pueden explicar estas diferencias se encuentran la divergencia en los paneles de serovariedades/serogrupos utilizados en la prueba MAT entre cada estudio. De acuerdo con Jayasundara et al. (2021), el uso de un panel de MAT optimizado con cepas circulantes a nivel local se considera esencial para el correcto desempeño e interpretación de los resultados de esta prueba.

La mayoría de los equinos positivos presentó títulos de anticuerpos de 1:200 (31,4%) y 1:400 (34,3%) (Fig. 3), lo cual coincide con otras investigaciones realizadas en Chile. En el estudio de Troncoso et al, (2013), se presentaron equinos reaccionantes serológicos con títulos de 1:100, seguidos de 1:400. Tadich et al. (2015) observaron títulos bajos de anticuerpos en ambos grupos de equinos muestreados con títulos de 1:100 y 1:200, pero con algunos títulos más altos en el grupo de equinos de trabajo urbano (1:400). En el estudio de Tapia (2014), se detectaron reacciones serológicas frecuentes de títulos de 1:200 seguidas de 1:100 y 1:400. Se señala que un aumento de cuatro veces en el título de anticuerpos en muestras pareadas constituye un diagnóstico definitivo de leptospirosis en equinos (Verma et al., 2013). Sin embargo, se requieren más investigaciones para establecer la dinámica de la respuesta inmune de la infección por *Leptospira* en esta especie, lo cual podría llevarse a cabo a través de estudios prospectivos longitudinales con diseño de cohorte.

En relación al sexo, se encontró mayor positividad en machos con un 71,4%, en comparación con un 28,6% en hembras (Fig. 4). Esta diferencia puede deberse a que en esta investigación se muestrearon más machos que hembras (32 y 19, respectivamente). Troncoso et al. (2013) en Linares, Chile se observó mayor positividad hembras, al igual que en estudios en Brasil (Da Silva et al., 2020) y Alemania (Pikalo et al., 2016). Se requieren más investigaciones para determinar si el sexo constituye un factor asociado a la presentación de seropositividad a Leptospira y/o de enfermedad clínica.

De acuerdo con Díaz et al. (2023), los equinos podrían actuar como centinelas para la detección de la frecuencia de leptospirosis en un área geográfica determinada; como también para establecer las serovariedades y serogrupos circulantes y para determinar las especies animales frecuentes que intervienen como reservorios.

Dada la alta seroprevalencia encontrada en esta investigación, estas afirmaciones aplican para los equinos de la Región de Los Lagos en el sur de Chile.

Tomando en cuenta que la prevención eficaz requiere un enfoque interdisciplinario para comprender la forma en que las leptospiras interactúan con los hospedadores incidentales, el medio ambiente y los reservorios u hospedadores de mantención, es necesario fomentar la realización de investigaciones para tener un mejor conocimiento de la enfermedad, el agente etiológico, los factores de riesgo biológicos, socioeconómicos, culturales y la participación del enfoque One Health (Hernández-Rodríguez y Trujillo-Rojas, 2022; Vincent et al., 2019). De acuerdo con Di Azevedo y Lillembaum (2020), en estas investigaciones, los métodos moleculares pruebas diagnósticas que complementar los resultados de la serología. De igual forma, sería importante realizar un estudio basado en serología en médicos veterinarios y personas que trabajen en estrecho contacto con equinos, para tener una visión más amplia sobre la implicancia de la enfermedad desde el punto de vista de la salud pública.

Una posible limitación de este estudio es el tamaño muestral utilizado (n=51), sin embargo, se pudo determinar que equinos de la Región de Los Lagos presentan anticuerpos anti-Leptospira y están expuestos a la bacteria, por lo que la enfermedad debe ser tomada en cuenta en medicina equina por los potenciales casos clínicos que podrían presentarse, como también por su importancia zoonótica.

CONCLUSIONES

Se confirma que los equinos de la Región de Los Lagos están expuestos a la infección por Leptospira patógena con una seropositividad de 68,6%, siendo la más alta reportada hasta ahora en Chile.

Los serogrupos con mayor reactividad serológica fueron Tarassovi y Grippotyphosa, existiendo una alta probabilidad que cerdos, animales silvestres y roedores sean una fuente de infección; conocer esto permite tomar medidas estratégicas de prevención y control y reducir el contacto de los equinos con estos animales.

Los títulos de anticuerpos más frecuentes fueron 1:200 y 1:400, los cuales se relacionan con una exposición frente a Leptospira. Se debe aumentar la atención a posibles casos de leptospirosis clínica que pudieran presentarse.

Se presentó mayor seropositividad a *Leptospira* patógena en caballos machos.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés en la realización de esta investigación.

Financiamiento

Esta publicación contó con el apoyo financiero de la Vicerrectoría de Investigación y Doctorados de la Universidad San Sebastián, Chile - proyecto VRID_FAPPE 22/04.

Contribuciones de los autores

Revisión bibliográfica: Tecsia Moreno, René Ramírez, Lucía Azócar-Aedo.

Elaboración de la metodología: Tecsia Moreno, René Ramírez, Lucía Azócar-Aedo.

Discusión de los resultados: Tecsia Moreno, René Ramírez, Lucía Azócar-Aedo.

Revisión y aprobación de la versión final del artículo: Tecsia Moreno, René Ramírez, Lucía Azócar-Aedo.

LITERATURA CITADA

- Alves, J., K, Silva., D, Figueiredo., D, Gómez., S, Dos Santos., C, Alves., C, Batista, and S. Santos. 2016. Epidemiological characterization of leptospirosis in horses in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. Arquivos do Instituto Biológico 83: 1-5. https://doi.org/10.1590/1808-1657001032014
- Andersen, E., C, Pipper, and P. Jensen. 2016. Global patterns of *Leptospira* prevalence in vertebrate reservoir hosts. Journal of Wildlife Diseases 52(3): 468-477. https://doi.org/10.7589/2014-10-245.
- Azócar-Aedo, L., G, Monti, and R. Jara. 2014. Leptospira spp. in domestic cats from different environments: prevalence of antibodies and risk factors associated with the seropositivity. Animals 4: 612-626. https://doi:10.3390/ani4040612
- Azócar-Aedo, L., and G. Monti. 2022. Seroprevalence of pathogenic *Leptospira spp.* in domestic dogs from southern Chile and risk factors associated with different environments. Preventive Veterinary Medicine 206. https://doi.org/10.1016/j. prevetmed.2022.105707
- Azócar-Aedo, L. 2023. Basic aspects and epidemiological studies on leptospirosis carried out in animals in Chile: a bibliographic review. Tropical Medicine and Infectious Diseases 8: 97. https://doi.org/10.3390/tropicalmed8020097.

- Balcázar, L., L, Azócar-Aedo, V, Barrera., G, Meniconi., V, Muñoz, and C. Valencia-Soto. 2024. Detection of antibodies for pathogenic *Leptospira* in wild mammals and birds from southern Chile first record of seropositivity in a guiña (*Leopardus guigna*). Animals 14:601. https://doi.org/10.3390/ani14040601
- Biblioteca del Congreso Nacional. 2023. Región de Los Lagos. Disponible en https://www.bcn.cl/siit/nuestropais/region10
- Bolwell, C., C, Rogers., J, Benschop., J, Collins-Emerson., B, Adams., K, Scarfe, and E. Gee. 2020. Seroprevalence of *Leptospira* in racehorses and broodmares in New Zealand. Animals 23:10. https://doi:10.3390/ ani10111952.
- Bouscaren, N., C, Benoit de Coignac., S, Lastère., S, Musso., Y, Teissier., Y, Formont., F, Chaix and, M. Giard. 2019. Leptospirosis in French Polynesia: 11 years of surveillance data, 2007-2017. New Microbes and New Infections 29. https://doi:10.1016/j.nmni.2019.100518
- Calderón, J., M, Astudillo, and M. Romero. 2019. Epidemiological characterization of *Leptospira spp*. infection in working horses and in an occupationally exposed population in six Colombian police stations. Biomedica 1(39): 19-34. https://doi:10.7705/biomedica. v39i1.4475.
- Center for Diseases Control (CDC) 2023. Epi Info en español. Disponible en https://www.cdc.gov/epiinfo/esp/es_index.html
- Cilia, G., F, Bertelloni., S, Albini, and F. Fratini. 2021. Insight into the epidemiology of leptospirosis: a review of *Leptospira* isolations from "unconventional" hosts. Animals 11: 191. https://doi:10.3390/ani11010191.
- Coburn, J., M, Picardeau., C, Woods., T, Veldman, and D. Haake. 2021. Pathogenesis insights from an ancient and ubiquitous spirochete. PLoS Pathogens 17(10). https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009836
- Costa, F., J, Hagan., J, Calcagno., M, Kane., P, Torgerson, and M. Martínez-Silveira. 2015. Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. PLoS Neglected Tropical Diseases 9:9. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003898.
- Da Silva, A., A, Jaguezeski., I, Fabris., A, Von Laer., L, Lovato., M, Da Silva, and A. De Moura. 2020. *Leptospira spp*. in horses in southern Brazil: seroprevalence, infection risk factors, and influence on reproduction. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 73. https:// doi:10.1016/j.cimid.2020.101552.

- De Blas, I., I, Ruiz-Zarzuela, and A. Vallejo. 2006. WinEpi: Working In Epidemiology. An online epidemiological tool. Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics. Cairns, Australia. 7-11 Agosto 2006. Disponible en
- Díaz, E., G, Arroyo., G, Sáenz., L, Mena, and V. Barragán. 2023. Leptospirosis in horses: ¿sentinels for a neglected zoonosis? a systematic review. Veterinary World 2110–2119. https://doi: 10.14202/ vetworld.2023.2110-2119

https://www.winepi.net/sp/index.htm

- Di Azevedo, M and W. Lilenbaum. 2020. An overview on the molecular diagnosis of animal leptospirosis. Letters in Applied Microbiology 72:496-508. https://doi:10.1111/ lam.13442
- Divers, T., Y, Chang., N, Irby., J, Smith, and C. Carter. 2019. Leptospirosis: an important infectious disease in North American horses. Equine Veterinary Journal 51(3): 287-292. https://doi.org/10.1111/evj.13069
- Dohoo, I., W, Martin, and H. Stryhn. 2003. Veterinary epidemiologic research. Charlotte, PEI Inc, Canada.
- Dorsch, R., J, Ojeda., M, Salgado., G, Monti., B, Collado., C, Tomckowiack., C, Tejeda., A, Muller., T, Henricus., L, Klaasen, and K. Hartmann. Cats shedding pathogenic underestimated Leptospira spp An zoonotic risk? PLoS ONE 22: 15. https://doi. org/10.1371/journal.pone.0239991
- Ellis, W. 2015. Animal leptospirosis. Current Topics in Microbiology and Immunology 387: 99-137. https://doi:10.1007/978-3-662-45059-8 6
- Fagre, A., C, Mayo., K, Pabilonia, and K. Landolt. 2020. Seroprevalence of Leptospira spp. in Colorado equids and association with clinical disease. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 32(5): 718-721. https://doi: 10.1177/1040638720943155.
- Faine, S., B, Adler., C, Bolin, and P. Perolat. 1999. Leptospira and leptospirosis. Melbourne, Australia. Medisci Press.
- Finger, M., I, Roque de Barros., C, Leutenegger., M, Estrada., L, Ullmann., H, Langoni., M, Kikuti., P, Dornbush., I, Deconto, and A. Biondo. 2014 Serological and molecular survey of Leptospira spp. among cart horses from an endemic area of human leptospirosis in Curitiba, southern Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 56: 473-476. https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000600003

- Garba, B., A, Bahaman., S, Bejo., Z, Zakaria., A, Mutalib, and A. Bande. 2018. Major epidemiological factors associated with leptospirosis in Malaysia. Acta Tropica 178:242-247. https://doi: 10.1016/j. actatropica.2017.12.010.
- Haake, D., and P. Levett. 2015. Leptospirosis in humans. Current Topics in Microbiology and Immunology 387:65-97. https://doi: 10.1007/978-3-662-45059-8 5.
- Hamond, C., G, Martins., R, Lawson-Ferreira., M, Medeiros, and W. Lilenbaum. 2013. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. Epidemiology and Infection 141: 33-35. https://doi:10.1017/ S0950268812000416
- Hernández, R., C, Fernández, and M. Baptista. 2010. Metodología de la Investigación. McGraw-Hill/Interamericana Editores, México.
- Hernández-Rodríguez, P and B. Trujillo-Rojas. 2022. One health: a comprehensive approach to improve prevention control strategies in leptospirosis. Revista de Ciências Agroveterinárias 21:1. https:// DOI:10.5965/223811712112022071
- INE. 2021. Existencias de animales. Región de Los Lagos: Instituto Nacional de Estadística. Disponible en https://www.ine. gob.cl/estadisticas/economia/agriculturaagroindustria-y-pesca/censos-agropecuarios.
- JayasundaraI, D., C, Gamage., I, Senavirathna., I, Warnasekara., M, Matthias., J, Vinetz, and S. Agampodi. 2021. Optimizing the Microscopic Agglutination Test (MAT) panel for the diagnosis of leptospirosis in a low resource, hyper-endemic setting with varied microgeographic variation in reactivity. PLoS Neglected Tropical Diseases 15: 7 https://doi. org/10.1371/journal.pntd.0009565
- Lelu, M., C, Muñoz-Zanzi., B, Higgins, and R. Galloway. 2015. Seroepidemiology of leptospirosis in dogs from rural and slum communities of Los Ríos Region, Chile. BMC Veterinary Research 11:31. https://doi: 10.1186/s12917-015-0341-9
- Malalana, F., R, Blundell., G, Pinchbeck, and C. Mcgowan. 2017. The role of *Leptospira spp*. in horses affected with recurrent uveitis in the UK. Equine Veterinary Journal 49:706-709. https://doi: 10.1111/evj.12683
- MINSAL. 2021. Informe epidemiológico anual leptospirosis. Departamento Epidemiología, Subsecretaría de Salud Pública. Disponible en https://epi.minsal. cl/wp-content/uploads/2022/11/Informe-Leptospirosis-2021-FIN.pdf.

- Monti, G., V, Montes., P, Tortosa., C, Tejeda, and M. Salgado. 2023. Urine shedding patterns of pathogenic *Leptospira spp*. in dairy cows. Veterinary Research 31(54): 1. https://doi: 10.1186/s13567-023-01190-w.
- Moya, M., S, Oettinger., C, Borie., R, Flores., P, Abalos, and C. Briceño. 2019. Serologic survey of *Brucella canis* and *Leptospira spp.* in free ranging wild and domestic canids from Tierra del Fuego, Chile. Journal of Wildlife Diseases 55: 713-716. https://10.7589/2018-05-126
- Nogueira, M and W. Lilenbaum. 2022. Equine genital leptospirosis: evidence of an important silent chronic reproductive syndrome. Theriogenology 192. https://doi: 10.1016/j.theriogenology.2022.08.029.
- Noordhuizen, J., K, Frankena., C van der Hoofd, and E. Graat. 1997. Application of quantitative methods in veterinary epidemiology. Wageningen Pers. The Netherlands.
- OIE. 2022. Leptospirosis. Manual terrestre. Capítulo 3.1.12. Disponible en https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.12_Leptospirosis.pdf
- Pal, M., M, Bulcha, and B. Wakuma. 2021. Leptospirosis and One Health perspective. American Journal of Public Health Research 9(4): 180-183. https://10.12691/ajphr-9-4-9
- Pikalo, J., T, Sattler., M, Eichinger., A, Loitsch., H, Sun., F, Schmoll, and F. Fritz. 2016. Occurrence of antibodies against *Leptospira* in horses in middle Germany. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift 129: 202-208. ISSN:1439-0299
- Pinto, P., H, Libonati, and L. Lilenbaum. 2017. A systematic review of leptospirosis on dogs, pigs, and horses in Latin America. Tropical Animal Health and Production 49: 231-238. https://10.1007/s11250-016-1201-8
- Romero, M. 2011. La prueba chi-cuadrado o jicuadrado (x2). Enfermería del Trabajo 1(1): 31-38. ISSN: 2174-2510
- Romero-Vivaz, C and C. Falconar. 2016. *Leptospira spp* y leptospirosis humana. Salud Uninorte 32(1): 123-143. https://doi.org/10.14482/sun.32.1.8479.
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2023. Subdivisión de Predios Rústicos en cifras. Disponible en https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/ subdivision-de-predios-rusticos-en-cifras
- Salgado, M., B, Otto., E, Sandoval., G, Reinhardt, and S. Boqvist. 2014. A cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira spp*. serovars in small holder dairy cattle farms in Southern Chile. BMC Veterinary Research 10: 126. https://doi:10.1186/1746-6148-10-126.

- Silva, R and S. Riedemann. 2007. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias mediante Aglutinación Microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. Archivos de Medicina Veterinaria 39: 269-274. https://doi.org/10.4067/S0301-732X2007000300011
- Simbizi, B., M, Saulez., A, Potts., C, Lötter, and B. Gummow. 2016. A study of leptospirosis in South African horses and associated risk factors. Preventive Veterinary Medicine 134(1): 6-15. https://doi: 10.1016/j. prevetmed.2016.09.019
- Soares, P., D, Gomes., F, Macedo., M, Soares., K, Lemes., L, Jaeger, L., W, Lilenbaum, and Lima, C. 2020. Serological and molecular characterization of *Leptospira* kirschneri serogroup Grippotyphosa isolated from bovine in Brazil. Microbial Pathogenesis 138. https://doi: 10.1016/j.micpath.2019.103803
- Stoddard, R., J, Gee., P, Wilkins., K, McCaustland, and K. Hoffmaster. 2009. Detection of pathogenic *Leptospira spp*. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 64:247-255. https://10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.014
- Tadich, T., C, Tapia, and D. González. 2016 Seroprevalence of *Leptospira spp*. in working horses located in the central region of Chile. Journal of Equine Veterinary Science 38: 14-18. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.12.011
- Tapia, A. 2014. Frecuencia de presentación de sueros reaccionantes a *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* en una población de equinos de tiro urbano de la Región Metropolitana de Chile. Memoria para optar al título profesional de Médico veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Disponible en https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/132106
- Toriz-Suarez, O., J, Pérez-Rivero., A, Herrera-Barragán., J, Torres-Barranca, and G. Lombardero-Goldaracena. 2021. Frequency of *Leptospira spp* serovars reported in horses: a literature review. Abanico Veterinario 11: 1-16. https://doi.org/10.21929/abavet2021.23
- Troncoso, I., I, Toro., A, Guzmán., J, Fuentealba, and K. Fischer. 2013. Evaluación serológica de *Leptospira interrogans* en equinos pertenecientes a un centro ecuestre de la provincia de Linares, Chile. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia 8(2): 101-107. ISSN 1900-9607.

- Tuemmers, C., G, Quezada., R, Morales, and M. Serri. 2021. Seroprevalencia de Leptospira spp. en equinos de tiro de comunidades indígenas mapuche de la Región de la Araucanía Chile. Revista Chilena de Infectología 38(4): 580-582. https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182021000400580
- Urbanskas, E., B, Karveliene, and J. Radzijevskaja. Leptospirosis: classification, 2022. epidemiology, and methods of detection. 129-136. A review. Biologija 68 (2): https://10.6001/biologija.v68i2.4733
- Vera, E., S, Taddei., S, Cavirani., J, Schiavi., M, Angelone., C, Cabassi., E, Schiano and F. Quintavalla. 2020. Leptospira seroprevalence in Bardigiano horses in northern Italy. Animals 10(1): 23. https://doi: 10.3390/ ani10010023.
- Verma, A., B, Stevenson, and B. Adler. 2013. Leptospirosis in horses. Veterinary Microbiology 167: 61-66. https://doi:10.1016/j. vetmic.2013.04.012.

- Vincent, A., O, Schiettekatte., C, Goarant., V, Neela., E, Bernet., R, Thibeaux., N, Ismail M, Khairul., N, Kalid., F, Amran., T, Masuzawa., R, Nakao., A, Korba., P, Bourhy., F, Veyrier, and M. Picardeau. 2019. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus Leptospira through the prism of genomics. PLoS Neglected Tropical Diseases 13(5). https://doi.org/10.1371/journal. pntd.0007270
- Wasiński, B., K, Paschalis-Trela., J, Trela., M, Czopowicz., J, Kita., M, Żychska, A, Cywińska., I, Markowska-Daniel., C, Carter, and L. Witkowski. 2021. Serological survey of Leptospira infection in Arabian horses in Poland. Pathogens 10(6): 688. https://doi: 10.3390/pathogens10060688.
- WHO-ILS. 2003. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. ISBN: 924154589 5. NLM classification: WC 420.