

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN DE EQUINOS CON SOSPECHA DE  
LEPTOSPIROSIS REMITIDOS AL LABORATORIO DILAVE-DGSG-MGAP EN  
LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS**

**por**

**GODAY MARIEZCURRENA, Fernando Javier**

**TESIS DE GRADO** presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de Doctor  
en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Medicina Veterinaria

**MODALIDAD:** Estudio de caso

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2018**

**PÁGINA DE APROBACIÓN**

**Presidente de Mesa:** .....

**Segundo Miembro (Tutor):** .....

Dra. Alejandra Suanes

**Tercer Miembro:** .....

**Cuarto Miembro (Co-tutor):** .....

Dr. José Piaggio

**Fecha:** .....

**Autor:** .....

Fernando Javier Goday Mariezcurrena

## **AGRADECIMIENTOS**

- A la Dra. Alejandra Suanes y Dr. José Piaggio por darme la oportunidad de realizar este trabajo, y guiarme a lo largo de la elaboración del mismo.
- A DILAVE-MGAP, especialmente a Ximena Salaberry, por proporcionarme los datos utilizados.
- A los funcionarios de la Biblioteca de Facultad de Veterinaria, por su colaboración en la búsqueda de material bibliográfico.
- A Valentina Macchi, familiares y amigos por todo el apoyo brindado durante toda la carrera.

## TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	5
2. RESUMEN.....	6
3. SUMMARY .....	7
4. INTRODUCCIÓN.....	8
5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	10
5.1. ETIOLOGÍA .....	10
5.2. TRANSMISIÓN Y PATOGENIA.....	11
5.3. HUÉSPEDES .....	12
5.4. EQUINOS .....	12
5.5. SIGNOS CLÍNICOS .....	13
5.6. PATOLOGÍA .....	15
5.7. DIAGNÓSTICO.....	15
5.7.1. DIRECTO.....	16
5.7.2. INDIRECTO .....	17
5.8. EPIDEMIOLOGÍA .....	18
5.8.1. SEROPREVALENCIA .....	19
5.8.2. FACTORES DE RIESGO.....	21
5.9. TRATAMIENTO.....	23
5.10. CONTROL.....	23
5.11. INFECCIÓN EN HUMANOS .....	24
6. OBJETIVOS.....	26
6.1. OBJETIVO GENERAL .....	26
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	26
7. MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
8. RESULTADOS .....	29
8.1. Descripción de datos remitidos .....	29
8.2. Resultado laboratorio .....	31
9. DISCUSIÓN.....	37
10. CONCLUSIÓN .....	42
11. BIBLIOGRAFÍA.....	43

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla I. Serovares utilizados para el diagnóstico de Leptospirosis en equinos por medio del MAT en el laboratorio DILAVE-DGSG-MGAP .....	27
Tabla II. Proporción de datos que se obtuvo de cada variable de acuerdo a la información remitida por el veterinario de libre ejercicio.....	29
Tabla III. Distribución de serogrupos por año de los casos positivos remitidos a DILAVE-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	32
Tabla IV. Número de coaglutinaciones que tuvieron los casos positivos de equinos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	34
Tabla V. Número de casos remitidos por año al laboratorio DILAVE-MGAP.....	34
Tabla VI. Proporción de casos positivos y negativos a <i>Leptospira spp.</i> de acuerdo a la variable sexo, edad y raza que fueron remitidos al DILAVE_MGAP entre el año 2013 y 2017.....	36
Figura 1. Genomoespecies presentes dentro del grupo de leptospiras patógenas, no patógenas e intermedias (Alder, 2015).....	10
Figura 2. Diagnóstico a utilizar dependiendo la etapa de infección en la que se encuentre el animal (Adaptado de Alder, 2015).....	16
Figura 3. Distribución geográfica de las muestras de equinos remitidas al laboratorio DILAVE-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	29
Figura 4. Distribución de la variable categoría de los casos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	30
Figura 5. Distribución de la variable edad de los casos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	30
Figura 6. Distribución de la forma de presentación de los casos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	31
Figura 7. Distribución de serogrupos de casos positivos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	32
Figura 8. Distribución de títulos de corte de los serogrupos más prevalentes de casos positivos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	33
Figura 9. Porcentaje de casos positivos y negativos remitidos al laboratorio DILAVE-MGAP según la distribución por años.....	35
Figura 10. Distribución de los serogrupos de los casos positivos de acuerdo a caballos de áreas rurales o urbanas/suburbanas remitidos al DILAVE-MGAP entre los años 2013 a 2017.....	36

## 2. RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad producida por la bacteria Gram negativa *Leptospira spp.*, afectando a múltiples especies inclusive el hombre. En equinos, si bien suele ser asintomática, puede ocasionar problemas reproductivos y lesiones oculares, siendo menos frecuente la presentación aguda de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue describir la distribución de serogrupos y la población de equinos con sospecha de Leptospirosis que se remitieron a la Dirección de Laboratorios Veterinarios-Dirección General de Servicios Ganaderos-Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (DILAVE-DGSG-MGAP) durante los años 2013 a 2017. Para esto se realizó un estudio descriptivo con 168 muestras de equinos con sospecha de leptospirosis que fueron remitidas al Departamento de Bacteriología, Servicio de leptospirosis del laboratorio DILAVE-DGSG-MGAP entre el 1° de enero de 2013 al 31 de diciembre de 2017. Para el diagnóstico se utilizó el test de aglutinación microscópica (MAT), el panel de antígenos estaba conformado por 26 serovares (17 serogrupos), considerándose positiva una muestra cuando el título de corte fuera mayor o igual a 1:100 por lo menos para una serovar. Se construyó una base de datos donde se incluyeron como variables de estudio los resultados del MAT para cada serogrupo y los datos proporcionados por los veterinarios: departamento, localización en área urbana/suburbana o rural, edad, raza, tipo de explotación (deportivo, reproducción, producción, de trabajo), forma de presentación de la enfermedad y signos clínicos, así como también la distribución anual de estos casos. El 35,1% de los casos fueron positivos para al menos un serovar, siendo los serogrupos más prevalentes Tarassovi (42,4%), Ballum (32,2%) y Pomona (32,2%); no habiendo grandes variaciones en los serogrupos de acuerdo al año de estudio. De los 53 casos positivos en 33 se reportaron coaglutinaciones, habiendo un mínimo de 2 y máximos de 8 coaglutinaciones. Las diferencias más importantes en los porcentajes de seropositividad fueron observadas entre los caballos urbanos/suburbanos y los rurales, siendo 27% y 46% respectivamente. En las variables restantes las diferencias no fueron muy notorias. Este estudio permitió reportar los niveles de seropositividad de los equinos con sospecha de leptospirosis remitidos al DILAVE-DGSG-MGAP entre los años 2013 a 2017, aportando información de los serogrupos más prevalentes en ese grupo de equinos. Próximos estudios deberían estar dirigidos al aislamiento de esta bacteria, de forma de poder confirmar los serogrupos circulantes en el medio.

### 3. SUMMARY

Leptospirosis is a disease caused by the Gram negative bacteria *Leptospira spp.*, affecting multiple species including humans. In equines, although it is usually asymptomatic, it can cause reproductive problems and eye injuries, being less frequent the acute presentation of the disease. The objective of this study was to describe the distribution of serogroups and the population of horses with suspected Leptospirosis that were sent to Dirección de Laboratorios Veterinarios-Dirección General de Servicios Ganaderos-Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (DILAVE-DGSG-MGAP) during the years 2013 to 2017. A descriptive study was carried out with 168 samples of horses with suspected leptospirosis that were sent to the Department of Bacteriology, Service of leptospirosis of DILAVE-DGSG-MGAP between first of January 2013 and 31 of December 2017. The microscopic agglutination test (MAT) was used for the diagnosis, the antigen panel was made up of 26 serovars (17 serogroups), samples were considered positive when the cutoff was greater than or equal to 1: 100 unless for one serovar. A database was constructed with the results of the MAT for each serogroup and the data provided by the veterinarians were included as study variables: department, location in urban / suburban or rural area, age, race, type of exploitation (sports, reproduction, production, work), presentation form of the disease and clinical signs, as well as the annual distribution of these cases. The 35.1% of the cases were positive for at least one serovar, with the most prevalent serogroups Tarassovi (42.4%), Ballum (32.2%) and Pomona (32.2%); there were no great variations in the serogroups according to the year of study. Of the 53 positive cases in 33 coagglutinations were reported, with a minimum of 2 and maximums of 8 coagglutinations. The most important differences in the percentages of seropositivity were observed between urban / suburban and rural horses, being 27% and 46% respectively. In the remaining variables, the differences were not very noticeable. This study allowed to report the levels of seropositivity of horses with suspected leptospirosis sent to DILAVE-DGSG-MGAP between 2013 and 2017, providing information on the most prevalent serogroups in that group of horses. Next studies should be directed to the isolation of this bacterium, in order to confirm the circulating serogroups in the environment.

#### 4. INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial (Alder y de la Peña, 2010) causada por una bacteria gram negativo, *Leptospira spp.*, pertenece a la familia *Leptospiraceae*, orden *Spirochaetales* (Faine y col., 1999). Afecta a cualquier animal de sangre caliente, suinos, bovinos, caninos y equinos parecerían ser más susceptibles a las infecciones; por ejemplo, los equinos son susceptibles a un amplio rango de leptospirosis mientras que en los gatos la infección es rara. Esta enfermedad sistémica afecta también al ser humano, siendo una importante zoonosis (Alder, 2015).

Si bien hay un amplio rango de serovares que pueden infectar a prácticamente cualquier especie, se ha demostrado que cada uno de estos serovares tiende a tener una especie específica como huésped de mantenimiento (Hathawai, 1981 citado por Alder, 2015). En este tipo de huésped, la *Leptospira* está perfectamente adaptada y en general causa pocos efectos clínicos, siendo importantes diseminadores de la enfermedad. Por ejemplo, se ha reportado que la rata marrón (*Rattus norvegicus*) es un fundamental diseminador del serovar *Icterohaemorrhagiae*, los bovinos y ovinos de Hardjo, los cerdos de Pomona, Canicola y Bratislava y los perros de Canicola y Bratislava (Alder, 2015). La transmisión entre especie, se ve favorecida por altas densidades de población, malas condiciones de almacenamiento del alimento y sistemas de manejo higiénicos sanitarios que lleven a la contaminación del ambiente (Barwick y col., 1997 citado por Alves y col., 2016).

La severidad de la infección varía de acuerdo al serovar infectante y la especie afectada. Si bien la mayoría de los animales no presentan signos clínicos evidentes, la forma crónica es la que causa mayores pérdidas económicas por las fallas a nivel reproductivo que ocasiona, tales como aborto, muerte fetal o enfermedad neonatal. Esta enfermedad sistémica también puede afectar a nivel renal (principalmente Canicola en perros), pulmonar y hepático; algunos serovares (Pomona o *Icterohaemorrhagiae*) ocasionan alteraciones hemodinámicas provocando hemoglobinuria e ictericia, pudiendo terminar en la muerte del animal (Alder, 2015). Otros signos clínicos comunes son hematuria, fiebre, anorexia y dificultad respiratoria (Alder y de la Peña, 2010; Alder, 2015).

En los equinos, la leptospirosis ha adquirido importancia con el correr de los años por las consecuencias económicas que ocasiona en ejemplares de alto valor económico y por los problemas reproductivos que produce en yeguas (Adler, 2015). Se han aislado gran cantidad de serovares en equinos infectados, particularmente de los serogrupos Pomona (serovar Kennewicki) y *Grippotyphosa* (Wood y Townsend, 1999 citado por Adler, 2015), pero también se han encontrado *Icterohaemorrhagiae*, *Autumnalis* (Martins y Lienbaum, 2013), *Sejroe*, *Canicola* y *Ballum* (Wood y Townsend, 1999 citado por Adler, 2015). Como se mencionó anteriormente, la mayoría de las infecciones se dan de forma subclínica (Adler, 2015) pero también puede presentarse de forma aguda, la que se caracteriza por la ocurrencia de uveítis, aborto, muerte fetal temprana, nacimiento de potrillos prematuros, y disfunción renal y hepática (Houwens y col., 2011).

En la región se han realizado estudios de seroprevalencia de *Leptospira spp.* en equinos, en Brasil (Alves y col., 2016; Dias y col., 2016; Neta et al., 2016), Chile (Tadich y col., 2016) y en menor medida en Argentina (Myer, 1976); viéndose que los serovares más frecuentemente encontrados fueron Patoc (no patógena), Butembo (Alves y col., 2016), *Icterohaemorrhagiae* (Dias y col., 2016), *Ballum* y *Canicola* (Tadich y col., 2016). Otras investigaciones, han reportado los serovares que ocasionan en equinos infectados problemas reproductivos (Pinna

y *col.*, 2013; Pinna y *col.*, 2014; Hamond y *col.*, 2015) y oftalmológicos (Braga y *col.*, 2011). En estos estudios, los serovares Australis, Pomona (Hamond y *col.*, 2015), Bratislava (Pinna y *col.*, 2013; Pinna y *col.*, 2014) y Copenhageni (Pinna y *col.*, 2013) fueron los principales causantes de aborto, reabsorción embrionaria temprana (Hamond y *col.*, 2015; Pinna y *col.*, 2013; Pinna y *col.*, 2014) y endometritis (Hamond y *col.*, 2015) en yeguas mayores de 3 años en Brasil (Pinna y *col.*, 2013; Pinna y *col.*, 2014; Hamond y *col.*, 2015), mientras que se encontraron asociaciones entre las alteraciones oftalmológicas, tales como uveítis, epifora, congestión ocular, blefaroespasmo y fotofobia, y la seropositividad al serovar Icterohaemorrhagiae en caballos de 4 a 8 años de edad en Río de Janeiro, Brasil (Braga y *col.*, 2011).

En Uruguay, la leptospirosis ha sido estudiada fundamentalmente desde el punto de vista de la salud pública por ser una zoonosis emergente (Meny y *col.*, 2017); y de la producción agropecuaria por las pérdidas productivas que ocasiona (Repiso y *col.*, 2005). En cambio en lo que respecta a leptospirosis en equinos hay escasa información (Caffarena y *col.* 1971), por lo que el objetivo del presente trabajo será describir la distribución de serogrupos y la población de equinos con sospecha de Leptospirosis que se remitieron a la Dirección de Laboratorios Veterinarios-Dirección General de Servicios Ganaderos-Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (DILAVE-DGSG-MGAP) durante los años 2013 a 2017.

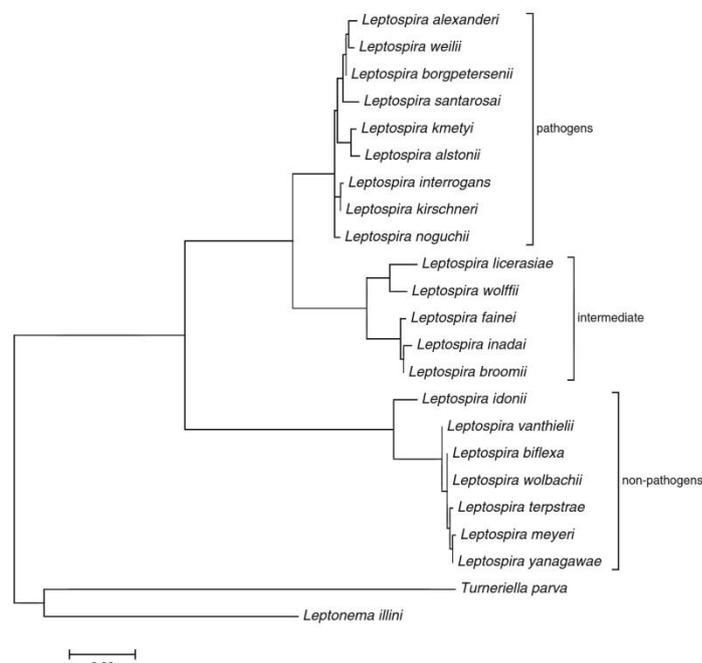
## 5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 5.1. ETIOLOGÍA

La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica extendida a nivel mundial (Alder, 2014; Blood y Radostitis, 2004; Pinto y col., 2016) cuya etiología es una espiroqueta Gram negativa aeróbica que afecta a todas las especies de animales domésticos y parte de los silvestres (Blood y Radostitis 2004; Alder, 2014), incluso animales marinos (Alder, 2015).

La *Leptospira spp.* pertenece a la familia Leptospiraceae, son bacterias largas, delgadas, altamente móviles, con forma espiralada. Tiene un diámetro promedio 0.1  $\mu\text{m}$ , un rango de longitud de 6-20  $\mu\text{m}$ , una amplitud helicoidal de 0.1-0.15  $\mu\text{m}$  y una longitud de onda de 0.5  $\mu\text{m}$  (Carleton y col., 1979; Goldstein y Charon 1988, 1990; Faine y col., 1999). Debido a su morfología esbelta y su motilidad rápida, la visualización de estas bacterias mediante microscopía de luz normal se dificulta, es por esto que se utiliza la microscopía de campo oscuro (Alder, 2015).

Las especies de *Leptospira* pueden ser clasificadas en cuanto a su patogenicidad en patógenas, no patógenas e intermedias. Si bien en una primera clasificación las especies no patógenas, o también conocidas como saprofitas, comprendían a la genomoespecie *Leptospira biflexa sensus lato*, y las patógenas a *Leptospira interrogans sensus lato*, hoy en día se conocen 10 genomoespecies dentro del grupo patógeno y 7 dentro del no patógeno como se detalla en la Figura 1; actualmente hay 22 especies de *Leptospira* (Fouts y col. 2016).



**Figura 1.** Genomoespecies presentes dentro del grupo de leptospiros patógenas, no patógenas e intermedias (Alder, 2015).

Las leptospiros patógenas están compuestas por más de 300 serovares, a su vez estos serovares se agrupan por serogrupos, de acuerdo a su relación antigénica (los serovares que son similares antigénicamente conforman un serogrupo) (Alder y de la Peña, 2010). Dicha

clasificación está basada en los lipopolisacáridos (LPS) que se encuentran en la superficie de la membrana celular (Evangelista y Coburn 2010), siendo muy importantes en la patogenicidad de las Leptospiras (Alder, 2015). Esta membrana celular está formada por tres capas, la más externa corresponde a los LPS, que difieren entre especies patógenas y no patógenas (saprofitas), por ejemplo los LPS de *L. interrogans* patógenas se extienden 9.2 nm y *L. biflexa* saprófita presenta una capa LPS más delgada de 6.0 nm.

No se conoce mucho acerca del mecanismo de virulencia específico y los factores del huésped que determinan la infección (Alder, 2014). Esta describe que la virulencia de las leptospiras no está dada solo por la capa de los LPS, sino que la motilidad también juega un rol importante; al tener la capacidad de mantener o aumentar su motilidad de acuerdo a la viscosidad del medio, característica que las hace diferentes de otros microorganismos flagelados. Algunos autores sugieren que esta capacidad aumenta la supervivencia de las bacterias en medios naturales y también favorece a la hora de invadir tejidos (Takabe y *col.*, 2013). La capacidad de las especies patógenas de resistir a los cambios osmóticos del medio parece ser el nexo entre la motilidad y la virulencia (Lambert y *col.*, 2012).

## 5.2. TRANSMISIÓN Y PATOGENIA

Las leptospiras patógenas viven en los túbulos renales proximales de los riñones de los animales que son portadores, aunque también pueden infectar otros tejidos y órganos. Desde los riñones, las leptospiras se excretan por la orina (Pinto y *col.*, 2016) y pueden contaminar el suelo, las aguas superficiales, los arroyos y los ríos, también esta bacteria puede ser eliminada a través de otras secreciones, fetos abortados (transmisión vertical) y fluidos uterinos (Blood y Radostitis, 2004). Las infecciones de animales o humanos ocurren por contacto directo con la orina o indirectamente por contaminación del medio con esta. Los portadores pueden ser animales salvajes o domésticos, especialmente roedores, pequeños marsupiales, bovinos, cerdos y perros. Se ha demostrado que casi todos los mamíferos (incluidos los acuáticos) y los marsupiales pueden ser portadores de leptospiras. A pesar de esto, los humanos casi nunca se vuelven portadores crónicos, pero sufren infecciones agudas, con posibles secuelas que afectan más largo plazo. Es por todo esto que el estado de portador renal es, un factor fundamental para la persistencia y la epidemiología de la leptospirosis (Alder y de la Peña 2010).

Las leptospiras pueden entrar al cuerpo a través de pequeños cortes o abrasiones, a través de las membranas mucosas como la conjuntiva o a través de la piel húmeda o macerada. A menos que existan anticuerpos específicos contra estas, son capaces de resistir la fagocitosis por parte de los macrófagos y neutrófilos (Alder, 2014), diseminándose rápidamente vía hematogena, esta bacteriemia inicial puede durar hasta 7 días. Las lesiones y por ende los síntomas aparecen a causa de la acción tóxica una vez que empieza la fase de multiplicación bacteriana, y estas alcanzan un nivel crítico tanto en sangre como en otros tejidos. En primer lugar se presentan lesiones a nivel de los pequeños vasos sanguíneos donde hay un daño de las células endoteliales, esto lleva a que se produzca isquemia y dependiendo del órgano donde se asiente la infección produce una necrosis tubular renal, daño hepatocelular y pulmonar, meningitis, miositis y placentitis. En casos graves se pueden presentar tanto hemorragias como ictericia e incluso una disminución en el número de plaquetas. También se puede presentar una granulosis leve y esplenomegalia. (Alder, 2015).

Una vez que aparecen los anticuerpos circulantes, como mecanismo de defensa bacteriano, las leptospiras se eliminan de la circulación y los tejidos (Alder, 2015), alojándose de forma

preferencial en la superficies de las células epiteliales de los túbulos proximales renales, dichos animales serán portadores crónicos de esta enfermedad y diseminarán la bacteria por medio de la orina (Perez y col., 2011 citado por Hamond y col. 2014) de forma intermitente o continua y la concentración urinaria de bacterias puede ser tan alta como  $10^8$  bacterias/ml; las leptospiras no sobreviven bien en la orina ácida, pero permanecen viables en la orina alcalina. En consecuencia, los herbívoros y los animales cuya dieta produce orina alcalina son relativamente más susceptibles que los productores de orina ácida (Alder y de la Peña, 2010). De forma secundaria, esta espiroqueta se alojará en el aparato genital de la hembra, favoreciendo la transmisión vertical de la infección y la ocurrencia de abortos (Arent y col., 2013).

### 5.3. HUÉSPEDES

Afecta básicamente a cualquier animal de sangre caliente, pero los animales domésticos como suinos, bovinos, caninos y equinos parecerían ser más susceptibles a las infecciones, estos últimos son susceptible a múltiples serovares; no es este el caso de los gatos por ejemplo, en los que las infecciones son raras (Alder, 2015).

El reservorio urbano de mayor importancia es la rata marrón (*Rattus norvegicus*) (Picardeau, 2013; Hamond y col. 2014), la rata negra (*Rattus rattus*) y el raton (*Mus musculus*) estos son huésped de mantenimiento del serovar *Icterohaemorrhagiae*, y de otros serovares pertenecientes al mismo serogrupos como por ejemplo el serovar *Copenhageni* (Hamond y col. 2014).

La forma en que los serovares afectan a los animales causando infección se dividen básicamente en dos tipo, según están o no adaptados al huésped. Los serovares que están adaptados al huésped, no causan o causan pocos signos clínicos de la enfermedad (mayormente en animales inmunodeprimidos), en estos huéspedes de mantenimiento la enfermedad se transmite fácilmente de animal a animal ya sea de forma directa o indirecta, esta es por ejemplo el serovar Bratislava en equinos, la rata marrón (*Rattus norvegicus*) es un fundamental diseminador del serovar *Icterohaemorrhagiae*, los bovinos y ovinos de Hardjo, y los cerdos y posiblemente los perros de Canicola y Bratislava (Alder, 2015). Entonces, cada serovar es mantenido por un huésped específico, y su ocurrencia estará influenciada por la región y la presencia de animales silvestres. Por otro lado, los serovares que no están adaptados al huésped son los llamados serovares incidentales, y en general producen signos clínicos en los animales (Hamond y col. 2014), dándose la excreción renal de la bacteria de forma intermitente (Alder, 2015).

### 5.4. EQUINOS

En los equinos, la leptospirosis ha adquirido importancia con el correr de los años por las consecuencias económicas que ocasiona en ejemplares de alto valor económico y por los problemas reproductivos que produce en yeguas (Adler, 2015).

Se han aislado gran cantidad de serovares en equinos infectados, particularmente de los serogrupos Pomona serovar Kennewicki y Grippotyphosa (Wood y Townsend, 1999 citado por Adler, 2015), pero también se han encontrado *Icterohaemorrhagiae*, *Autumnalis* (Martins y Lienbaum, 2013), *Sejroe*, *Canicola* y *Ballum* (Wood y Townsend, 1999 citado por Adler, 2015). El serovar Kennewicki es el serovar más importante asociado con la enfermedad en

caballos en los EE. UU y se ha asociado con abortos (Alder, 2015) y uveítis recurrente (Harskeerl y col., 2004). Por otro lado, los anticuerpos contra el serovar Bratislava son los más comunes detectados en caballos en todo el mundo, este puede adquirir la infección tanto en carácter de huésped de mantenimiento (lo que ocurre con mayor frecuencia) como huésped accidental (Alder, 2015).

El serovar Pomona está asociado a enfermedad clínica en caballos, los cuales son un huésped accidental, este serovar es mantenido por los suinos (Hodgin y col. 1989 citado por de Oliveira y col. 2014).

## 5.5. SIGNOS CLÍNICOS

Como bien se mencionó una especie animal puede ser tanto huésped accidental como de mantenimiento de la *Leptospira spp.*, esto varía de acuerdo a la especie animal, el serovar infectante, y la interacción entre el sistema inmune del huésped y la cepa infecciosa (Alder, 2015). Los animales que son reservorios naturales de la infección (tales como los roedores por ejemplo), predomina el desarrollo de la forma crónica, no desarrollando signos clínicos de la enfermedad (Faine y col., 1999), mientras que en los animales en los que la *Leptospira* está menos adaptada el control de la infección es más difícil (Verma y col., 2013), ocurriendo usualmente la forma aguda donde pueden observarse una amplia variedad de signos clínicos (Alder, 2015). Por ejemplo, se ha reportado que en equinos infecciones con serogrupos incidentales como *Icterohaemorrhagiae* (Hamond y col., 2014; Pinto y col., 2016) y *Pomona* (Hamond y col., 2014) usualmente llevan al desarrollo de la forma aguda de la enfermedad con presencia de signos clínicos, mientras que las infecciones con los serogrupos adaptados como es *Australis* llevan a infecciones subclínicas (Pinto y col., 2016) en donde el principal signo clínico visible es el aborto. De todos modos, la leptospirosis crónica en esta especie tiene una baja tasa de incidencia (Houwens y col., 2011),

La infección en equinos en general es similar a otras especies como los bovinos (Faine y col., 1999), siendo generalmente asintomática (Verma y col., 2013), es poco frecuente la presentación clínica de la enfermedad (Houwens y col., 2011 citado por Hamond y col. 2014). En la mayoría de los casos las manifestaciones clínicas están asociadas al aborto, hipoxia, depresión, apatía, reticencia a al movimiento y disminución de la performans (Faine y col., 1999). La fatiga y la hemorragia pulmonar inducida por el ejercicio también se han descrito como signos característicos de la leptospirosis equina. La muerte aunque es muy poco frecuente, generalmente se observan en animales muy jóvenes o que se infectaron in útero (Alder, 2015); de todas maneras el resultado de la exposición dependerá de la dosis, virulencia de la cepa actuante y susceptibilidad del huésped (Hines, 2007 citado por Neta y col., 2016)

Los datos de la literatura reportan que la *Leptospira spp.* tiene tropismo por el tracto reproductivo de la hembra, tejido renal y ojos (Faine y col., 1999). Es por eso que en los equinos hay básicamente 4 formas clínicas en que se puede dar la enfermedad, que están bien definidas y caracterizadas: forma aguda hepato-renal, forma oftalmológica, forma respiratoria y la forma reproductiva (Hamond y col., 2014).

La forma aguda hepato-renal no es la presentación más frecuente, se caracteriza por la ocurrencia de fiebre leve, acompañada de anorexia (Hamond y col. 2014) que dura usualmente de dos a tres días, pudiendo llegar a los siete días (Neta y col., 2016). Sin embargo en las formas más severas, puede aparecer congestión conjuntival, petequias en mucosas,

hemoglobinuria, anemia, ictericia, depresión, debilidad (Faine y col., 1999; Neta y col., 2016), lesión hepática, hematuria, leucocitosis con neutrofilia o linfocitosis, signos neurológicos y muerte (Neta y col., 2016). En caso que el animal se recupere la sintomatología clínica tendrá una duración de 5 a 18 días (Faine y col., 1999). La clásica ictericia de la leptospirosis ocurre mayormente en potrillos con infección, siendo raro en equinos adultos (Verma y col., 2013). Por otro lado, la forma respiratoria se caracteriza por desórdenes respiratorios incluyendo hemorragias pulmonares y neumonía (Hamond y col. 2014).

Si bien los signos clínicos reportados en equinos son muy similares al de otras especies con infección, en esta especie es muy usual la presencia de uveítis recurrente post infección, que está mediada por mecanismos autoinmunes que involucran una reacción cruzada entre los tejidos oculares y las proteínas de membrana de la bacteria. La oftalmia y ceguera periódicas entonces son a causa de la respuesta del sistema inmunitario a la infección persistente (Verma y col., 2013), las leptospiras se acumularán en la cámara anterior del ojo, provocando una reacción de hipersensibilidad autoinmune agravada (Faine y col., 1999)

Cuando se da la presentación de la forma oftalmológica, el principal signo clínico es la uveítis recurrente, que se ha reportado asociado al serovar Grippotyphosa (Houwens y col., 2011); esta alterna periodos de inflamación leve y severa (Verma y col., 2013), y ceguera nocturna (Faine y col., 1999; Hamond y col. 2014). La uveítis es muy dolorosa en los equinos y ocurre de semanas a meses luego de una infección sistémica. Signos tempranos de esta enfermedad incluyen miosis, blefaroespasmo, lagrimeo, fotofobia y edema (Verma y col., 2013). Se puede presentar de forma crónica corioretinitis, cataratas, degeneración de cristalino, degeneración retinoperipapilar, alteración del color del iris, sinequia y glaucoma (Neta y col., 2016). La raza Appaloosa tiene un mayor riesgo de contraer uveítis a causa de infecciones por *Leptospira* (Verma y col., 2013). El diagnóstico de esta patología es difícil de realizar dado que el test de aglutinación microscópica (MAT) que es la técnica considerada de referencia para el diagnóstico de leptospirosis no siempre es concluyente, Malalana y col. (2017) realizaron un estudio de casos y controles en equinos con uveítis recurrente en Reino Unido y no encontraron diferencias estadísticamente significativas en títulos de MAT entre los caballos sanos y enfermos.

Un buen pronóstico en la uveítis depende de una detección y tratamiento temprano (Verma y col., 2013). El diagnóstico de la uveítis por leptospirosis se basa en la presencia de lesiones compatibles con uveítis, la historia de recurrencia y el diagnóstico serológico por medio del MAT (Verma y col., 2013).

Además de las manifestaciones sistémicas y oculares, la leptospirosis en equinos es reconocida como una importante enfermedad que afecta la reproducción, ya que ocasiona nacimiento de potrillos débiles o prematuros, mortalidad neonatal, reabsorción embrionaria y, lo que ocurre con mayor frecuencia, abortos generalmente luego de los 6 meses de gestación (Hamond y col. 2014), estando asociados con la ocurrencia de placentitis (Pinna y col., 2014). En estas yeguas generalmente la infección cursa de forma asintomática, observándose como único síntoma el aborto (Pinna y col., 2013).

La seroreactividad a *Leptospira spp.* se la ha visto asociada a la presencia de problemas reproductivos en yeguas (Pinna y col., 2013; Pinna y col., 2014), más que nada cuando se trata de un serovar adaptado (Pinna y col., 2014), pero también en serovares incidentales como Copenhageni (Pinna y col., 2013; Pinna y col., 2014). Se ha reportado que los problemas de aborto están fuertemente vinculados a los serogrupos Australis (Hamond y col., 2015), Pomona, Icterohaemorrhagiae y *Leptospira interrogans* serovar Kennewicki, este último es

considerado el serovar más importante como causa de aborto por *Leptospira spp.* en Norte América (Hamond y col. 2014). Los problemas reproductivos más fuertemente asociados a la seroreactividad a *Leptospira spp.* (Serovar Bratislava y Copenhageni fundamentalmente) fueron la muerte embrionaria temprana (RR=8.4), muerte perinatal (RR=7.3) y aborto (RR=3.5), fundamentalmente en yeguas en los que el seguimiento reproductivo es muy minucioso como en el caso de programas de transferencia de embriones (Pinna y col., 2013). Otros autores, en un estudio realizado en Brasil estudiaron las diferencias entre dos serovares en yeguas de 3 a 8 años, uno adaptado al huésped (Bratislava) y otro serovar que fuera incidental (Copenhageni), se observó que hembras reactivas al serovar Bratislava tenían 3.6 veces más probabilidad de tener problemas reproductivos (muerte embrionaria temprana, muerte perinatal, aborto) que aquellas reactivas al serovar incidental (Pinna y col., 2014).

## 5.6. PATOLOGÍA

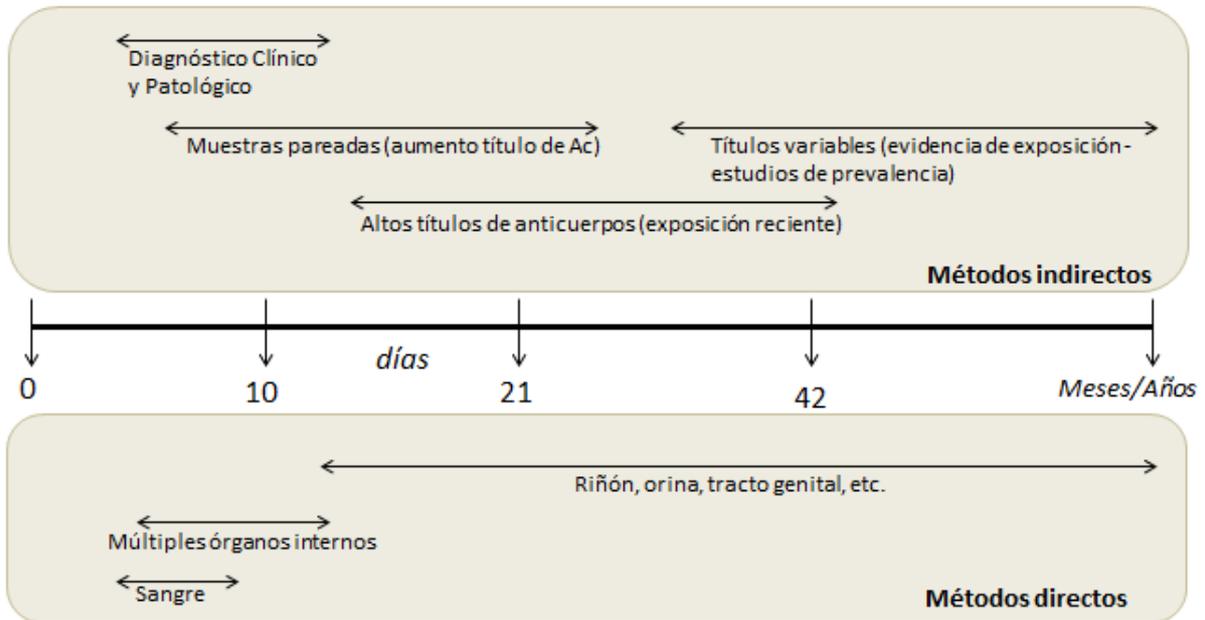
Las alteraciones patológicas son muy similares en todas las especies con infección por *Leptospira spp.* Si bien las afecciones varían de acuerdo al serovar infectante, la especie animal, su edad y la etapa de infección, los órganos más comúnmente afectados son el riñón, hígado, pulmones y corazón. Cuando se da la forma hiperaguda los únicos signos visibles son los causados por la septicemia aguda (Faine y col., 1999).

Las primeras lesiones en aparecer ante este tipo de infecciones suelen ser a nivel de las células endoteliales de la membrana de los capilares sanguíneos causada por las toxinas bacterianas, las que se ven acompañadas de ictericia y hemorragias petequiales. Estas alteraciones vasculares llevan a alteraciones de los diferentes órganos tales como de nefritis, hepatitis, hemorragia y edema pulmonar, encefalitis, meningitis, miocarditis intersticial, placentitis y aborto (Faine y col., 1999).

En la leptospirosis crónica, las lesiones se caracterizan por ser pequeñas y focales, es por esto que en muchos casos son apreciables únicamente mediante el examen microscópico. Los órganos más frecuentemente afectados son los riñones, observándose una nefritis intersticial focal progresiva, a menudo rodeados por un anillo de hiperemia. También es posible encontrar infiltraciones de células leucocitarias a nivel intersticial (principalmente linfocitos, macrófagos y células plasmáticas) pudiendo ser muy extensas en algunas áreas (Alder, 2015).

## 5.7. DIAGNÓSTICO

Dado que la leptospirosis en la mayoría de los animales cursa de forma subclínica, o los signos son muy inespecíficos, es indispensable recurrir al diagnóstico de laboratorio. Las pruebas diagnósticas que hay hoy en día para diagnosticar *Leptospira spp.* son fundamentalmente de dos tipos, las directas que detectan la presencia de la bacteria en diversos tejidos o sangre y las de tipo indirecto, o también llamadas serológicas, que detectan la presencia de anticuerpos en suero, estas últimas son las más utilizadas en animales vivos (Alder y de la Peña, 2010; Alder, 2015), donde los anticuerpos pueden persistir por años (Picardeau, 2013). El método a utilizar varía de acuerdo el caso, no depende solo de los recursos disponibles en el laboratorio diagnóstico sino que también de la etapa de infección en la que se encuentre el animal (Fig. 2). Siendo la prueba de referencia es el MAT (OIE, 2008).



**Figura 2.** Diagnóstico a utilizar dependiendo la etapa de infección en la que se encuentre el animal (Adaptado de Alder, 2015)

La selección de las pruebas a utilizar variarán dependiendo del propósito para el que se realizará el diagnóstico y de los recursos disponibles. El diagnóstico de leptospirosis no es únicamente para determinar la causa de la enfermedad clínica, sino que también se puede evaluar el estado inmunitario del animal para ver la utilidad de programas de control y/o erradicación, para realizar estudios epidemiológicos, para comercio internacional o para evaluar la introducción de animales en predios libres (OIE, 2008; Alder 2015).

### 5.7.1.DIRECTO

Dado que los animales en estado de portador excretan la bacteria de forma intermitente, no siempre son efectivos estos métodos de diagnóstico. Si son eficientes en aquellos animales que se encuentren en la fase de bacteriemia inicial, en casos fatales no tratados, en fetos abortados o en la llamada fase de localización, donde las leptospiras se localizan en sitios inmunológicamente protegidos, como los túbulos renales proximales, el tracto genital y el ojo, pudiendo demostrarse su presencia en orina, productos del aborto y humor acuoso (caballo y fetos abortados de todas las especies). La probabilidad de que se identifique el agente disminuye en aquellos casos en los que el animal haya sido tratado con antibiótico previo a la remisión de la muestra para el diagnóstico. El hecho de que se determine la presencia de *Leptospira spp.* en la muestra puede ser un hallazgo y debe ser considerado con precaución, dado que puede indicar simplemente que el animal es portador, no siendo la causa de la enfermedad (Alder, 2015).

Dentro de los métodos directos para la detección de leptospirosis están incluidos: la visualización directa de organismos mediante microscopía de campo oscuro, el aislamiento bacteriano (cultivo) y métodos de detección de ADN, reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se debe tener en cuenta que la sensibilidad de estas pruebas no es del 100%, dado que

la ausencia de leptospiras no indica que el animales no es portador, sino que en ese momento no estaba excretando cantidades detectables de bacterias por la orina (Alder, 2015).

La demostración de leptospiras en fluidos corporales u órganos internos (generalmente riñón, hígado, pulmón, cerebro, glándula suprarrenal, ganglios linfáticos mesentéricos o contenido estomacal) de fetos abortados se considera diagnóstico de leptospirosis de la madre, y es evidencia de infección activa del feto. Sin embargo, la infección de solo tejido placentario no debe tomarse como evidencia de infección fetal (Alder, 2015).

La técnica de PCR ha avanzado mucho con el correr de los años; tiene la ventaja de que no requiere de la presencia de organismos viables y de su capacidad de proporcionar un diagnóstico temprano. A la vez, el PCR a tiempo real es más rápido y sensible que el PCR a tiempo fijo. (Picardeau, 2013). Si bien un PCR positivo demuestra la presencia de leptospiras patógenas, presenta la limitante de que no permite la identificación directa a nivel del serovar (Alder, 2015).

El cultivo y aislamiento bacteriano es muy difícil de realizar, y si se logra, lleva en torno a seis meses dependiendo del serovar con el que se trabaje y el número de organismos viables presentes en la muestra, por lo que muchas veces es poco útil para el diagnóstico rápido de una enfermedad clínica al dificultar la toma de decisiones a corto plazo; sin embargo, puede proporcionar información que es útil en estudios epidemiológicos y en el asesoramiento de medidas de control. A pesar de que la especificidad de esta técnica es del 100%, la sensibilidad suele ser baja (Alder, 2015). De todas formas, el cultivo microbiológico seguido de aislamiento a partir de muestras de orina de animales crónicamente infectados a nivel de riñón es muy importante cuando se busca conocer e identificar cuáles son los serovares circulantes en un determinado rodeo (Manual Terrestre de OIE, 2014).

La microscopía de campo oscuro (MCO) es un método rápido para demostrar leptospiras en fluidos corporales como orina o sangre dado su forma y movimiento tan específico, pero es una técnica que presenta una baja sensibilidad y especificidad, siendo necesario que la muestra presente al menos  $10^4$  organismos/mL (Picardeau, 2013).

### 5.7.2. INDIRECTO

Las pruebas serológicas son el método más utilizado para diagnosticar leptospirosis (Alder, 2015), y como bien se mencionó el MAT es la prueba serológica de referencia (OIE, 2014). Esta técnica se realiza en un microscopio óptico de campo oscuro y requiere la utilización de cepas vivas y puras como antígeno que deben ser conservadas en el laboratorio, debiendo abarcar la mayor cantidad de serogrupos posibles. Consiste en incubar en estufa una serie de diluciones del suero problema con el panel de antígenos que cuenta el laboratorio diagnóstico. Son consideradas positivas o reactivas aquellas muestras que luego de la incubación y observación al MCO muestre el 50% de aglutinación, dejando el 50% de células libres, cuando se lo compara con un control que consiste en un cultivo diluido 1:2 en suero fisiológico (Picardeau, 2013). La sensibilidad de la prueba depende de la etapa de infección en la que el animal se encuentre (Alder, 2015), siendo una técnica subjetiva y difícil de realizar, que necesita la presencia en el laboratorio de gente capacitada. Es importante tener presente que el MAT es específico de Serogrupo no de Serovar (Picardeau, 2013).

Los serogrupos que se utilizan en la técnica MAT varían según la especie o región, como regla general para que el MAT sea eficiente debe contener al menos un serovar de cada

serogrupo existente. Dado que la sensibilidad de los serogrupos varía entre especies, esto también se debe tener en cuenta a la hora de conformar el panel de antígenos. También aumenta la sensibilidad de la técnica el implementar serogrupos propios de la región, por lo que un estudio varía de una región a otra por contener diferentes antígenos, no siendo en la mayoría de las veces comparables (Pinto y col., 2016). Es por eso que la inclusión de serovares correctos en el panel de antígenos requiere de un amplio conocimiento epidemiológico de los serovares circulantes de la zona (Verma y col., 2013). El serovar Patoc I por ejemplo, se incluye en general en el panel de antígenos a pesar de que pertenezca a un serogrupo no patógeno (*Leptospira biflexa*), debido a que presenta reacción cruzada con otros serogrupos patógenos (Picardeau, 2013), ayudando en la detección más temprana en una infección en curso (Aguar y col., 2008 citado por Ferreira-dos Santos y col., 2016).

El punto de corte del MAT más comúnmente utilizado para determinar la reactividad o positividad en equinos es 1:100 (Verma y col., 2013), en cuanto a la interpretación de los resultados se debe tener en cuenta que títulos superiores a 1:400 en suero demuestran infecciones recientes, mientras que títulos de 1:100 pueden interpretarse como infecciones crónicas o más antiguas, o bien infecciones en etapas muy tempranas (de Oliveira y col., 2014); en casos como este último, es importante remitir al laboratorio sueros pareados con un intervalo de 7 a 10 días, si los títulos se mantuvieron constantes en ese periodo de tiempo lo más probable es que se trate de una infección crónica, pero si estos aumentaron, se tratará de un animal en una etapa temprana de infección (Faine y col., 1999). De todas maneras es una técnica con limitaciones severas en el diagnóstico de aborto o en la identificación de animales crónicos, en los que los títulos disminuyen o son estáticos. Los animales infectados de forma crónica pueden tener títulos de MAT por debajo de 1:100 (Alder, 2015).

A pesar de que esta prueba diagnóstica es la más utilizada, en muchos casos la interpretación del resultado se hace difícil, tanto por la existencia de reacción cruzada entre serogrupos distintos como por la existencia de anticuerpos inducidos por las vacunas comerciales, los cuales no se diferencian de los producidos ante infecciones naturales (Levett, 2001), si bien en Uruguay no existen vacunas comerciales para equinos, este es un factor importante a tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados de laboratorio. Algunos autores han reportado proteínas que se encuentran en mayor cantidad durante la infección y no así en cultivo que podrían ser candidatas para el diseño de técnicas serológicas que diferencien animales infectados de vacunados (Velineni y col., 2016)

Dado la complejidad que implica realizar el MAT, múltiples pruebas diagnósticas se han implementado en el correr de los años que detectan la presencia de IgM e IgG específicos de *Leptospira spp.*, tales como el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), el test de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) y el test de hemoaglutinación indirecta (IHA). Las principales limitaciones que han surgido en cuanto a el desarrollo de ELISA comerciales es que la validación de estos kits se realizan contra el MAT, el cual como bien se mencionó es una prueba muy subjetiva y la sensibilidad es baja en el caso de infecciones crónicas (Alder, 2015).

## 5.8. EPIDEMIOLOGÍA

Como bien se mencionó anteriormente, la leptospirosis es una enfermedad de distribución mundial que se ha detectado en todas las regiones a excepción de los polos, y en todas las especies animales en las que se la ha buscado. Dentro de las especies domésticas parece haber un rango de susceptibilidad a la infección, los caballos son susceptibles a una amplia gama de

leptospiras. El punto central en la epidemiología de la leptospirosis es el portador renal que excreta leptospiras al ambiente (Alder, 2015).

En regiones endémicas la forma subclínica es la más común (Pinto y *col.*, 2016), pero esto va a variar de acuerdo al serovar infectante, dado que puede suceder que una región sea endémica para un serovar pero no para otro (Alder, 2015). La prevalencia de un serovar en una región dependerá en gran medida del ambiente o región, de la presencia de factores de riesgo y de las fuentes de contaminación existentes (Coiro et al 2012; de Oliveira y *col.* 2014), siendo un factor predisponente las zonas lluviosas con altas temperaturas (Hamond y *col.* 2014), con saneamiento y control de roedores deficiente y en sistemas mixtos de manejo de animales domésticos favoreciendo la contaminación ambiental y la supervivencia de *Leptospira spp.* en el medio (Alder, 2015). A la vez, se ha visto que en aquellos lugares donde hay una sobrepoblación de roedores, el principal serovar infectante es el Icterohaemorrhagiae, dado que esta especie es el principal reservorio del serovar (Coiro et al 2012).

### 5.8.1.SEROPREVALENCIA

Si bien, dado la naturaleza zoonótica que tiene la leptospirosis, es importante identificar la prevalencia y serovares predominantes en una población de equinos y considerar diferencias entre regiones y especies (de Oliveira y *col.*, 2014); se debe tener en cuenta que las prevalencias entre estudios no solo varían de acuerdo al área o región de estudio (Verma y *col.*, 2013), sino que también dependen de las condiciones ambientales con mayor prevalencia en áreas tropicales que en templadas (Hamond y *col.* 2014), el diseño del muestreo, el número y tipo de serovares empleados en las pruebas serológicas y el punto de corte utilizado (de Oliveira y *col.*, 2014)

En Lituania se observó que los serogrupos más prevalentes en 440 équidos (18.6% seropositivos) eran Canicola (33%) seguido por Copenhageni, Grippotyphosa, Sejroe, Saxoebing y Pomona (Stankevičienė y *col.*, 2016). Mientras que en Sudáfrica el serovar más prevalente fue Bratislava (Simbizi y *col.*, 2016). En otro estudio realizado por Hartskeel y *col.* (2004) en el oeste de Europa se encontró que en aislamientos a partir de muestras intraoculares el 78,2% correspondían al serogrupo Grippotyphosa, seguidos por Australis 14.2% y Sejroe 3.6%.

En la provincia de Alberta, Canadá se llevó a cabo un estudio epidemiológico con 1923 equinos de los cuales el 94,6% fueron positivos al serovar Icterohaemorrhagiae, el 56,6% al serovar Bratislava, el 46,5% a Copenhageni y el 43,5% a Autumnalis. (Lees y Gale, 1994). Por otro lado, Pinto y *col.* (2016) realizaron una revisión sistemática de 23 artículos de Latinoamérica en donde concluyeron que los serogrupos más prevalentes fueron Icterohaemorrhagiae, seguido por Australis, Pomona, Pyrogenes, Panamá, y Andamana. En Nueva York un estudio de seroprevalencia fue realizado en 1998, para el que se utilizaron 2967 equinos seleccionados de forma aleatoria, la técnica utilizada fue el MAT (punto de corte 1:100), que contenía en el panel de antígenos 7 serovares de *Leptospira interrogans*. Los resultados que arrojó este estudio fueron para Bratislava 40.7% de seropositividad, Autumnalis 35.1%, Canicola 16.2%, Icterohaemorrhagiae 11.3%, Pomona 7.6%, Grippotyphosa 6.5% y Hardjo 1.0% (Barwick y *col.*, 1998).

En Argentina uno de los primeros trabajos que se realizó fue en el año 1976, en donde se tomaron muestras de suero de 245 caballos de matadero determinando la seroprevalencia por medio del MAT (título de corte 1:100); en este estudio el 74,6 % de los equinos fueron

positivos, siendo los serovares predominantes Pomona, Pyrogenes, Tarassovi y Canicola (Myer, 1976). Por otro lado, en la región central de Chile se realizó una investigación en 426 caballos (160 de carrito y 266 del ejército) por medio de la técnica MAT con 6 serovares en el panel de antígenos; el 26% de estos equinos fueron positivos siendo los serovares más prevalente Ballum y Canicola en el caso los de origen urbano, mientras que para los equinos correspondiente al ejército fueron Autumnalis seguido por Ballum (Tadich y col., 2016).

Múltiples trabajos de seroprevalencia se han realizado en Brasil, habiendo gran variación entre las regiones. En Rio de Janeiro se realizó una investigación con estudios de los últimos 20 años, en el que se evaluaron un total de 695 equinos con la técnica MAT utilizando 24 serovares. Los serogrupos más prevalentes fueron Icterohaemorrhagiae y Australis, donde el serovar Icterohaemorrhagiae se lo encontró más fuertemente asociado a áreas urbanas (Martin y Lilenbaum, 2013). En el sur de Brasil se encontró que los serovares más prevalentes en equinos con sospecha de leptospirosis fueron Bratislava (Serogrupo Australis) (32.72%), seguido por el serovar Copenhageni (serogrupo Icterohaemorrhagiae) (24.54%), Canicola cepa Tande (serogrupo Canicola) (21.82%), y Bataviae (serogrupo Bataviae) (20.90%). Estas muestras fueron tomadas del Centro de control de zoonosis de la universidad federal de Pelotas en 240 equinos con signos de uveítis, aborto tardío, fiebre, letargia y/o falla hepática o renal. En este trabajo no se encontró asociación con eventos de lluvia y equinos infectados (Jorge y col., 2017).

En otro trabajo en el sur de Brasil se realizó un estudio de seroprevalencia a 767 caballos con destino a mataderos o frigoríficos mediante la técnica MAT, empleando un total de 24 serovares de *Leptospira spp.* y un punto de corte de 1:100. El 89.6% de los equinos fueron positivos a *Leptospira spp.* siendo los serovares más prevalentes Patoc (9.9%), Butembo (9.1%), Australis (7.8%), y Bratislava (5.9%). Estos niveles tan altos de seropositividad pudieron deberse a faltas de medidas de higiene en los lugares donde se crían este tipo de caballos y a que la mayoría de estos se utilizaban para el trabajo en zonas urbanas, estando en contacto permanente con otras especies animales, inclusive roedores. A la vez estos autores encontraron una mayor proporción de hembras positivas que de machos, lo que se lo adjudicaron al tipo de manejo que tiene cada sexo en esta región (Ferreira-dos Santos y col., 2016).

En la región de Pernambuco 100 sueros equinos fueron evaluados mediante la técnica MAT con 20 serovares de *Leptospira spp.*, siendo los más prevalente Patoc (35.71%), Butembo (32.14%) y Sentot (14.30%). Si bien el serovar Patoc no es patógeno en equinos su diagnóstico tiene una importancia epidemiológica ya que se han aislado en cultivos de materiales de humanos clínicamente infectados y en otras especies animales, a su vez se ha observado la existencia de reacción cruzada con otros serovares patógenos. (Alexandre y col., 2016). Por otro lado, en Sao Paulo, se extrajeron 714 muestras de suero de las cuales 128 dieron positivo a uno o dos serovares de *Leptospira spp.* siendo los más prevalentes Icterohaemorrhagiae (56.3%), Canicola (11.7%), Castellonis (6.3%) y Bratislava (5.5%) (Coiro et al 2012).

Por último, en un estudio realizado en Paraná se analizaron mediante la técnica MAT 161 sueros de equinos provenientes de 40 propiedades. En esta oportunidad fueron empleados en la técnica 20 serovares de *Leptospira spp.*, siendo reactivos el 48.4% de los animales, mientras que en 87.2% de las propiedades había al menos un equinos seropositivo. Los serovares más prevalentes fueron Sentot y Castellonis, este último usualmente es un serovar circulante en la población de bovinos, estando asociada la seropositividad de los equinos con la crianza conjunta de bovinos y equinos en un mismo predio (Hashimoto y col., 2010).

En cuanto al Uruguay, los únicos registros encontrados datan de 1971. En dicho trabajo se muestrearon 274 equinos con destino a faena, hubo una seropositividad del 51,82% siendo los serogrupos más prevalentes Tarassovi, seguida por Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Hebdomadis, Ballum, Canicola, Bratislava, Butembo y Autumnalis (Caffarena y col. 1971).

## 5.8.2.FACTORES DE RIESGO

### Áreas urbanas

Si bien no está totalmente clara la relación entre una infección con un serovar específico y el ambiente (Houwers y col. 2011), muchos estudios han demostrado que equinos que viven en áreas urbanas o en zonas cercanas, tienen un mayor riesgo de infección por *Leptospira spp.* (de Olivera y col., 2014; Finger y col., 2014; Tadich y col., 2016), esto puede deberse básicamente a la convivencia directa o indirecta con otras especies de animales, como son roedores, perros y suinos (Tadich y col., 2016). Finger y col. (2014) realizaron un estudio en 62 caballos de carrito de los cuales el 75.8% fueron positivos a *Leptospira spp.*, el serovar más prevalente fue Icterohaemorrhagiae (80.8%), lo cual era esperable dado que están asociados a áreas urbanas y con altas cargas de roedores; de todas maneras no se logró detectar esta bacteria ni en sangre ni en orina de los equinos infectados a través de PCR.

### Convivencia con otras especies animales

Dado que la leptospirosis se transmite ya sea de forma directa o indirecta entre especies, se ha visto asociada la convivencia de los equinos con otras especies animales y la infección con distintos serovares, los que van a variar de acuerdo a la especie que esté en contacto con los equinos a estudiar. Por ejemplo, el contacto con bovinos se los ha vinculado a infecciones con el serovar Castelloni (Coiro y col., 2012), Hardjo y Pyrogenes; con las cabras el serovar Panamá; y con los perros los serovares Canicola, Pyrogenes e Icterohaemorrhagiae (de Olivera y col., 2014).

Por el contrario, otro estudio reportó que un posible factor de protección contra la seropositividad al serovar Bratislava era la presencia de perros, por su colaboración en el control de roedores (Tsegay y col., 2016).

Los roedores y animales silvestres son importantes diseminadores de la enfermedad, estando el serovar Icterohaemorrhagiae altamente asociado a la presencia de roedores en el medio, lo que es esperable dado que esta especie es el huésped de mantenimiento del serovar y por ende el principal diseminador; el serovar Grippytyphosa también se lo vio asociado al contacto con roedores y otra fauna salvaje (de Olivera y col., 2014). Este tipo de transmisión se ve favorecida más aún en predios en los que se implementa la alimentación de forraje mal almacenado (Alexandre y col., 2016)

De forma similar, se encontró que un posible factor de riesgo podría ser la existencia de forestación en los campos vecinos o donde están alojados los caballos, dado que este ambiente es favorable para alojar roedores y otros pequeños mamíferos que son reservorio para *Leptospira spp.*, facilitando la transmisión de la enfermedad a los equinos. Este hallazgo coincide con lo reportado por Richard y Oppliger (2015), los que asociaron las infecciones en humanos con actividades laborales en áreas forestales (Simbizi y col., 2016).

## Edad

Se ha visto una asociación positiva entre la edad de los caballos y niveles de infección (Lees y Gale, 1994), siendo que caballos adultos mayores a 13 años tienen mayor probabilidad de infección que los jóvenes (Tsegay y col., 2016). Por el contrario, un estudio epidemiológico realizado en 257 équidos determinó que animales entre 2,5 y 11 años tienen 0,4 veces menos riesgo de infección que aquellos animales menores a 2,5 años (de Oliveira y col., 2014).

## Clima y presencia de suelos inundables

Como bien se mencionó a lo largo de la revisión, la presencia de leptospiras está determinada en gran medida por las condiciones ambientales como temperatura y humedad que favorecen la proliferación de las bacterias (Houwens y col., 2011). Se ha comprobado los equinos son importantes diseminadores de la enfermedad en áreas urbanas, sobre todo cuando las condiciones ambientales tales como lluvias e inundaciones favorecen la proliferación del agente en el medio, en un estudio llevado a cabo en Rio de Janeiro, Brasil se demostró que los niveles de anticuerpos en equinos urbanos aumentaban cuando estos permanecían en suelos inundados por más de 72 horas, en este estudio el serovar más prevalente fue Copenhageni (Hamond y col., 2012). Parecería ser que climas lluviosos favorecería la transmisión del agente, más que nada en suelos fácilmente inundables en donde las condiciones higiénico sanitarias no son buenas (Coiro y col., 2012; Finger y col., 2014; Hamond y col., 2014).

Así, en países tropicales el serogrupo más prevalente parecería ser el Icterohaemorrhagiae, tales como los serovares Icterohaemorrhagiae y Copenhageni, siendo los roedores los huéspedes de mantenimiento (Hamond y col., 2012 citado por Hamond y col. 2014). Si bien altas seroprevalencias se las han asociado a altas temperaturas y periodos extensos de inundaciones (zonas de pantano) (Silva Pinto y col., 2011). Oliveira y col. (2014) no encontraron diferencias significativas entre niveles de infección y presencia de lluvias.

## Sexo

A pesar de que caballos jóvenes y hembras preñadas parecerían ser más susceptibles a infecciones con *Leptospira spp.* (León y col. 2006 citado por Coiro y col. 2012), Coiro y col. (2012) no encontraron relación entre sexo o entre niveles de infección entre machos y hembras.

## Raza

Coiro y col. (2012) no encontraron diferencias significativas en niveles de infección de acuerdo a la raza lo que sugiere que la infección en caballos es de acuerdo a la presencia de factores de riesgo en el medio ambiente. De todas maneras, se ha visto que la raza Appaloosa tiene un mayor riesgo de contraer uveítis a causa de infecciones por *Leptospira* (Verma y col., 2013).

## Tipo de explotación

El tipo de explotación (extensiva, semi-intensiva e intensiva) parecería ser un factor de riesgo en infecciones por leptospirosis en equinos, estando altamente influenciado por el tipo de alimentación (con o sin suplementación), fuente de agua, condiciones sanitaria, presencia de otras especies animales y por la densidad animal, siendo que niveles de infección fueron superiores en predios con más de 30 equinos (de Oliveira y col. 2014).

La suplementación con granos son muy frecuentes en algunos tipos de explotación, más que nada durante el invierno. Se ha visto una asociación entre esta práctica e infecciones con los serovares Icterohaemorrhagiae y Copenageni, pudiendo estar relacionado a la contaminación de este alimento con orina de roedores (Houwens y col. 2011).

## 5.9. TRATAMIENTO

Como cualquier infección bacteriana, un tratamiento eficiente contra la leptospirosis debe incluir el uso de antibióticos adecuados, un buen tratamiento sintomático y de sostén. Estas medidas van a variar dependiendo de qué especie animal se trate y el valor económico que tenga (Alder, 2015). Para el caso particular de los equinos, hay escasa información sobre tratamientos específicos, la mayoría de los autores realizan una extrapolación de tratamiento en otras especies (Verma y col., 2013). Los antibióticos a utilizar pueden variar según su seguridad en una especie animal, la disponibilidad en un país o región, el costo y la vía de administración (Alder, 2015).

Para el caso de leptospirosis aguda, la combinación de penicilina y estreptomina ha sido la terapia antibiótica de elección, pero también se han utilizado ampicilina, amoxicilina, tetraciclinas, tulatromicina y cefalosporinas de tercera generación (Alder, 2015). En hembras con altos títulos de anticuerpos una dosis alta de penicilina G (20 millones de UI, dos veces al día) es recomendado para prevenir la infección de la placenta y consecuentemente el feto (Verma y col., 2013). En el caso de animales con infección crónica, el tratamiento suele ser el mismo, la estreptomina (10 mg/kg) y/o la penicilina (10000-15000 UI/kg) son los antibióticos más empleados para este tipo de tratamiento, siendo las tetraciclinas una buena alternativa (Verma y col., 2013).

Como bien se mencionó, es muy frecuente en equinos el desarrollo de uveítis recurrente como secuela de infecciones por *Leptospira spp.*. En estos casos el tratamiento recurrente tiene como principal objetivo reducir la inflamación, no habiendo mucha información de la utilidad de los antibióticos en este tipo de afección (Verma y col., 2013). De todos modos se ha reportado que la utilización de cefalosporinas de tercera generación pueden llegar a ser útiles. La vitrectomía de la pars plana es una opción quirúrgica que se puede implementar en estos casos (Alder, 2015).

## 5.10. CONTROL

Los principios del control de la leptospirosis son los mismos para la mayoría de las especies animales y se basan en la interrupción de la transmisión directa e indirecta de la infección, y así controlar dicha infección tanto en los animales como en los humanos. Las variaciones se deben esencialmente al número de animales del que se trate, de la facilidad de acceso a los animales, las herramientas disponibles y la viabilidad económica del control (Alder, 2015). A la vez, es indispensable primero definir el serovar o al menos el serogrupo actuante para entender la transmisión de la enfermedad (Hamond y col. 2014), de aquí la importancia de determinar la seroprevalencia de los distintos serovares en un área o región, lo que dependerá fundamentalmente de tres puntos clave: la muestra, el panel de antígenos y el punto de corte definido en la técnica diagnóstica (Pinto y col., 2016).

Entonces, para establecer un programa de control eficiente se deberá tener en cuenta la ubicación geográfica, el número de animales, los serovares infectantes, los huéspedes de

mantenimiento, los medios de transmisión, los factores de riesgo y las opciones de control disponibles. Las herramientas más comúnmente utilizadas incluyen: vacunación, antibioticoterapia, evaluación del estado de rebaño / población (perfil), identificación y eliminación de animales infectados, control de roedores y reducción de los factores de riesgo presentes en el medio (Alder, 2015).

Un factor importante a tener en cuenta en cualquier programa de control es evitar la presencia de roedores (que son los huéspedes de mantenimiento más importantes y principales diseminadores) y la correcta higiene del lugar (Verma y col., 2013; Alder, 2015; Días y col., 2015), como por ejemplo la limpieza de alcantarillas y almacenar de forma correcta los desechos urbanos; además la educación en salud de la población expuesta en una medida que vale la pena implementar (Dias y col., 2015).

A pesar de que no existe vacuna comercial disponible para leptospirosis en equinos, una medida de manejo a implementar podría ser la vacunación de animales que estén en contacto con los equinos, como ser los bovino y caninos (Verma y col., 2013). De todas maneras, es importante tener en cuenta que la vacunación es el método de control más práctico y fácil. Las principales desventajas que presenta son por un lado los costos y, por el otro, la inclusión de antígenos (serovares) que no son los prevalentes en la zona. Cuando se va a proceder a utilizar una vacuna es imprescindible que contenga los serogrupos contra los que se quiere inmunizar a los animales, de lo contrario no será efectiva (Alder, 2015).

Los antibióticos tienen un papel importante en los programas de control. Cuando se ha establecido una infección activa en un predio, a menudo se usan antibióticos al comienzo de un programa para reducir o eliminar la infección de los animales portadores antes de iniciar un programa de vacunación o prueba y erradicación. Los antibióticos también se pueden usar como parte de un proceso de cuarentena, mediante el cual los animales comprados se ponen en cuarentena y se los trata con antibióticos sistémicos (penicilina y estreptomycin) antes de ponerse en contacto con los animales del predio (Alder, 2015).

La identificación y eliminación de animales portadores es un procedimiento utilizado en el control de muchas enfermedades infecciosas de los animales, pero no tiene ningún valor en la leptospirosis animal, ya que ninguna prueba identificará de manera confiable a los animales portadores en ninguna de las especies domésticas (Alder, 2015).

## 5.11. INFECCIÓN EN HUMANOS

La leptospirosis en humanos puede variar en severidad de acuerdo con el serovar infectante de *Leptospira spp.*, la edad, la salud y la competencia inmunológica del paciente. Va desde una enfermedad leve similar a la influenza hasta una infección grave con insuficiencia renal y hepática, afección pulmonar e incluso la muerte, en mujeres embarazadas se debe tener en cuenta el riesgo de infección intrauterino y la consiguiente muerte fetal. La prevalencia es mayor en países tropicales pudiendo encontrarse más de un serotipo en un mismo lugar geográfico (Alder y de la Peña, 2010).

En cuanto a la variedad de esta enfermedad según los serovares infectantes, podemos decir a modo de ejemplo que la serovar Hardjo generalmente comienza con un dolor de cabeza repentino, fiebre de 39°C, malestar general, mialgia, congestión y erupción de mucosas conjuntivales. Por otro lado, infecciones con el serovar Pomona pueden tener un curso grave ocasionado por insuficiencia renal, mientras que la colecistitis severa ha sido reportada en

infecciones de Hardjo (Alder y de la Peña, 2010). Infecciones con serotipos Icterohaemorrhagiae (Alder y de la Peña, 2010; de Oliveira y col., 2014), Copenhageni, Lai y otros generalmente son graves (Alder y de la Peña, 2010). Las infecciones más frecuentes ocurren con el serovar Icterohaemorrhagiae, por ser los roedores como las ratas huéspedes perfectamente adaptados (Picardeau, 2013).

Se debe de realizar un diagnóstico diferencial clínico entre leptospirosis y gripe grave, meningitis viral, afecciones abdominales agudas y glomerulonefritis. Algunas secuelas pueden ser la debilidad, cansancio, depresión e incluso la psicosis, que pueden impedir el regreso a la vida normal durante semanas o meses (Alder y de la Peña, 2010).

En un estudio realizado por Schelotto y col. (2012) en Uruguay se estimó que cada 100.000 habitantes 15 están infectados con *Leptospira spp.*, afectando mayormente a hombres jóvenes que trabajan en zonas rurales. La principal fuente de infección en estos caso fueron bovinos infectados, siendo las lluvias e inundaciones factores importantes que influyen en la tasa de incidencia (Schelotto y col., 2012). Las especies más frecuentemente aisladas de humanos infectados en el país fueron *Leptospira interrogans* y *Leptospira kirschineri*, siendo los principales reservorios animales rurales. (Meny y col., 2017).

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. OBJETIVO GENERAL**

Distribución de serogrupos y caracterización de la población de equinos con sospecha de Leptospirosis remitidos al laboratorio DILAVE-DGSG-MGAP el periodo 2013 -2017.

### **6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Describir la distribución de serogrupos/serovares en la población de equinos
- Describir la distribución de razas, tipo de explotación (deportivo, reproducción, producción, de trabajo) y edad de la población de equinos.
- Asociar los resultados del laboratorio con la forma de presentación de la enfermedad y signos clínicos proporcionados por los veterinarios.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el estudio propuesto, se llevó a cabo un estudio descriptivo con todas las muestras e historia clínica de equinos remitidas al Departamento de Bacteriología, Servicio de leptospirosis del laboratorio DILAVE-DGSG-MGAP entre el 1° de enero de 2013 al 31 de diciembre de 2017.

El marco de muestreo se integró por 168 registros de muestras de equinos con sospecha de leptospirosis. La técnica de diagnóstico realizada por el laboratorio fue el MAT. Los serovares utilizados en esta técnica se muestran en la Tabla I., considerándose positiva una muestra cuando el título de corte fuera mayor o igual a 1:100 por lo menos para una serovar. El título máximo para las muestras fue de 1:6400. La serovar Bratislava no se agregó entre los años 2015 y 2017 debido a que se perdió del cepario original. Se definió la unidad de estudio a la muestra de suero equina remitida a DILAVE con su correspondiente historia clínica. Para el análisis se asumió que los animales no estaban vacunados ya que Uruguay no tiene antecedentes de registro y venta de vacunas para equinos. Asimismo el dato de vacunación no surge en las recetas médicas que acompañaron a la muestra en su ingreso a DILAVE.

**Tabla I.** Serovares utilizados para el diagnóstico de Leptospirosis en equinos por medio del MAT en el laboratorio DILAVE-DGSG-MGAP

<b>Especie</b>	<b>Serogrupo</b>	<b>Serovar</b>	<b>Cepa</b>
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	Jez-Bratislava
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus 127
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis	Castellon 3
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Van Tienen
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Paidjan	Paidjan
<i>L. interrogans</i>	Canícola	Canícola	Hond Utrech
<i>L. weilii</i>	Celledoni	Whitcombi	Whitcombi
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moska V
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M 20
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Ictero I
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA

<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Veldrant Batavia 46
<i>L. noguchii</i>	Lousiana	Lousiana	LSU 1945
<i>L. kirschneri</i>	Pomona	Mozdock	5621
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Zanoni	Zanoni
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjo	Hardjo-bovis
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolfii	3705
<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc I
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Tarassovi

Se construyó una base de datos donde se incluyeron como variables de estudio los resultados del MAT para cada serogrupo y los datos proporcionados por los veterinarios: departamento, edad, raza, tipo de explotación (deportivo, reproducción, producción, de trabajo), forma de presentación de la enfermedad y signos clínicos; así como también la distribución anual de estos casos. La forma de presentación se la clasificó en:

1. Oftalmológica: si el equino presentaba signos clínicos oculares.
2. Reproductiva: en los que el motivo de remisión era por causa de aborto.
3. Aguda: en aquellos casos en los que presentaba al menos un signo clínico característico de la fase aguda de la enfermedad (fiebre, hemoglobinuria, ictericia, anorexia, depresión, debilidad e incluso la muerte).

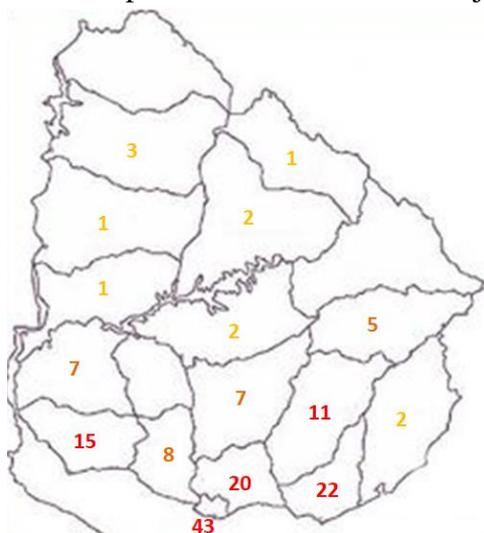
Se optó por crear una variable en donde se diferencian los caballos rurales de los suburbanos y urbanos, para esto se los adjudicó a la categoría de caballos rurales a todos aquellos provenientes de cualquier departamento del país a excepción de Canelones y Montevideo, a estos últimos se los consideró como caballos urbanos o suburbanos.

Los datos fueron procesados por medio del programa STATA/IC 2015 siendo el estudio de tipo descriptivo.

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Descripción de datos remitidos

En el periodo comprendido entre los años 2013 y 2017 se remitieron al laboratorio DILAVE-MGAP un total de 168 muestras serológicas de equinos, provenientes de 16 departamentos del país (Figura 3.). Del total de muestras se contó con información del 72% (121/168) de los casos, en la Tabla II. se muestra la proporción de datos con la que se trabajó en cada variable de acuerdo a la información remitida por el veterinario de libre ejercicio.



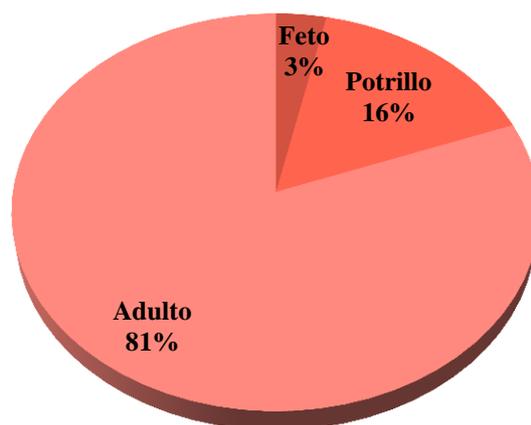
**Figura 3.** Distribución geográfica de las muestras de equinos remitidas al laboratorio DILAVE-MGAP entre los años 2013 a 2017.

**Tabla II.** Proporción de datos que se obtuvo de cada variable de acuerdo a la información remitida por el veterinario de libre ejercicio.

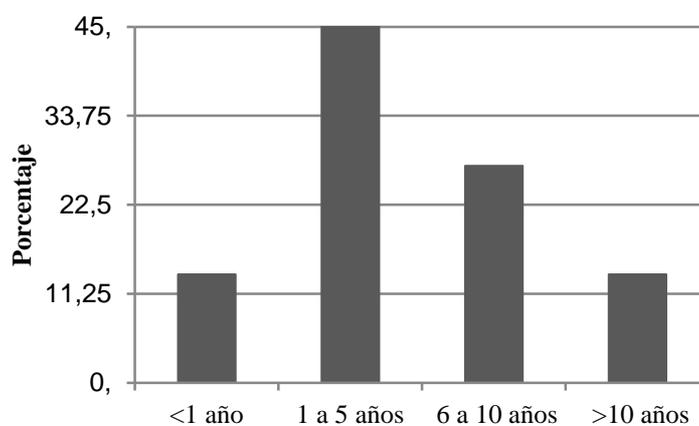
Variable	n*	Porcentaje de datos (%)
Departamento	150	89,3
Raza	52	31,0
Sexo	94	56,0
Categoría	88	52,4
Edad	51	30,4
Explotación	32	19,0
Forma Clínica	40	23,8
Signos	40	23,8

\*Número de casos con los que se cuenta con información de la variables

Del total de casos remitidos y con los que se contó con la información, el 55,8% fueron de raza Sangre Pura de Carrera (SPC), seguidos por la raza Criolla (23,1%), Cruza (15,4%), Árabe (3,85%) y por último Cuarto de Milla (1,2%). Las categorías se muestran representadas en la Figura 4. donde se observa que la predominante es la categoría de adultos. Las edades abarcaron desde 4 días a 18 años, siendo la moda 5 años y la media  $5,6 \pm 4,5$  años. Cuando se categorizó esta variable, se observó que el 45% de los equinos remitidos al laboratorio tenían de 1 a 5 años (Figura 5.).



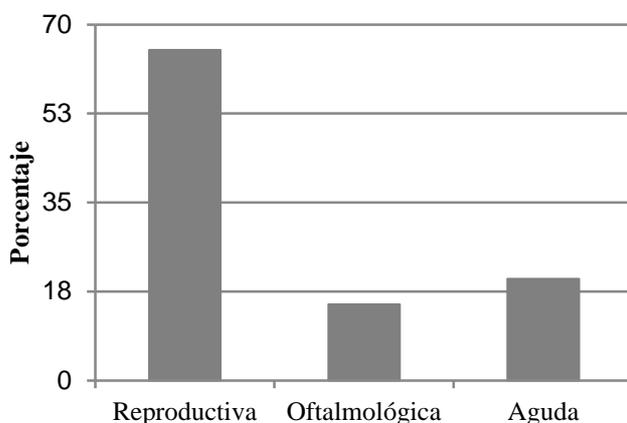
**Figura 4.** Distribución de la variable categoría de los casos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.



**Figura 5.** Distribución de la variable edad de los casos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.

Si bien en el 81% de los casos no se contaba con el tipo de explotación en la que se alojaban los equinos, la distribución del 19% de los casos que sí presentaban los datos se dividía en: 31,2% a explotaciones deportivas, 25% a pensionados, el 21,9% a explotaciones ganaderas (caballos de campo o de trabajo) y el 21,9% a haras o explotaciones dedicadas exclusivamente a la reproducción. En cuanto a la variable sexo, el 19,2% de los casos fueron machos, mientras que el 80,8% fueron hembras. Se considera importante mencionar que 91,7% de los signos clínicos remitidos correspondieron a yeguas, y las formas de presentación tanto reproductiva como oftalmológica fueron en su totalidad de hembras, mientras que la

forma aguda fue un 57,1% (4) de hembras y un 42,9% (3) de machos. En la Figura 6. se representa las formas clínicas de presentación, siendo la causa de remisión más frecuente la forma reproductiva.

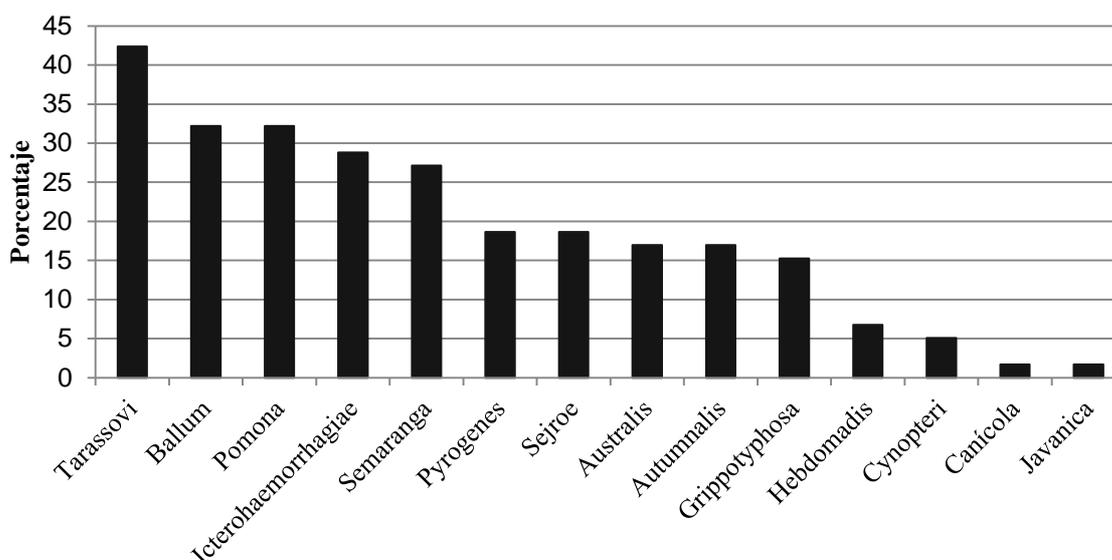


**Figura 6.** Distribución de la forma de presentación de los casos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.

Al clasificar a los equinos de acuerdo a sí pertenecían a áreas urbanas/suburbanas o rurales según el departamento de origen, se observó que el 58% correspondía a caballos de zonas rurales y el 42% a caballos de zonas urbanas o suburbanas.

## 8.2. Resultado laboratorio

De la totalidad de casos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP durante el período de estudio, 35,1% (59/168) de las muestras resultó reaccionante para al menos un serogrupo. Cada caso positivo correspondió a un único envío de muestra por parte del propietario ya que no se registraron envíos de muestras pareadas durante el periodo de estudio. Dentro de los casos positivos, los serogrupos de *Leptospiras* patógenas más frecuentemente encontrados fueron Tarassovi (42,4%), Ballum (32,2%) Pomona (32,2%) e Icterohaemorrhagiae (28,8%) (Figura 7.); por el contrario, no hubo equinos reaccionantes a los serogrupos Bataviae, Celledoni y Lousiana. Es importante destacar que en los porcentajes descritos en la Figura 7. puede un mismo caso estar representado por más de un serogrupo, dado que hubo coaglutinaciones entre serogrupo, siendo un mismo animal seropositivo a uno o más serogrupos según el caso. Cuando se evaluaron los serogrupos más prevalentes de acuerdo al año, se observa que a excepción de pequeñas variaciones, los serogrupos más prevalentes en este estudio se mantuvieron respecto a los datos generales (Tabla III.)

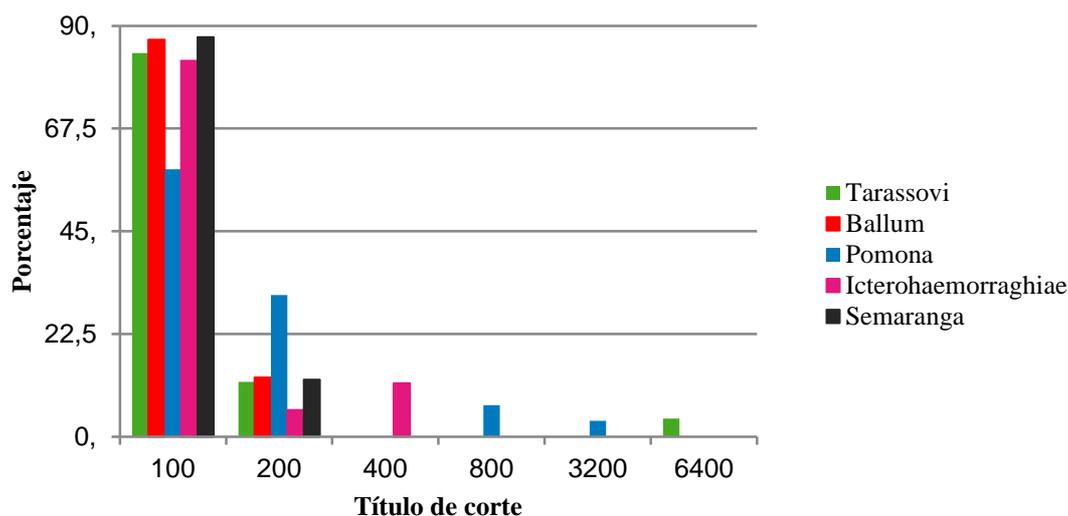


**Figura 7.** Distribución de serogrupos de casos positivos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.

**Tabla III.** Distribución de serogrupos por año de los casos positivos remitidos a DILAVE-MGAP entre los años 2013 a 2017

<i>Serogrupo</i>	<i>2013</i>	<i>2014</i>	<i>2015</i>	<i>2016</i>	<i>2017</i>
Tarassovi	62,5	0	23,5	46,7	60
Ballum	30,8	50	52,9	13,3	20
Pomona	23,1	0	47,1	33,3	30
Icterohaemorrhagiae	23,1	75	29,4	40	0
Semarangana	38,5	50	17,7	26,7	20
Pyrogenes	0	0	29,4	13,3	40
Sejroe	7,7	50	47,1	0	0
Australis	23,1	0	17,7	20	10
Autumnalis	30,8	0	11,8	20	10
Grippotyphosa	23,1	25	11,8	6,7	20
Hebdomadis	0	0	11,8	6,7	10
Cynopteri	0	0	5,9	6,7	10
Canicola	7,7	0	0	0	0
Javanica	0	0	5,9	0	0

El título de corte más alto encontrado para el caso del serogrupo Tarassovi fue de 1:6400, Pomona tuvo un título máximo de corte de 1:3200, Australis de 1:800, y Canicola e Icterohaemorrhagiae de 1:400. Ballum, Pyrogenes y Semarangana no superaron títulos de 1:200, mientras que los serogrupos restantes no tuvieron títulos mayores a 1:100. La distribución de los títulos de corte de los serogrupos más prevalentes se observa en la Figura 8. .



**Figura 8.** Distribución de títulos de corte de los serogrupos más prevalentes de casos positivos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.

Como ya se mencionó, un mismo caso podía ser reaccionante a más de un serogrupo, es por eso que en la Tabla IV. se muestra el número de coaglutinaciones que tuvieron los casos, siendo que, en lo que refiere a una coaglutinación indica que la muestra fue reactiva a un único serogrupo por tanto no hubo coaglutinaciones. En estos casos el serogrupo más prevalente fue Tarassovi (7/20) seguido de Pomona (5/20) e Icterohaemorrhagiae (4/20). En los casos en que la muestra fue reactiva a dos serogrupos (2 coaglutinaciones) se observó con mayor frecuencia la coaglutinación entre los serogrupos Semarang y Tarassovi (4/16) y Pomona con Tarassovi (2/16), en ninguno de estos casos los títulos fueron superiores a 1:200. Sacando estos casos no se observó ningún patrón de repetición en el resto de las coaglutinaciones. Se considera importante destacar que los títulos de corte más altos encontrados, coincidieron con los casos en que la muestra fue reactiva a más de un serogrupo, a su vez se observó que a excepción de los serogrupos con títulos altos, el resto de los serogrupo reaccionantes tenían un punto de corte de 1:100.

**Tabla IV.** Número de coaglutinaciones que tuvieron los casos positivos de equinos remitidos al laboratorio DILAVA-MGAP entre los años 2013 a 2017.

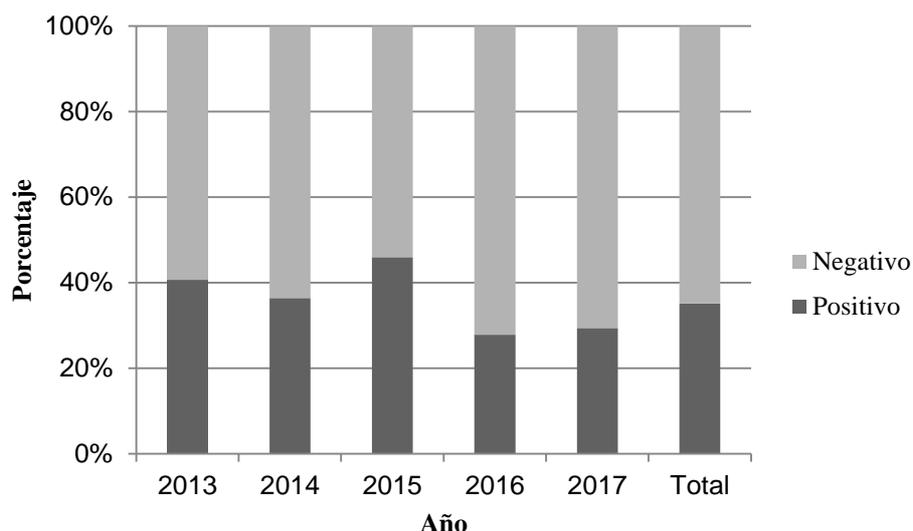
N° de coaglutinaciones*	<i>n</i> (casos positivos)	Frecuencia (%)
1	20	33,9
2	16	27,1
3	7	11,9
4	5	8,5
5	7	11,9
6	1	1,7
7	2	3,4
8	1	1,7
Total	59	100

\*Indica cantidad de serogrupos a los que la muestra fue reactiva.

Si bien en el año 2016 hubo más casos remitidos al laboratorio, en los años restantes, a excepción del año 2014, la cantidad estuvo uniformemente distribuida (Tabla V.). La Figura 9. describe la distribución de casos positivos y negativos de acuerdo al año.

**Tabla V.** Número de casos remitidos por año al laboratorio DILAVE-MGAP.

Año	N	Porcentaje (%)
2013	32	19,0
2014	11	6,5
2015	37	22,0
2016	54	32,1
2017	34	20,2
Total	168	100,0



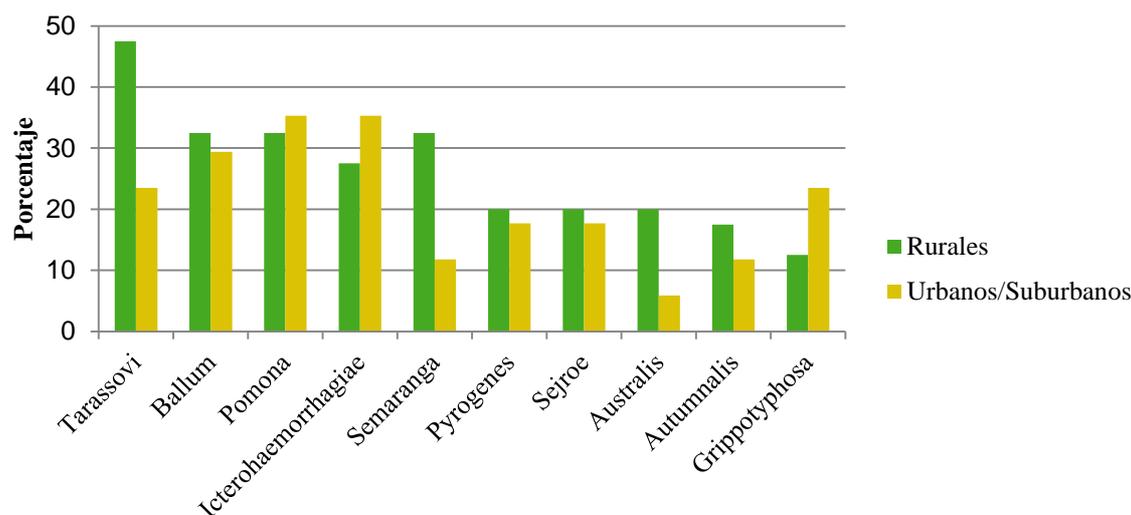
**Figura 9.** Porcentaje de casos positivos y negativos remitidos al laboratorio DILAVE-MGAP según la distribución por años.

En la Tabla VI. se describe la distribución de seropositividad de acuerdo a las raza, el sexo de los animales y la edad. Hubo diferencias marcadas en los niveles de seropositividad entre los caballos urbanos/suburbanos y los rurales, siendo 27 % y 46 % respectivamente, en la Figura 10. se muestra la distribución de los serogrupos de acuerdo a esta variable. Los caballos que se remitieron con signos clínicos oftalmológicos fueron reaccionantes un 33,3%, los que presentaban afecciones reproductivas un 23,1% mientras que para el caso de la forma de presentación aguda fueron un 50% seropositivos, se resalta que tanto para el caso de la forma oftalmológica como aguda fueron muy pocos casos que se tuvieron en cuenta (6 y 8 respectivamente). Al analizarse los casos positivos con sintomatología clínica se observó que la gran mayoría tenía títulos de corte de 1:100, menos cuatro casos que tuvieron títulos de 1:200; estos correspondieron 2 a la forma reproductiva en los que el serogrupo reaccionante fue Ballum y 2 a la forma aguda siendo el serogrupo Pomona.

**Tabla VI.** Proporción de casos positivos y negativos a *Leptospira spp.* de acuerdo a la variable sexo, edad y raza que fueron remitidos al DILAVE\_MGAP entre el año 2013 y 2017

	Negativo (%)	Positivo (%)	<i>n</i>
<i>Sexo</i>			94
Macho	61,11	38,89	18
Hembra	64,47	35,53	76
<i>Edad</i>			51
<1 año	42,86	57,14	7
1 a 5 años	69,57	30,43	23
6 a 10 años	64,29	35,71	14
>10 años	57,14	42,86	7
<i>Raza</i>			52
Árabe	100	0	2
Criollo	33,33	66,67	12
Cruza	20	5,88	8
Cuarto de Milla	0	100	1
SPC*	75,86	24,14	29

\*Sangre Pura de Carrera



**Figura 10.** Distribución de los serogrupos de los casos positivos de acuerdo a caballos de áreas rurales o urbanas/suburbanas remitidos al DILAVE-MGAP entre los años 2013 a 2017.

## 9. DISCUSIÓN

A nivel mundial estudios epidemiológicos reportaron que los rangos de prevalencia pueden ir de 1,5 a 79%, variando claramente entre estudios y regiones (Tadich y col., 2016). En la región, múltiples trabajos de seroprevalencia se han realizado, fundamente en Brasil (Hashimoto y col., 2007; Coiro y col., 2012; de Oliveira y col., 2014; Dias y col., 2015; Alexandre y col., 2016), Chile (Tadich y col., 2016) y en menor medida en Argentina (Hernandez-Rodriguez y col., 2017). Si bien se procederá a comparar algunos de estos trabajos con los resultados obtenidos en el presente estudio, muchas diferencias en los niveles de seroprevalencia estarán influenciados por la técnica empleada, el título de corte utilizado, el método de muestreo, el área o región de estudio (de Oliveira y col., 2014) y la cantidad de serovares incluidos en el panel de antígenos (Simbizi y col., 2016).

De forma general nuestros resultados de positividad fueron similares a los realizados en la región (Martin y Lilenbaum, 2013; Alexandre y col., 2016; Tadich y col., 2016; Jorge y col., 2017). En Rio de Janeiro, Brasil, se tomaron 15 estudios de los últimos 20 años, incluyendo un total de 695 equinos, en este caso la prevalencia de *Leptospira spp.* fue de 39,6% resultados muy similares a los obtenidos en el presente trabajo. En estos estudios se utilizó la técnica MAT con un punto de corte de 1:100 con un panel de antígenos con 24 serovares al igual que en nuestro trabajo, lo que puede contribuir a la similitud observada. Los serogrupos predominantes fueron Icterohaemorrhagiae y Australis (Martin y Lilenbaum, 2013). Por otro lado, un estudio retrospectivo fue realizado en la ciudad de Pelotas, en donde se colectaron muestras de animales con sospecha de Leptospirosis desde el año 2003 al 2007, resultando en 240 equinos con algún signo clínico (uveítis, aborto tardío, fiebre, letargia, y/o falla hepática o renal). El 32,72% de los equinos fueron seropositivos para el serogrupo Australis (serovar Bratislava), seguido por el serogrupo Icterohaemorrhagiae serovar Copenhageni (24,54%), Canicola (21,82%) y Batavie (20,90%). Como era de esperarse el serogrupo Australis fue el más prevalente, al ser el serovar Bratislava el adaptado a esta especie. El punto de corte usado en este caso fue de 1:100, con 16 serovares incluidos en el panel de antígenos (Jorge y col., 2017). Si bien en nuestro trabajo el porcentaje de positividad del serogrupo Australis fue inferior al reportado por Jorge y col. (2017), se considera importante destacar que en los años 2015, 2016 y 2017 la serovar Bratislava no fue utilizada ya que se perdió del cepario. Aunque este serogrupo estuvo representado por la serovar Australis, y se sabe que el MAT es específico de serogrupo y no de serovar, algunos serovares tienden a reaccionar más que otros.

Coiro y col. (2012) realizaron una investigación en San Pablo, donde utilizaron muestras de suero de 714 equinos remitidas inicialmente al laboratorio de estudio para el diagnóstico de anemia infecciosa equina, de los que 17,9% fueron reactivos a *Leptospira spp.*, los serovares más prevalentes fueron Icterohaemorrhagiae (56,3%), Canicola (11,7%), Castellonis (6,3%) y Bratislava (5,5%). Este porcentaje fue más bajo que el de nuestro estudio, destacando que si bien no fue un muestreo aleatorio, no eran equinos con sospecha clínica de leptospirosis, esperando entonces resultados más bajos. A su vez, en el estudio realizado por Alexandre y col. (2016) los serovares más prevalentes en los 100 sueros de equinos utilizados fueron Patoc (35,71%), Butembo (32,14%) y Sentot (14,30%). Si bien en el panel de antígenos utilizado por DILAVE no está presente el serovar Butembo ni Sentot, el primero pertenece al serogrupo Autumnalis y el segundo a Djasiman, como ya se mencionó el MAT es específico de serogrupo y no de serovar (Picardeau, 2013) por lo que el serogrupo Autumnalis está representado en nuestro trabajo, no habiendo serovares pertenecientes al serogrupo Djasiman.

Porcentaje de seropositividad más elevados a nuestro estudio fueron reportado por Hashimoto y col. (2010) y Ferreira-dos Santos y col. (2016). En Paraná se analizaron mediante la técnica MAT 161 sueros de equinos provenientes de 40 propiedades rurales, estas propiedades fueron seleccionadas de forma aleatoria. El panel de antígenos estuvo conformado por 22 serovares de *Leptospira spp.*, siendo el punto de corte utilizado 1:100. El 48,4% de los equinos fueron reactivos a *Leptospira spp.*, en el 87,2% de las propiedades había al menos un equino seropositivo. Los serovares más prevalentes fueron Sentot y Castellonis (Hashimoto y col., 2010), como ya mencionamos en el DILAVE no está incluido el serogrupo Djasiman, sí se utiliza el Serogrupo Ballum serovar Castelloni, siendo también de los serogrupos más prevalentes en este estudio. Las diferencias de seropositividad entre el estudio realizado en Paraná y el nuestro pudo deberse no solo a la falta de el serogrupo Djasiman, sino a que también estos autores muestrearon únicamente propiedades rurales, equinos en este tipo de explotaciones suelen estar en mayor contacto con otras especies animales por lo que los niveles de infección pudieron ser superiores (De Oliveira y col. (2014)); en nuestro reporte el 58% de los equinos remitidos fueron de zona rural siendo el porcentaje restante correspondiente al área urbana/suburbana. En el trabajo de Ferreira-dos Santos y col. (2016) se tomaron muestras de 767 caballos con destino a mataderos o frigoríficos y se analizaron mediante la técnica MAT, empleando un total de 24 serovares de *Leptospira spp.* y un punto de corte de 1:100. El 89,6% de los equinos fueron positivos a *Leptospira spp.* siendo los serovares más prevalentes Patoc (9,9%), Butembo (9,1%), Australis (7,8%), y Bratislava (5,9%). Estos niveles tan altos de seropositividad pudieron deberse a faltas de medidas de higiene en los lugares donde se crían este tipo de caballos ya que la mayoría de estos se utilizaban para el trabajo en zonas urbanas, estando en contacto permanente con otras especies animales, inclusive roedores. (Ferreira-dos Santos y col., 2016). Los autores resaltan las faltas de medidas de higiene y extensa presencia de roedores en su investigación, pudiendo estar vinculado a las diferencias tan grandes entre los estudios, en nuestro caso los caballos urbanos pertenecen en su mayoría a hipódromos o pensionados, siendo el contacto con otras especies muy limitado, y los niveles de seropositividad más bajos.

Si se comparan nuestros resultados con el trabajo realizado por Tadich y col. (2016) en la región central de Chile, encontramos que en este último la seroprevalencia fue menor (26 vs. 35,1%). Además de las claras diferencias regionales y tipo de muestreo, Una de las diferencias más importantes con este trabajo fue el número de serovares utilizados en el panel de antígenos para el MAT, Tadich y col., (2016) usaron 6 serovares (Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Ballum, Canicola), mientras que el DILAVE utiliza como rutina 24 serovares (17 serogrupos). Este factor contribuye a aumentar la sensibilidad de la técnica MAT (Pinto y col., 2016), explicando los niveles más altos de positividad. En dicho estudio se muestrearon un total de 426 caballos (160 de trabajo urbano y 266 del ejército).

La prevalencia de un serogrupo en una región dependerá en gran medida de la zona a estudiar, de las fuentes de contaminación presentes en esta, la prevalencia de diferentes animales silvestres y de los factores de riesgo (Coiro y col. 2012; de Oliveira y col. 2014), siendo importante tener en cuenta el clima, humedad y la existencia de suelos inundables (Hamond y col. 2014), lo que favorece la contaminación ambiental y la supervivencia de *Leptospira spp.* en el medio (Alder, 2015).

Como ya se describió en la sección de resultados, el serogrupo más prevalente fue Tarassovi (42,4%). Es sabido que el huésped de mantenimiento de este serogrupo son los porcinos (Faine y col., 1999; Marshall y Manktelow, 2002), pudiendo vincularse altos niveles de infección en los equinos con la crianza en conjunto de ambas especies animales, este factor pudo haber influenciado en los mayores porcentajes de seropositividad de este serogrupo en

los caballos rurales. En el trabajo realizado por Méndez y col. (2013) en México también fue el más prevalente, estos autores reportaron que este serogrupo circulaba en la región tanto en roedores como equinos y bovinos, favoreciendo de esta manera la diseminación del serogrupo. A la vez, en nuestro trabajo los títulos más altos reportados fueron de este serogrupo, lo que podría indicar una infección activa y la alta circulación de este microorganismo en el medio, dado que autores asocian altos títulos de anticuerpos con infecciones agudas (de Oliveira y col., 2014).

El segundo serogrupo con mayores porcentajes de positividad fue Ballum (32,2%) y Pomona (32,2%). El serogrupo Ballum estaba representado por los serovares Ballum y Castellonis. Varios autores reportaron este serogrupo como uno de los más prevalentes en sus estudios (Coiro y col., 2012; Hashimoto y col., 2010), muchos lo adjudicaron a la convivencia de los equinos con los bovinos (Hashimoto y col., 2010; Coiro y col., 2012), siendo este tipo de manejo muy frecuente en los caballos de trabajo rural en nuestro país. Por otro lado, el serogrupo Pomona estaba representado en el panel de antígenos por los serovares Pomona y Mozdock. Los huéspedes de mantenimiento en este caso son los porcinos (Faine y col., 1999), pudiendo estar, al igual que el serogrupo Tarassovi, vinculado a la convivencia de los equinos con esta especie animal. Este serogrupo, al ser de tipo incidental, suele ocasionar enfermedad clínica (Barwick y col., 1998; Hodgkin y col. 1989 citado por de Oliveira y col. 2014; Pinto y col., 2016). Dado que se han reportado infecciones en múltiples animales silvestres y roedores, este serogrupo es muy fácilmente diseminado en el medio (Timoney y col., 2011), sobre todo cuando las medidas de higiene no son las correctas. Esta rápida y fácil diseminación, y la amplia distribución en animales silvestres y roedores, podrían explicar los altos títulos de anticuerpos encontrados en el presente estudio. De todas maneras, no hubo diferencias importantes entre estos serogrupos y los caballos rurales y urbanos.

El cuarto serogrupo que mostro mayor seroreactividad fue Icterohaemorrhagiae (28,8%), dentro de este serogrupo están los serovares Icterohaemorrhagiae y Copenhageni. Los huéspedes de mantenimiento en este caso son los roedores, estando ampliamente vinculado los altos niveles de infección con estos serogrupos y áreas urbanas en donde las medidas de higiene son deficientes (Coiro y col., 2012; Martin y Lilenbaum, 2013; Diaz y col., 2015). Esto coincide con lo encontrado en nuestro trabajo, en donde este serogrupo fue más frecuente en caballos urbanos. Estos factores se vieron reflejados en la investigación realizada por Tadich y col. (2016), en donde comparo dos grupos de equinos, el primer grupo vivía en zonas urbanas con malas medidas de higiene (caballo de trabajo de zona metropolitana) y el segundo grupo con medidas de higiene más controladas y sin presencia de roedores (caballos del ejercito), estos autores observaron que la seropositividad al serogrupo Icterohaemorrhagiae estaba fuertemente vinculada al primer grupo mencionado.

El serogrupo Semarang fue reactivo en un 27.1% de los casos positivos, este serogrupo estuvo representado en el panel de antígenos por el serovar Patoc, se considera importante destacar que este serovar no es patógeno, de todos modos, su diagnóstico tiene importancia epidemiológica ya que se han aislado en cultivos de materiales de humanos clínicamente infectados y en otras especies animales, a su vez se ha observado la existencia de reacción cruzada con otros serovares patógenos (Alexandre y col., 2016).

Como bien se mencionó, el serogrupo Australis serovar Bratislava son comunes en infecciones de leptospirosis en equinos, se ha reportado que los equinos son las especies adaptadas a este serovar, de todos modos infecciones incidentales también pueden ocurrir (Alder, 2015). En el trabajo de Jorge y col. (2017) este serovar fue el más prevalente (32,7%), afirmando que esto era de esperarse dado que los equinos son muy susceptibles a este serovar

y los similares antigénicamente, estando muy difundida la infección en muchas partes del mundo. De forma similar, en un estudio realizado en sud África con 663 caballos este serovar también fue el más prevalente (Simbizi y *col.*, 2016). En nuestro caso el serogrupo Australis constituyó el 17% de las muestras positivas, se considera no fue muy alto, pero como bien se mencionó, del 2015 al 2017 este serogrupo estuvo únicamente representado por la serovar Australis, dado que la Bratislava se perdió del cepario; es sabido que algunas serovares son más reaccionantes que otras, pudiendo esto haber afectado nuestros resultados. Por otro lado, esta variación también pudo estar asociado a que las muestras remitidas en general eran por sospecha clínica de leptospirosis, y este serovar suele cursar de forma asintomática (Alder, 2015); igualmente se lo ha visto asociado a la ocurrencia de problemas reproductivos en yeguas (Hamond y *col.*, 2014; Pinna y *col.*, 2014), de todos modos estas afecciones clínicas suelen vincularse a títulos altos (Pinna y *col.*, 2013) y en nuestro caso los títulos fueron bajos (1:100 y 1:200). Títulos bajos de este serovar también fueron encontrados por Tsegay y *col.* (2016) los que sugieren que esto se da por ser la especie de mantenimiento del serovar, estando correctamente adaptado al huésped.

Algunos equinos fueron positivos para más de un serogrupo, esto puede, o bien representar una infección con múltiples serogrupos, o ser a causa de reacciones cruzadas (Barwick y *col.*, 1998; Simbizi y *col.*, 2016), si bien lo más frecuente es la ocurrencia de reacciones cruzadas entre serovares de un mismo serogrupo (Simbizi y *col.*, 2016), también puede ocurrir entre serogrupos (Barwick y *col.*, 1998) siendo muy probablemente lo que ocurrió en nuestro caso. La mayoría de los títulos reportados en esta ocasión fueron bajos (1:100), esto coincidió con el trabajo realizado por Barwick y *col.* (1998), los que explicaron que la gran frecuencia de títulos bajos pudo estar asociada a existencia de reacción cruzada, por lo que en muchos casos los niveles de seropositividad de los serogrupos no están relacionados con infecciones reales.

Los casos en que las muestras dieron reactivas a dos serogrupos, se observó con mayor frecuencia la coaglutinación entre los serogrupos Semaranga y Tarassovi, y entre Pomona y Tarassovi, sacando estos casos no se observó ninguna asociación entre otros serogrupos en el resto de las coaglutinaciones. Como se describió anteriormente Pomona y Tarassovi comparten el huésped de mantenimiento (suinos) y en general es difundida por roedores y animales silvestres, pudiendo esto estar asociado a la seropositividad conjunta de ambos. Por otro lado, el serogrupo Semaranga se sabe no es patógeno estando asociado en general a reacciones cruzadas (Alexandre y *col.*, 2016) por lo que la evidencia de infección clínica correspondería en la mayoría de las veces al serogrupo Tarassovi.

En el MAT, títulos altos reflejan en general infecciones agudas o recientes (de Oliveira y *col.*, 2014), como bien se dijo, la mayoría de las reacciones correspondieron a títulos de corte de 1:100 siendo pocas las muestras con títulos superiores. Estos títulos elevados ( $\geq 1:400$ ) se los vio relacionados a los casos en que había coaglutinaciones con más de un serogrupo, pero usualmente estos fueron acompañados por coaglutinaciones con serogrupos con puntos de corte de 1:100, como bien relaciono Barwick y *col.* (1998) con la existencia de posibles reacciones cruzadas. Se piensa que la infección real fue con los serogrupos representados por altos títulos y el resto fueron fruto de reacciones cruzadas.

A pesar que en el año 2014 fue en el que se remitieron menos muestras, no se observaron diferencias importantes en los niveles de seropositividad entre los años, a excepción del año 2015 en el que se reportaron un mayor número de casos positivos. Varios autores han reportado aumentos de niveles de infección de acuerdo al clima (Houwens y *col.*, 2011; Coiro y *col.*, 2012; Hamond y *col.*, 2012; Finger y *col.*, 2014; Hamond y *col.*, 2014; Jorge y *col.*, 2017), siendo los años lluviosos óptimos para el mantenimiento de la bacteria en el medio

(Finger y col., 2014). Cuando se comparó los serogrupos más prevalentes de acuerdo al año, no se observaron diferencias importantes, esto era de esperarse dado que se podría suponer que los serogrupos circulantes en el medio ambiente se han mantenido estables con el correr de los años.

En lo que respecta al sexo de los animales, no hubo diferencias importantes en los niveles de seropositividad; por otro lado, se observó que los animales menores de un año y mayores de 10 tuvieron mayores niveles de infección, siendo aún mayor en la categoría menor. Se destaca que el  $n$  en dichas categorías fue bajo en comparación a las categorías intermedias. A pesar de que Coiro y col. (2014) no encontraron asociaciones con el sexo y la edad, otros estudios han afirmado la existencia de una asociación positiva entre la edad de los caballos y niveles de infección (Lees y Gale, 1994; de Oliveira y col., 2014; Tsegay y col., 2016;), en el estudio de Tsegay y col. (2016) se encontró que caballos adultos mayores a 13 años tenían mayor probabilidad de infección que los jóvenes (Tsegay y col., 2016), de forma similar Lees y Gale (1994) establecieron que la probabilidad de estar infectado aumentaba 10% por cada año adicional que tenía el caballo. Por el contrario, un estudio epidemiológico realizado en 257 équidos determinó que animales entre 2,5 y 11 años tienen 0,4 veces menos riesgo de infección que aquellos animales menores a 2,5 años (de Oliveira y col., 2014). De forma más general, Leon y col. (2006) determinaron que hembras preñadas y caballos jóvenes eran más susceptibles a infecciones por *Leptospira spp.*. En relación al sexo de los equinos, Ferreira-dos Santos y col. (2016) encontraron una mayor proporción de hembras positivas que de machos en su investigación, vinculándolo a las diferencias de manejo que tenía cada sexo en la zona.

Si bien en varias categorías de la variable raza (Árabe, Cuarto de Milla y Cruza) el  $n$  con el que se contó fue muy pequeño se observaron diferencias de seropositividad en la raza Criolla y SPC. Esto puede estar asociado a la locación que ocupa habitualmente cada una de estas razas, coincidiendo con las diferencias encontradas entre los caballos de áreas rurales y urbanas/suburbanas. Usualmente los criollos son caballos de que viven en medios rurales, mientras que los SPC corresponden en su mayoría a studs o pensionados. De Oliveira y col. (2014) reportaron diferencias significativas entre la raza y la seropositividad, afirmando que esto estaba fundamentalmente vinculado al tipo de manejo que se efectuaba en cada caso y la zona en donde se encontraban los caballos, siendo mayor el porcentaje de infección en caballos rurales. Es sabido que los caballos rurales tienen un mayor contacto con otras especies animales (bovino, suinos, animales silvestres, roedores, etcétera), mientras que en el caso de los urbanos/suburbanos el ambiente es más controlado, estando confinados en studs o lugares en los que el contacto con otras especies animales es limitado (Tadich y col., 2016). Esto fue muy similar a lo reportado por Lees y Gale (1994) que establecieron que la probabilidad de infección se reducía prácticamente a la mitad en aquellos caballos que eran criados de forma individual en comparación con caballos en contacto con otras especies como son los llamados caballos de rodeo.

Como era de esperarse se observó una mayor remisión de hembras en el periodo de estudio y la mayoría de la sintomatología clínica con la que contábamos era de la forma reproductiva, dado que es el signo clínico de mayor impacto económico. De todas maneras, de estos casos con los que se contaba con la información muy poco fueron positivos (23,1%) y los títulos de las muestras fueron bajos, indicando posibles problemas crónicos (Alder, 2015).

## 10. CONCLUSIÓN

Los resultados de seropositividad fueron similares a los reportados por otros autores en la región. Dentro de los casos positivos, los serogrupos más frecuentemente encontrados en la mayoría de los años estudiados fueron: Tarassovi, Ballum, Pomona, Icterohaemorrhagiae y Semarang. La mayor remisión de muestras fue de hembras con problemas reproductivos. El título de corte 1/100 fue el más representativo entre los serogrupos reaccionantes. Se pudo encontrar diferencias marcadas en los niveles de seropositividad entre los caballos urbanos/suburbanos y rurales. Se observaron diferencias de seropositividad en la raza Criolla y SPC pudiéndose asociar a la locación que ocupa habitualmente cada una de estas razas. Este estudio permitió, aportar información de los serogrupos más prevalentes de los equinos remitidos al DILAVE y caracterizar la población de equinos que se recibe en dicho laboratorio.

Próximos estudios deberían estar dirigidos al aislamiento de cepas autóctonas de *Leptospiras*, de forma de poder confirmar los serogrupos circulantes en el medio. Así mismo se debería seguir profundizando en el estudio de esta enfermedad con un diseño adecuado que permita reportar resultados concluyentes teniendo en cuenta que esta enfermedad tiene alto impacto en salud pública y resultó estar presente en la población de equinos de diferentes rubros y departamentos del Uruguay.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Adler B. (2014) Pathogenesis of leptospirosis: cellular and molecular aspects. *Veterinary Microbiology*, 172(3-4): 353-358.
2. Adler B, de la Peña Moctezuma A. (2010) *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4): 287-296.
3. Alder B. (2015) *Leptospira* and leptospirosis. Melbourne, Springer, 293p.
4. Alexandre JR, Silva KD, Figueiredo D, Gomes L, dos Santos SS, Alves CJ, de Sousa C, Santos S. (2016) Epidemiological characterization of leptospirosis in horses in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 83: 1-5.
5. Arent Z, Frizzell C, Gilmore C, Mackie D, Ellis WA. (2013) Isolation of leptospire from genital tract of sheep. *The Veterinary Record*, 173(23): 582.
6. Barwick RS, Mohammed HO, Atwill ER, McDonough PL, White ME. (1998) The prevalence of equine leptospirosis in New York State. *Journal of Equine Science*, 9(4): 119-124.
7. Blood DC, Radostits OM. (2004) *Medicina Veterinaria*. 8a ed, Madrid, Mac Gaw-Hill, V.1.
8. Braga J, Hamond C, Martins G, Abreu RN, Lilenbaum W. (2011) Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar *Icterohaemorrhagiae* in Rio de Janeiro, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(2): 147-150.
9. Caffarena RM, Cacchione RA, Cascelli ES, Martínez ES. (1971) Avances en leptospirosis en el Uruguay. *Rev Urug Pat Clín Microbiol*, 9: 186-94.
10. Carleton O, Charon NW, Allender P, O'brien S. (1979) Helix handedness of *Leptospira interrogans* as determined by scanning electron microscopy. *Journal of Bacteriology*, 137(3): 1413-1416.
11. Coiro CJ, Langoni H, da Silva RC. (2012) Epidemiological aspects in the *Leptospira spp.* and *Toxoplasma gondii* infection in horses from Botucatu, São Paulo, Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(10): 620-623.
12. de Oliveira Filho RB, Malta KC, Oliveira JM, Santana VLA, Harrop MH, Stipp DT, Júnior JWP. (2014) Epidemiological analysis of *Leptospira spp.* infection in equids from the Brejo Paraibano Microregion of Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(3): 407-414.
13. Dias HLT, dos Santos WRR, Dos Santos CV, de Lima PDL, Negrao AMG, Vasconcellos SA. (2016) Inquérito sorológico para leptospirose em condutores de carroças e equídeos de tração em Belém, Pará. *Revista de Ciências Agrárias*, 58(4): 396-401.
14. Evangelista KV, Coburn J. (2010) *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology*, 5(9): 1413-1425.
15. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. (1999) *Leptospira* and leptospirosis. 2a ed. Melbourne, MediSci, 272 p.
16. Ferreira dos Santos R, Pinheiro da Silva GC, de Assis NA, Mathias LA. (2016) Agglutinins to *Leptospira spp.* in equines slaughtered in the southern region of Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(2): 841-852.

17. Finger MA, Barros Filho IRD, Leutenegger C, Estrada M, Ullmann LS, Langoni H, Kikuti M, Dornbush PT, Deconto I, Biondo AW. (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(6): 473-476.
18. Fouts DE, Matthias M A, Adhikarla H, Adler B, Amorim-Santos L, Berg DE, Bulach D, Buschiazzi A, Chang Y, Galloway RI, Haake DA, Haft DH, Hartskeerl R, Ko AI, Levett PN, Matsunaga J, Mechaly AE, Monk JM, Nascimento ALT, Nelson KE, Palsson B, Peacock SJ, Picardeau M, Ricaldi JN, Thaipandungpanit J, Wunder EA Jr, Yang XF, Zhang J, Vinetz JM. (2016) What makes a bacterial species pathogenic?: comparative genomic analysis of the genus *Leptospira*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(2): e0004403.
19. Goldstein SF, Charon NW. (1988) Motility of the spirochete *Leptospira*. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 9(2): 101-110.
20. Goldstein SF, Charon NW. (1990) Multiple-exposure photographic analysis of a motile spirochete. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(13): 4895-4899.
21. Hamond C, Martins G, Lawson-Ferreira R, Medeiros MA, Lilenbaum W. (2012) The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. *Epidemiology & Infection*, 141(1): 33-35.
22. Hamond C, Pinna A, Martins G, Lilenbaum W. (2014) The role of leptospirosis in reproductive disorders in horses. *Tropical Animal Health and Production*, 46(1): 1-10.
23. Hamond C, Pestana CP, Rocha-de-Souza CM, Cunha LER, Brandão FZ, Medeiros MA, Lilenbaum W. (2015) Presence of leptospire on genital tract of mares with reproductive problems. *Veterinary Microbiology*, 179(3-4): 264-269.
24. Hartskeerl RA, Goris MGA, Brem S, Meyer P, Kopp H, Gerhards H, Wollanke B. (2004) Classification of leptospira from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 51(3): 110-115.
25. Hashimoto VY, Garcia JL, Spohr KAH., Silva FD, Alves LA, Freitas JD. (2010) Prevalência de anticorpos contra *Leptospira spp.* em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77(3): 521-524.
26. Hernández-Rodríguez P, Gómez AP, Villamil LC. (2017) Implicaciones de las prácticas agropecuarias urbanas y rurales sobre la transmisión de la leptospirosis. *Agrociencia*, 51(7): 725-741.
27. Houwers DJ, Goris MGA, Abdoel T, Kas JA, Knobbe SS, Van Dongen AM, Westerduin FE, Klein WR, Hartskeerl RA. (2011) Agglutinating antibodies against pathogenic *Leptospira* in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. *Veterinary Microbiology*, 148(2-4): 449-451.
28. Jorge S, Schuch RA, de Oliveira NR, da Cunha CEP, Gomes CK, Oliveira TL, Rizzi C, Qadan AF, Pacce VD, Recuero ALC, Dellagostin OA, Brod CS. (2017) Human and animal leptospirosis in Southern Brazil: A five-year retrospective study. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 18: 46-52.

29. Lambert A, Picardeau M, Haake DA, Sermswan RW, Srikrum A, Adler B, Murray G. (2012) FlaA proteins in *Leptospira interrogans* are essential for motility and virulence, but not required for the formation of flagella sheath. *Infection and Immunity*, 80 (6): 2019- 2025.
30. Lees VW, Gale SP. (1994) Titers to *Leptospira* species in horses in Alberta. *The Canadian Veterinary Journal*, 35(10): 636-640.
31. Léon A, Pronost S, Tapprest J, Foucher N, Blanchard B, André-Fontaine G, Laugier C, Fortier G, Leclercq R. (2006) Identification of pathogenic *Leptospira* strains in tissues of a premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18(2): 218-221.
32. Malalana F, Blundell RJ, Pinchbeck GL, Mcgowan CM. (2017) The role of *Leptospira spp.* in horses affected with recurrent uveitis in the UK. *Equine Veterinary Journal*, 49(6): 706-709.
33. Martins G y Lilenbaum W. (2013) The panorama of animal leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil, regarding the seroepidemiology of the infection in tropical regions. *BMC Veterinary Research*, 9(1): 237.
34. Meny P, Menéndez C, Quintero J, Hernández E, Ríos C, Balassiano IT, Nunes C, Magalhães J, Mendes T, Ashfield N, Feble C, Avila E, Schelotto F, Varela G. (2017) Characterization of *Leptospira* isolates from humans and the environment in Uruguay. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 59: e79
35. Myers DM. (1976) Serological studies and isolations of serotype hardjo and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. *Journal of Clinical Microbiology*, 3(6): 548-555.
36. Neta EIB, de Brito Neto J, Aragão CPM, de Melo Leite AKR. (2016) Leptospirose em equino: Umarevisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 10(4): 841-857.
37. OIE. (2008) Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). Disponible en: <https://www.oie.int/doc/ged/d7709.pdf>. Fecha consulta: 30/07/18.
38. OIE. (2014) Terrestrial Animal Health Code. Disponible en: <https://www.oie.int/doc/ged/D13850.PDF>. Fecha consulta: 30/07/18.
39. Picardeau M. (2013) Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 43(1): 1-9.
40. Pinna A, Martins G, Souza G, Lilenbaum W (2013) Influence of Seroreactivity to *Leptospira* and reproductive failures in recipient mares of equine embryo transfer programmes. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(4): e55-e59.
41. Pinna A, Martins G, Hamond C, Medeiros MA, De Souza GN, Lilenbaum W. (2014) Potential differences between *Leptospira* serovars, host-adapted (Bratislava) and incidental (Copenhageni), in determining reproductive disorders in embryo transfer recipient mares in Brazil. *Veterinary Record*, 174(21): 531.
42. Pinto PS, Libonati H, Lilenbaum W. (2016) A systematic review of leptospirosis on dogs, pigs, and horses in Latin America. *Tropical Animal Health and Production*, 49(2): 231-238.

43. Repiso MV, Gil A, Bañales P, D'Anatro N, Fernandez L, Guarino H, Herrera B, Nuñez A, Olivera M, Osawa T, Silva M. (2005) Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas que afectan el comportamiento reproductivo en la ganadería de carne y caracterización de los establecimientos de cría del Uruguay. *Veterinaria*, (Montevideo), 40(157): 5-28.
44. Richard S, Oppliger A. (2015) Zoonotic occupational diseases in forestry workers- Lyme borreliosis, tularemia and leptospirosis in Europe. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(1): 43-50.
45. Schelotto F, Hernández E, González S, Del Monte A, Ifran S, Flores K, Pardo L, Parada D, Filippini M, Balseiro V, Varela G, Geymonat JP. (2012) A ten-year follow-up of human leptospirosis in Uruguay: an unresolved health problem. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 54(2): 69-76.
46. Silva Pinto R, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Vasconcellos SA, de Souza E, de Moraes Maria, de Olivera G. (2011) Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(4): 441-444.
47. Simbizi V, Saulez MN, Potts A, Lötter C, Gummow B. (2016) A study of leptospirosis in South African horses and associated risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 134: 6-15.
48. Stankevičienė M, Buitkuvienė J, Bartaševičiūtė N, Adomkienė R. (2016) SEROEPIZOOTIC SURVEY OF LEPTOSPIROSIS IN HORSES. *Veterinarija ir Zootechnika*, 74(96): 64-68.
49. Tadich TA, Tapia C, González D. (2016) Seroprevalence of *Leptospira* spp. in working horses located in the Central Region of Chile. *Journal of Equine Veterinary Science*, 38: 14-18.
50. Takabe K, Nakamura S, Ashihara M, Kudo S. (2013) Effect of osmolarity and viscosity on the motility of pathogenic and saprophytic *Leptospira*. *Microbiology and Immunology*, 57(3): 236-239.
51. Timoney JF, Kalimuthusamy N, Velineni S, Donahue JM, Artiushin SC, Fetting M. (2011) A unique genotype of *Leptospira interrogans* serovar Pomona type kennewicki is associated with equine abortion. *Veterinary Microbiology*, 150(3-4): 349-353.
52. Tsegay K, Potts AD, Aklilu N, Lötter C, Gummow B. (2016) Circulating serovars of *Leptospira* in cart horses of central and southern Ethiopia and associated risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 125: 106-115.
53. Verma A, Stevenson B, Adler B. (2013) Leptospirosis in horses. *Veterinary Microbiology*, 167(1-2): 61-66.