



UNIVERSIDAD  
**SAN SEBASTIAN**  
VOCACIÓN POR LA EXCELENCIA

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA  
CARRERA MEDICINA VETERINARIA  
SEDE DE LA PATAGONIA**

**ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LEPTOSPIROSIS EN  
MUESTRAS HISTOPATOLÓGICAS DE RIÑÓN DE PUDÚ (*Pudu  
puda*, MOLINA 1782), COLECTADAS EN LA UNIDAD DE  
MORFOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO VETERINARIO DE LA  
UNIVERSIDAD SAN SEBASTIÁN, SEDE LA PATAGONIA  
PUERTO MONTT, EN EL PERIODO 2016-2024**

Memoria de título como uno de los requisitos para optar al de Médica Veterinaria

**Profesora guía: Dr. Frank Alexis Vera Otárola**

**Dr. en Ciencias Veterinarias**

**Estudiante: Daniela Paz Ledezma Cartes**

**Puerto Montt, Chile**

**2024**

## **DERECHO DE AUTOR**

**® Daniela Paz Ledezma Cartes**

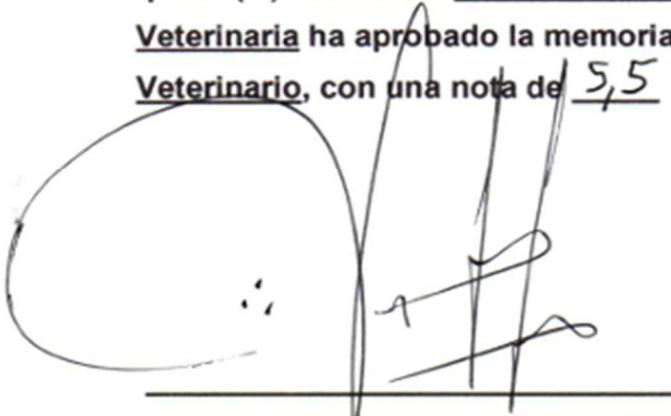
**Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra, con fines académicos por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.**

**Puerto Montt, Chile**

**2024**

## HOJA DE CALIFICACIÓN

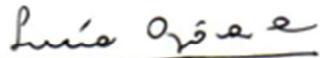
En Puerto Montt, el 19 de julio de 2024, los abajo firmantes dejan constancia que el (la) estudiante Daniela Paz Ledezma Cartes, de la carrera de Medicina Veterinaria ha aprobado la memoria de título para optar al grado de Médico Veterinario, con una nota de 5,5

A large, stylized handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and several vertical strokes on the right.

**Dr. Frank Vera**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jazmín' with a flourish at the end.

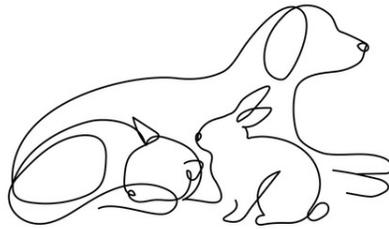
**Dra. Jazmín Muena**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Lucía Azocar'.

**Dra. Lucía Azocar**

## DEDICATORIA

*A mis peludos guardianes del alma, que sin palabras me enseñaron sobre paciencia,  
amor y constancia.*



## AGRADECIMIENTOS

*“La gratitud es una de las formas más elevadas de ser y estar “*

*Quiero manifestar mi profundo agradecimiento a mi profesor guía Frank Vera, por su paciencia y vocación, siempre presente brindando orientación, apoyo y contención.*

*Quiero agradecer a Jeraldine Poveda TM del laboratorio, quien me ayudó con el desarrollo de la parte experimental de mi estudio, siempre con la mejor disposición y fomentando mi crecimiento académico.*

*Por último, quiero manifestar mi profundo agradecimiento a mi núcleo familiar y amig@s por su apoyo incondicional en este proceso.*

## TABLA DE CONTENIDO

DERECHO DE AUTOR.....	i
HOJA DE CALIFICACIÓN .....	ii
DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
TABLA DE CONTENIDO .....	v
ÍNDICE DE TABLAS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	viii
RESUMEN .....	IX
ABSTRACT .....	X
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Pudú ( <i>Pudu puda</i> ).....	1
1.2. Distribución .....	3
1.3 Estado de conservación y principales amenazas .....	5
1.4 Leptospirosis en fauna silvestre del sur de Chile.....	7
1.5 Ciclo de transmisión .....	9
1.6 Patogenia en animales. ....	9
1.7 Zoonosis, “Enfermedades infecciosas transmisibles naturalmente desde animales vertebrados al ser humano” (OPS/OMS, 2025).....	11
1.8 Métodos de diagnóstico para determinar <i>Leptospira spp.</i> ....	16
1.9 Detección de leptospirosis basada en histopatología .....	17
1.10 Tinciones que se utilizarán en el estudio .....	17
1.10.1 Tinción con hematoxilina y eosina (H-E) .....	17
1.10.2 Tinción especial de Warthin Starry .....	18
1.11 Valor científico o utilidad del estudio.....	19
2. HIPÓTESIS .....	20
3. OBJETIVOS .....	20
3.1 Objetivo General.....	20
3.2 Objetivos Específicos .....	20
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
4.1 Obtención de Muestras histopatológicas .....	21

4.2 Características del estudio.....	22
4.3 Análisis de las Muestras .....	22
4.4 Análisis de resultados.....	23
4.4.1 Cálculo de Frecuencia de lesiones histopatológicas .....	23
4.4.2 Análisis estadístico .....	23
5. RESULTADOS.....	24
5.1 IDENTIFICACIÓN PRESENCIA DE <i>Leptospira spp.</i> , MEDIANTE TINCIÓN DE WARTHIN STARRY. ....	24
5.2 DESCRIPCIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS SUGERENTES DE LEPTOSPIROSIS. ....	26
5.3 DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS COMPATIBLES CON LEPTOSPIROSIS. ....	29
5.4 Análisis estadístico de los resultados .....	32
6. DISCUSIÓN .....	33
6.1 OBJETIVO 1 y 2: IDENTIFICAR LESIONES HISTOPATOLÓGICAS DE RIÑÓN, CONCORDANTES CON PRESENCIA DE <i>Leptospira spp.</i> , MEDIANTE TINCIÓN DE WARTHIN STARRY Y DESCRIBIR LESIONES HISTOPATOLÓGICAS SUGERENTES DE LEPTOSPIROSIS. ....	33
6.2 OBJETIVO 3: DETERMINAR FRECUENCIA DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS COMPATIBLES CON LEPTOSPIROSIS. ....	35
7. CONCLUSIONES .....	39
8. REFERENCIAS .....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Trastornos Histopatológicos encontrados en riñón de Pudú, sugerentes de leptospirosis, además de los resultados de la evaluación de los tejidos mediante tinción Warthin Starry. Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario. USS, Sede de la Patagonia, Puerto Montt, Chile. Rango de datos: Periodo 2016 – 2024.....	25
Tabla 2: Frecuencia de trastornos histopatológicos renales, asociados a leptospirosis en pudú. Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario. USS, Sede de la Patagonia, Puerto Montt, Chile. Rango de datos: Periodo 2016 – 2024. ....	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografías de ejemplares de pudú.....	2
Figura 2. Referencias de siluetas comparativas de tamaños de ciervos. ....	2
Figura 3. Distribución geográfica del Pudú.....	3
Figura 4. Distribución geográfica del Pudú en la isla de Chiloé.....	4
Figura 5. Fotografía, Pudú entre helechos.....	5
Figura 6. Principales amenazas.....	6
Figura 7. Esquema del ciclo de transmisión de leptospirosis. ....	9
Figura 8. Riñón de roedor ( <i>Mus musculus</i> ), corte histológico.....	18
Figura 9 Corte histológico de riñón de Pudú ( <i>Pudu puda</i> ).....	26
Figura 10. Corte histológico de riñón de Pudú ( <i>Pudu puda</i> ).....	27
Figura 11. Corte histológico de riñón de Pudú ( <i>Pudu puda</i> ).....	28
Figura 12. Corte histológico de riñón de Pudú ( <i>Pudu puda</i> ).....	28
Figura 13. Frecuencia porcentual de hemorragias presentadas en muestras de riñón de Pudú.....	30
Figura 15. Frecuencia porcentual de infiltrado inflamatorio presentadas en muestras de riñón de Pudú. ....	31
Figura 16. Frecuencia porcentual de hiperemia/congestiones presentadas en muestras de riñón de Pudú. ....	31

## RESUMEN

En el presente estudio se observaron 31 muestras histopatológicas de riñón de Pudú (*Pudu puda*), obtenidas de necropsias realizadas en la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario, de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, Puerto Montt, entre el periodo del 2016 al 2024.

El objetivo de este estudio fue identificar, describir lesiones histopatológicas sugerentes de leptospirosis y determinar la frecuencia de estas lesiones. De cada muestra se obtuvieron 2 cortes, el primer corte fue sometido a tinción Hematoxilina y Eosina (H-E). Todas las muestras con la tinción H-E se observaron en un microscopio óptico. En los hallazgos histopatológicos se identificaron lesiones sugerentes de leptospirosis, donde se describió infiltrado inflamatorio, hemorragias multifocales, congestión, hiperemia, degeneración grasa y acumulación de sustancia hialina intratubular. En aquellas muestras que presentaron lesiones sugerentes de leptospirosis, se procedió a analizar el corte 2, sometiendo estas muestras a tinción Warthin Starry, para determinar la presencia de *Leptospira spp*, en donde se observaron 20 campos en corteza renal y 20 campos en médula renal, además de realizar análisis mediante barridos con aumentos para confirmar la presencia o ausencia de espiroquetas, en túbulos renales.

La totalidad de muestras que presentaron lesiones histopatológicas fue de 26 de un total de 31 muestras a evaluar. La información obtenida tras realizar el estudio fue ordenada en una tabla de datos, para luego determinar la frecuencia de lesiones descritas mediante gráficos.

En conclusión, este estudio retrospectivo proporciona una descripción de hallazgos histopatológicos en riñones de Pudú, que se pueden asociar a lesiones provocadas por *Leptospira spp.*, y contribuye al registro de información para el diagnóstico mediante examen histopatológico.

Palabras claves: *Pudu puda*, riñón, *Leptospira spp.*, tinción Warthin Starry.

## ABSTRACT

In this study, 31 histopathological kidney samples from Pudú (*Pudu puda*) were examined. These samples were obtained from necropsies performed at the Morphology and Veterinary Diagnostic Unit of the Universidad San Sebastián, Patagonia Campus, Puerto Montt, between 2016 and 2024.

The objective of this study was to identify and describe histopathological lesions suggestive of leptospirosis and to determine their frequency. Two sections were taken from each sample. The first section was stained using Hematoxylin and Eosin (H&E) and examined under a light microscope. Histopathological findings suggestive of leptospirosis included inflammatory infiltrates, multifocal hemorrhages, congestion, hyperemia, fatty degeneration, and intratubular hyaline substance accumulation.

Samples showing these lesions were further analyzed using a second section stained with Warthin-Starry silver stain to detect the presence of *Leptospira spp.* Twenty fields were examined in both the renal cortex and medulla, along with additional scanning under magnification to confirm the presence or absence of spirochetes within renal tubules.

Out of the 31 samples evaluated, 26 presented histopathological lesions consistent with leptospirosis. The data obtained were organized in a table and illustrated using graphs to determine the frequency of observed lesions.

In conclusion, this retrospective study provides a description of kidney histopathological findings in Pudú that may be associated with *Leptospira spp.* infection and contributes to the diagnostic record through histopathological examination.

**Keywords:** *Pudu puda*, kidney, *Leptospira spp.*, Warthin-Starryn.

## 1. INTRODUCCIÓN

En Chile se encuentran tres especies de ciervos nativos, el Huemul (*Hipomellus bisulcus*), la Taruca (*Hipocamellus antisensis*) y el Pudú (*Pudu puda*).

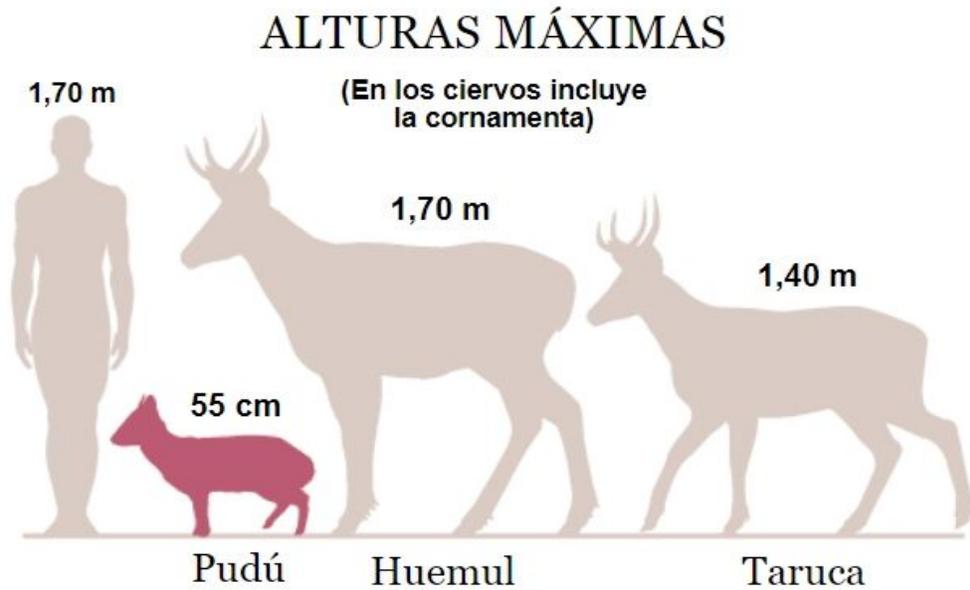
### 1.1. Pudú (*Pudu puda*)

Pertenece al reino Animalia, phylum *Chordata*, clase *Mammalia*, orden *Artiodactyla*, familia *cervidae*, género Pudú, sinonimia *Pudu puda* (Molina, 1782; Jiménez, 2010).

El Pudú es el ciervo más pequeño dentro de las especies nativas chilenas y es considerado uno de los más pequeños del mundo. No sobrepasa los 40 cm de altura a la alzada de la cruz, ni supera los 10 kilos. Tiene pelaje denso y tupido, color café oscuro rojizo, y, en comparación con el cuerpo, la cabeza es pequeña, las orejas redondeadas y medianamente grandes, y tiene cuello corto al igual que sus extremidades y cola (Figura N°1, A). Las crías poseen en su manto líneas punteadas blancas que se extienden por el dorso y el flanco hasta llegar a la cola; éstas desaparecen gradualmente alrededor de los 3 meses de edad (Figura N°1, B). Los machos presentan cornamentas aproximadamente de 10 cm (Figura N°1, C). Se lo describe como un animal tímido y solitario, en ocasiones se puede ver en grupos de tres o en parejas (Ministerio del Medio Ambiente, 2021)



**Figura 1. Fotografías de ejemplares de pudú.** En la imagen A) Se aprecia una hembra Pudú; En la imagen B) Una cría Pudú, que aún mantiene en el manto líneas blancas en su dorso y el flanco; En la imagen C) Un macho Pudú con sus cornamentas. Fuente: Inaturalist Chile.



**Figura 2. Referencias de siluetas comparativas de tamaños de ciervos.** Fuente: (Mercurio, 2021, pág. Infografía Digital).

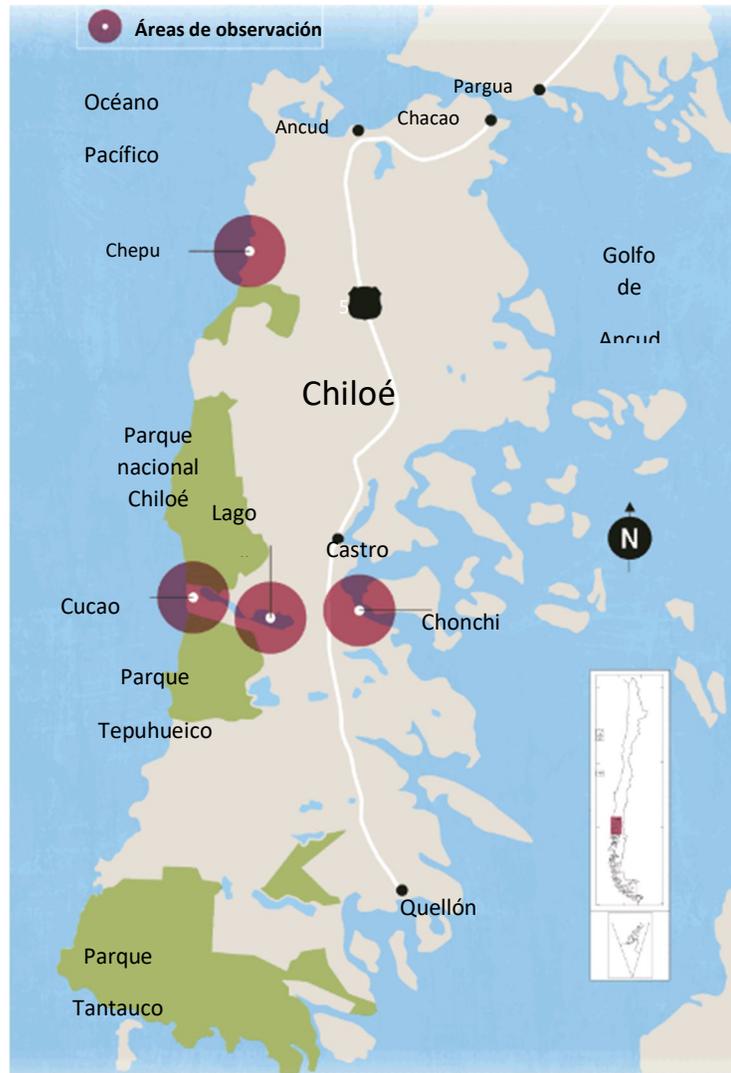
## 1.2. Distribución

El Pudú es una especie endémica de los bosques templados andinos del sur de América, específicamente de Chile y Argentina. En Chile su distribución va desde Curicó, Región del Maule, Isla Mocha, Isla de Chiloé hasta la Región de Aysén (Bravo,2013). (Figura N°3)



Figura 3. Distribución geográfica del Pudú. Fuente: (Mercurio, 2021, pág. Infografía Digital)

En Chiloé (Figura N°4). Se ha visto un gran número de ejemplares de Pudùes, esto se debe a los extensos terrenos de bosques nativos tupidos, estos le brindan un hábitat adecuado para refugiarse y protegerse de los depredadores (Figura N°5).



**Figura 4. Distribución geográfica del Pudú en la isla de Chiloé.** Fuente: (Mercurio, 2021, pág. Infografía Digital).

Su hábitat está compuesto principalmente de bosques templados lluviosos valdivianos, con tupida vegetación, ideales para refugiarse (Ministerio del Medio Ambiente, 2021). Estos bosques les proporcionan alimentos, como helechos, arbustos (Figura N°5), coligue, nalca; frutos de murta, calafate, maqui, hojas de chilco (CODEFF CHILE, 2021). Se menciona que, según la época del año, existe preferencia por ciertos alimentos: entre noviembre y febrero prefieren brotes de hojas, posteriormente vástagos, tallos, flores y frutos (Pávez, 2011).



Fotografía, MatiasG.

**Figura 5. Fotografía, Pudú entre helechos.** Fuente: Inaturalist Chile.

### **1.3 Estado de conservación y principales amenazas**

En Chile, de acuerdo con los datos analizados en el presente año 2024, el Pudú se considera como una especie vulnerable (VU), según el Reglamento de Clasificación de Especies (RCE), clasificado en el año 2007, y una especie casi amenazada de acuerdo con la clasificación de la Unión internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), registrada en el año 2016.

Se mencionan varios factores que amenazan a estas especies, siendo el más importante la fragmentación del hábitat por tala de bosque nativo (Figura N°6, A). También están constantemente amenazados por perros (Figura N°6, B) y enfermedades transmitidas por ganado doméstico (Clasificación de Especies, Ministerio del Medio Ambiente, 2021). Otras de las causas son los atropellos y la cardiomiopatía por captura (Bravo, 2013).



Fotografía, Leonardo Tempesta



Fotografía, Welchulkan



Fotografía, Patrich Cerpa



Fotografía, Welchulkan

**Figura 6. Principales amenazas.** En la imagen A) se puede apreciar fragmentación de su hábitat; En la imagen B) Pudú con lesiones, por mordedura de perro; En la imagen C) Pudú atropellado en carretera; En la imagen D) Pudú capturado. Fuente: Inaturalist Chile.

#### 1.4 Leptospirosis en fauna silvestre del sur de Chile

Es una enfermedad zoonótica, esto quiere decir que es una enfermedad infecciosa que se puede transmitir al humano, es de distribución mundial. Causada por la espiroqueta *Leptospira spp*, son bacterias Gram (-), aerobias, móviles, de estructura de espiral o helicoidal, con más de 200 tipos patógenos, tiene la capacidad de afectar a casi todos los mamíferos, de forma indirecta ya sea por agua, o suelos contaminados, o de forma directa por contacto con animales infectados, roedores principalmente. Tanto los animales domésticos como los silvestres son hospedadores naturales (Martínez et al., 2012).

Moreno (2023) señala en su estudio realizado en la Región de Los Lagos, que existe una alta población de fauna silvestre, donde se mencionan roedores silvestres, coipos, zorros, visones, liebres. Estos cumplen el rol de reservorios de *Leptospira* patógena, la que van diseminando, contaminando aguas, praderas y forrajes que luego son ingeridos por los animales domésticos y/o humanos.

Se considera que un gran número de animales silvestres son reservorio de *Leptospira*, siendo los roedores los principales, estos pueden cursar con una infección renal crónica, siendo posteriormente eliminadas las espiroquetas a través de la orina, contaminando el medio ambiente. Estos mismos roedores reservorios son parte de la dieta de otros animales silvestres como el Visón americano (*Neovison vison*), en donde se describe *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii* como las especies de *Leptospira* más frecuentes de infección (Moreno, 2023).

El agente patógeno se ha adaptado de tal manera que no provoca enfermedad en algunas especies de fauna silvestre, transformándose en una fuente de infección. Estos se relacionan con *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*; sin embargo, también puede estar presente en rumiantes, estos están vinculados con el serovar *hardjo*; en el caso del perro encontramos la *Leptospira interrogans* serovar *canicola*, y en cerdos la *Leptospira interrogans* serovar *pomona*. Cabe destacar que existe una gran cantidad de especies de *Leptospira* (Zamora y Riedemann, 1999).

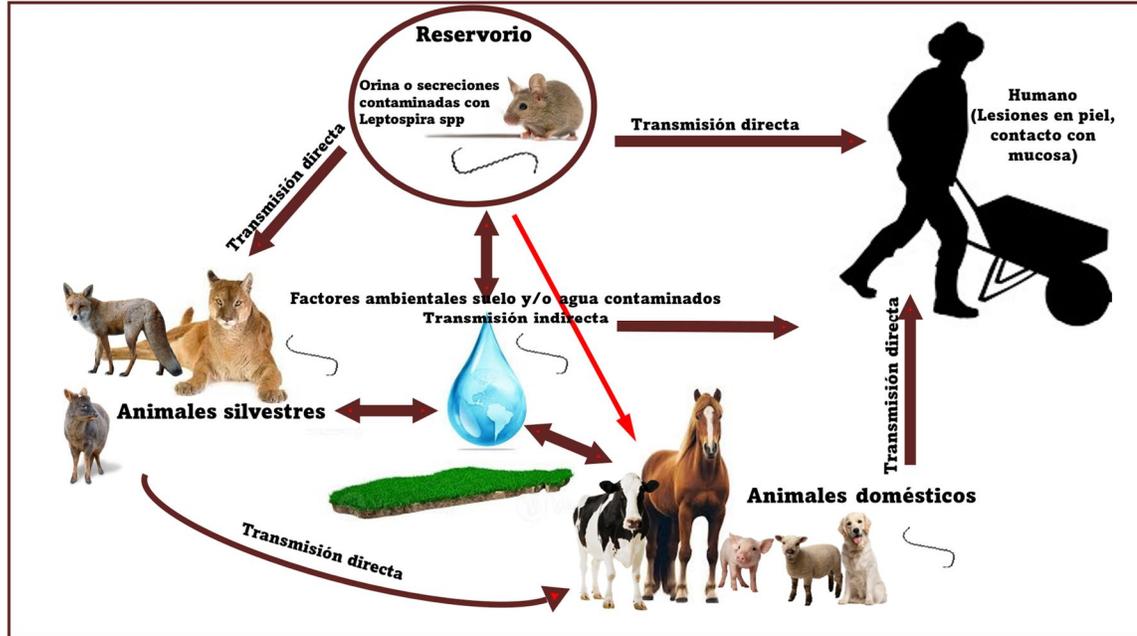
Según lo descrito por Torres et al., (2016), en la actualidad, la clasificación del género *Leptospira* comprende 21 especies divididas en tres clados: 1. Siete especies saprófitas; 2. Nueve especies patógenas; 3. Cinco especies intermedias que no se tiene clara su patogenicidad.

El reciente estudio de Balcázar et al., (2024) en Chile, y particularmente en el sur del país, la leptospirosis representa un desafío importante de salud pública por la interacción entre animales silvestres, domésticos y humanos en un entorno rico en humedales y cuerpos de agua. Estudios previos en roedores silvestres han demostrado una alta prevalencia de infección, especialmente durante estaciones lluviosas. Además, se ha detectado seropositividad en varias especies de mamíferos silvestres nativos, como el pudú, el guanaco, el zorro culpeo, el zorro chilla y el puma, así como en especies introducidas como el visón americano.

La finalidad del estudio fue evaluar la seroprevalencia de leptospirosis en animales silvestres atendidos en un centro de rehabilitación de fauna en Puerto Montt (Región de Los Lagos, Chile), donde se muestrearon 60 animales de distintas especies (mamíferos, aves y reptiles), siguiendo criterios clínicos y éticos para la toma de sangre, estas muestras fueron analizadas mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT), utilizando ocho serogrupos patógenos de *Leptospira*, donde predomina el Serogrupo *Tarassovi*, detectado en 80% de los casos seropositivos. También se describe que por primera vez se detectó seropositividad en una guiña (*Leopardus guigna*).

Es muy importante el papel que puede tener la fauna silvestre como reservorio y vector epidemiológico en la transmisión de la leptospirosis, ya que abarca una alta diversidad de especies de animales silvestres afectadas; y la confirmación de la presencia del patógeno refuerzan la importancia del monitoreo de estos reservorios para prevenir brotes en humanos y animales domésticos.

## 1.5 Ciclo de transmisión



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Figura 7. Esquema del ciclo de transmisión de leptospirosis.

## 1.6 Patogenia en animales.

Según lo mencionado en la Guía de Patología Especial e Inmunopatología descrita por Paredes et al. (2008) y Natalia (2014); el periodo de incubación es de 4 a 11 días. La *Leptospira* ingresa al organismo por alguna lesión en la piel o penetrando las mucosas, migrando a vasos sanguíneos, lugar donde se multiplicará, y al alcanzar una alta concentración sanguínea. La fase de leptospiremia de la infección dura entre 4 a 12 días, según la virulencia y la reacción del huésped; durante este periodo induce signos inespecíficos como fiebre, depresión y anorexia. Posteriormente migrará por circulación a diversos órganos principalmente a riñones, posterior a la leptospiremia se aloja en capilares intersticiales renales, viajando a través del endotelio vascular hasta el lumen tubular. Estas células epiteliales tubulares afectadas sufren degeneración y necrosis por el efecto tóxico directo de la bacteria, así como también la nefritis

intersticial, generando una insuficiencia renal aguda o crónica, provocando una falla funcional del riñón.

Esta falla renal se asocia a una disminución de la filtración glomerular causada por la inflamación intersticial y a la disminución de la perfusión renal. También se menciona que la coagulación intravascular diseminada contribuye a la patología renal.

Si bien los animales que mantienen un adecuado funcionamiento renal tienen la posibilidad de recuperación y presentar una mejoría clínica, los cambios patológicos persistirán en los riñones gravemente afectados. La colonización renal se presenta en animales expuesto a altas dosis infectantes y con una gran replicación de la espiroqueta en las células de los túbulos renales, incluso si hay altos títulos de anticuerpo neutralizantes séricos; convirtiéndolos en portadores que elimina el agente patógeno en la orina.

La recuperación del cuadro clínico de la enfermedad dependerá del aumento específico de anticuerpos circulantes dentro de los 7 a 8 días post infección.

El segundo órgano afectado es el hígado, provocando falla funcional hepática. En perros regularmente el grado de ictericia en casos de leptospirosis se da por la gravedad de la necrosis hepatocelular y colestasis intrahepática. En ganado, la ictericia, hemoglobinemia y hemoglobinuria se debe a la toxina del serovar Pomona. También es frecuente el aborto amarillo como signo predominante, ya que en la fase de leptospiremia la bacteria coloniza el útero atravesando la placenta, generando muerte fetal.

El cuadro clínico agudo se puede presentar con graves problemas multisistémicos, llegando a provocar la muerte. En el caso de ser subclínica no hay presentación de signos (M y P, 2007).

## **1.7 Zoonosis, “Enfermedades infecciosas transmisibles naturalmente desde animales vertebrados al ser humano” (OPS/OMS, 2025)**

La infección en humanos ocurre por contacto directo con orina o tejidos infectados, o por la exposición a agentes patógenos en tierra o agua. Los síntomas son amplios, van desde un cuadro febril a una enfermedad multisistémica con un gran índice de mortalidad, dentro del grupo de riesgo podemos mencionar a granjeros, trabajadores agropecuarios de mataderos, carniceros, mineros, personal de laboratorio y médicos veterinarios. En caso de contraer la enfermedad debe notificarse y tratarse con cargo a la ley 16.744 (Departamento de Epidemiología, Ministerio de Salud, 2022).

Un hecho relevante mencionado en el estudio Moreno (2023). es una alta migración de familias desde la ciudad a zonas rurales que se ha observado en los últimos años, territorio que fue o es habitado por la fauna silvestre, de acuerdo con esto se puede inferir el alto porcentaje de infección de *Leptospira spp.* proveniente de especies de fauna silvestre que actúan como reservorios naturales.

En un reciente estudio de seroprevalencia de *Leptospira spp.*, patógena en perros domésticos del sur de Chile y factores de riesgo asociados a diferentes ambientes (Azócar y Monti, 2022), donde se realizó un muestreo a perros de zonas urbanas y zonas rurales de las regiones de Los Ríos y de Los Lagos. Se recolectaron 406 muestras de perros urbanos y 300 de caminos rurales, a los cuales se les tomó muestra de sangre. Luego se realizó la prueba de aglutinación microscópica para determinar la presencia de anticuerpos patógenos contra *Leptospira spp.* Para la estimación de la prevalencia se utilizó un modelo bayesiano basado en los resultados serológicos de MAT, asumiendo que la información diagnóstica es imperfecta, dando falsos positivos como falsos negativos. Se realizaron dos modelos de análisis estadístico para perros urbanos y otro para perros rurales (características de los animales, estilo de vida y hábitat), se utilizaron modelos de regresión logística multivariable para analizar la relación entre los factores de riesgo putativos y los resultados de la MAT, de

acuerdo a los análisis estadísticos los resultados de la prevalencia fueron los siguientes: de un total de 706 muestras de sangre de caninos, de los cuales 86 dieron positivo para MAT, la Prevalencia verdadera estimada para todos los perros fue del 12,2% en las regiones de Los Ríos y Los Lagos; si bien el estudio realizó comparaciones de prevalencias con otras ciudades de otros países, se consideró que no es relevante para este estudio.

Es importante hacer énfasis en roedores como reservorios naturales y la evidencia de estudios realizados años anteriores donde ponemos mencionar el estudio de Zamora y Riedemann (1995), estudio que tenía por objetivo detectar la presencia de *Leptospira interrogans* en roedores silvestres del área rural de Valdivia, Chile, un agente etiológico de alta relevancia en el contexto de las zoonosis, ya que la leptospirosis, como enfermedad zoonótica, representa un riesgo significativo para la salud pública especialmente en zonas rurales donde la interacción entre humanos, animales domésticos y fauna silvestre es estrecha y frecuente. Para llevar a cabo el estudio se capturaron 368 roedores silvestres, principalmente de las especies *Akodon longipilis* y *Akodon olivaceus*. Luego se tomó tejido renal el cual fue analizado mediante técnicas de tinción inmunohistoquímica orientada a la identificación de la bacteria en tejido renal. Los resultados obtenidos indicaron 133 muestras positivas para *Leptospira interrogans*, confirmando la circulación activa del patógeno en el ambiente. Estos hallazgos confirman el rol de los roedores silvestres como reservorios naturales representando un riesgo sanitario.

Otro estudio en roedores realizado por Correa et al. (2017), investigó la infección natural por *Leptospira* en dos especies de roedores endémicos del ecosistema mediterráneo de Chile: el degú (*Octodon degus*) y el pericote de Darwin (*Phyllotis darwini*). Entre 2010 y 2014, se capturaron y analizaron muestras de riñón, orina y sangre de estos roedores en distintas localidades cercanas a Santiago, incluyendo ambientes agrícolas y silvestres. La detección de *Leptospira* se realizó mediante PCR dirigida al gen *LipL32* (específico de

cepas patógenas) y la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para detección serológica.

Los resultados indicaron infección en el 10% de los degús y en el 5,9% de los pericotes de Darwin. Se observó una mayor prevalencia en primavera, coincidiendo con el aumento poblacional de juveniles de degú y condiciones ambientales más favorables para la supervivencia de la bacteria (mayor humedad del suelo). Aunque la prueba serológica MAT mostró baja detección de anticuerpos, posiblemente debido a bajos títulos o serovares no incluidos en el panel, el estudio confirmó la circulación activa de *Leptospira* en estas especies silvestres, contribuyendo al ciclo de transmisión de *Leptospira* y representando un potencial riesgo para la salud pública, especialmente en zonas donde aumenta la interacción entre humanos y fauna silvestre producto de cambios en el uso del suelo, urbanización y modificación de los ecosistemas naturales.

Otro estudio que tiene estrecha relación con los roedores silvestres como parte de la dieta de muchas especies fue el estudio realizado por Barros et al. (2014), evaluó la presencia de *Leptospira* patógena en visones americanos (*Neovison vison*) en la Patagonia chilena. En el trabajo se capturaron 57 visones en 10 áreas del sur de Chile (entre la región de los ríos y la región de Aysén), recolectándose muestras de sangre y riñón. Mediante PCR se detectó *Leptospira* en el 55,6% de los visones analizados, lo que representa una alta prevalencia de infección. Además, se logró identificar dos especies patógenas mediante secuenciación del gen 16S rRNA: *Leptospira interrogans* (asociada principalmente a roedores) y *Leptospira borgpetersenii* (relacionada frecuentemente con ganado). El hallazgo de *Leptospiras* patógenas en visones invasores tiene gran relevancia en el contexto de las zoonosis, ya que estas especies introducidas podrían actuar como nuevos reservorios de la bacteria, facilitando su dispersión a través de ambientes acuáticos contaminados y posibles interacciones con otros animales silvestres, domésticos y seres humanos. Además, se observó que los visones pueden excretar *Leptospiras* por

la orina, contribuyendo activamente a la contaminación ambiental y al mantenimiento del ciclo epidemiológico.

Un estudio más reciente realizado por Salgado et al. (2021), investigó la infección por *Leptospira* patógena en visones americanos (*Neovison vison*) de vida libre en el sur de Chile. El visón americano (*Neovison vison*), especie exótica invasora, es un depredador activo de roedores silvestres y sinantrópicos, lo que lo convierte en un potencial hospedador de *Leptospira*. Este trabajo tuvo como objetivo identificar las posibles fuentes de infección por *Leptospira* en visones que habitan en zonas rurales del sur de Chile, particularmente en relación con ambientes ganaderos y presas infectadas. La investigación se llevó a cabo en la Región de Los Ríos, zona caracterizada por una importante actividad lechera. Se seleccionaron dos áreas diferenciadas: una con alta densidad de ganadería lechera y otra con baja actividad ganadera. Dentro de estas áreas, se visitaron 16 sitios y se capturaron 45 visones americanos. Los animales fueron sacrificados para obtener muestras de tejido renal y suero sanguíneo, las cuales fueron utilizadas para realizar aislamiento bacteriano, análisis serológicos y caracterización molecular de las cepas. Los resultados mostraron que 4 visones fueron confirmados como infectados mediante técnicas moleculares: 3 de zonas con alta actividad lechera y 1 de zonas con baja producción. Se identificaron cepas de *Leptospira interrogans*, incluyendo el serovar *Hardjo-prajitno* frecuentemente asociado a ganado bovino, así como *Copenhageni* e *Icterohaemorrhagiae*, típicamente relacionados con roedores. Este estudio aporta evidencia de que los visones pueden infectarse tanto por exposición ambiental en zonas de ganadería como por el consumo de presas infectadas, y refuerza su papel como potencial reservorio de *Leptospira* en el ecosistema del sur de Chile.

También hago mención del estudio realizado por Moya et al. (2019), donde se evaluó la exposición a *Brucella canis* y *Leptospira spp.* en cánidos silvestres y domésticos de Tierra del Fuego, Chile. La investigación se enfocó en zorros culpeo fueguinos (*Pseudalopex culpaeus lycoides*), zorros chilla (*Pseudalopex*

*griseus*) y perros domésticos (*Canis lupus familiaris*), con un total de 56 muestras séricas recolectadas entre 2008 y 2012. Para *Brucella canis*, todas las muestras resultaron seronegativas. Sin embargo, se detectaron anticuerpos contra *Leptospira spp.* mediante prueba de aglutinación microscópica (MAT), encontrándose seropositividad en el 20% de los zorros culpeo, el 8,3% de los zorros chilla y el 3,4% de los perros. Los serovares detectados incluyeron *Ballum*, *Australis*, *Autumnalis*, *Borincana*, *Icterohaemorrhagiae* y *Georgia*, reflejando la presencia de múltiples variantes de *Leptospira* en el ecosistema de Tierra del Fuego. Este estudio constituye el primer reporte serológico de *Leptospira spp.* en cánidos silvestres y domésticos de la región de Tierra del Fuego, sugiriendo que la fauna local puede actuar como reservorio y contribuir al mantenimiento del ciclo de transmisión de esta bacteria.

Continuando con estudios en cánidos silvestres, un reciente estudio realizado por Galarce et al. (2022) quienes investigaron la exposición a *Brucella canis*, *Brucella abortus* y *Leptospira spp.* en zorros nativos de la zona central de Chile (*Lycalopex culpaeus* y *Lycalopex griseus*). Se analizaron 46 muestras de sangre obtenidas entre 2019 y 2020 de animales mantenidos en centros de rehabilitación y exhibición. Los resultados mostraron seropositividad a *Brucella canis* en un 10,9% de los zorros culpeo siendo este el primer registro de exposición a *Brucella canis* en cánidos silvestres nativos en Chile; mientras que se detectó anticuerpos contra *Leptospira javanica* en un 7,7% de los animales evaluados. No se registró exposición a *Brucella abortus* y no se obtuvieron aislamientos bacterianos ni detección por qPCR de ninguno de los patógenos analizados. Si bien este estudio no se enfoca en detección de *Brucella spp.*, es importante saber que están presentes en nuestra fauna silvestre ya que tanto como la *Leptospira spp.* y *Brucella canis* son patógenos zoonóticos que pueden transmitirse a humanos a través de contacto directo con animales infectados o exposición a ambientes contaminados.

Estos Zorros que son especies nativas, comparten hábitat con Pudúes desde la región del Maule a la región de Aysén. además, interactúan con fauna doméstica al tener contacto con perros rurales o callejeros, podrían actuar como vectores de la transmisión de estos microorganismos patógenos hacia otros animales y personas. Lo otro importante es la seropositividad a *Leptospira javanica* que es particularmente interesante, ya que este serovar ha sido asociado a roedores y ambientes húmedos contaminados, lo que sugiere una vía de transmisión indirecta.

### **1.8 Métodos de diagnóstico para determinar *Leptospira spp.***

Según la ficha Técnica del SAG (2021), se mencionan técnicas para diagnosticar leptospirosis, ya sea mediante PCR, ELISA, cultivo bacteriano o inmunofluorescencia.

Cabe mencionar que la prueba de Gold Standard y la prueba serológica de rutina para el diagnóstico de leptospirosis es la prueba de aglutinación microscópica (MAT), esta prueba consiste en la evaluación del grado de aglutinación mediante la observación microscópica del campo oscuro de los cultivos de muestras de suero que contienen *Leptospira* viva. Para realizar esta prueba es necesario contar con un pool de cepas vivas, estas se utilizarán como antígenos. El pool de antígenos incluye cepas de los principales serogrupos. La prueba MAT, por ende, es un método sensible y específico de serogrupo (y no de serovar). El fundamento de la MAT consiste en incubar diluciones seriadas del suero (el que contiene los anticuerpos) del paciente con varias cepas de *Leptospira* (antígenos vivos). Si el 50% de las *Leptospiras* se aglutinan se considera positivo, el resultado se compara con un antígeno de control sin suero (Moreno, 2023).

Por otra parte, la histopatología nos puede ayudar para llegar al diagnóstico de la enfermedad (Delgado et al., 2007).

## **1.9 Detección de leptospirosis basada en histopatología**

Mediante la histopatología podemos analizar, describir e interpretar, llegando a diagnosticar y clasificar las enfermedades (Belsare, 2012). Como se mencionó anteriormente, las lesiones pueden ser multisistémicas. Macroscópicamente encontraremos hemorragias petequiales en el tejido subcutáneo, ictericia, congestión en órganos con puntillado hemorrágico, esplenomegalia y hepatomegalia; estas lesiones son concordantes con varias patologías, por ende, los hallazgos histopatológicos serán los que nos den el diagnóstico. Especialmente se deben atender lesiones específicas en el riñón, pudiéndose observar una glomerulopatía con depósito proteináceo, hemorragias e inflamación leucocitaria en glomérulos, necrosis multifocal del epitelio tubular con infiltración hialina intracelular y extracelular (Delgado et al., 2007)

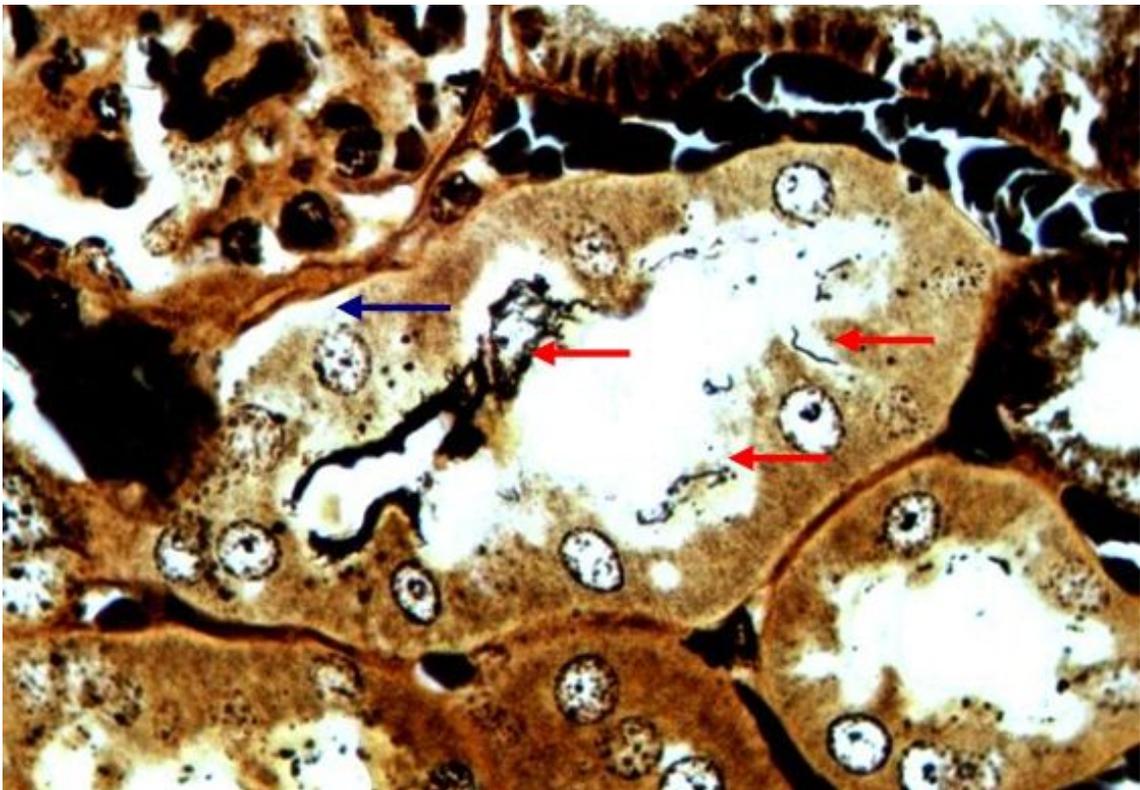
## **1.10 Tinciones que se utilizarán en el estudio**

### **1.10.1 Tinción con hematoxilina y eosina (H-E)**

Es la técnica de uso frecuente en la tinción de células y tejidos. La hematoxilina es un colorante vegetal obtenido de la corteza de un árbol, actúa como colorante básico se une y tiñe componentes ácidos de las células o tejidos (como por ejemplo núcleos), le dará la coloración basófila a las tinciones, estos colores pueden variar de azules, morados y violetas, por otra parte la eosina es un colorante artificial ácido, este se une a componentes básicos de la célula o tejidos (citoplasma y material extracelular), le dará la coloración acidófila a las tinciones que varían en tonalidades de rosado (Montalvo, 2010, p.12).

### 1.10.2 Tinción especial de Warthin Starry

Esta técnica se refiere a la capacidad de ciertas bacterias y espiroquetas de unirse a iones plata. Se aplica una solución acuosa de nitrato de plata (esta al precipitar sobre la membrana del agente permite que esta se vea más gruesa) se combina con hidroquinona, el agente reductor, y se genera un complejo de plata diamina, Las espiroquetas se tiñen de negro (Figura N°7), o café oscuro y el fondo de la muestra café amarillento claro (Sub-Unidad de Soporte al Diagnóstico – Anatomía Patológica, Ministerio de salud. Perú, 2020).



**Figura 8. Riñón de roedor (*Mus musculus*), corte histológico.** (←) Múltiples *Leptospiras* individuales y formando agregaciones en el extremo apical del epitelio de un túbulo contorneado proximal. (←) Desprendimiento de la lámina basal del epitelio tubular. Tinción Warthin-Starry 100x. Fuente: (Barria, 2013).

### 1.11 Valor científico o utilidad del estudio

Dado que la leptospirosis es una zoonosis relevante, este tipo de investigación ayuda a entender el papel de la fauna silvestre como reservorio natural y su posible implicancia en la transmisión a humanos o animales domésticos.

Documentación científica de lesiones específicas. En este estudio se identifican y se describen lesiones renales sugerentes de leptospirosis en pudúes, una especie silvestre endémica del sur de Chile, especie poco estudiada.

Proporciona una guía diagnóstica basada en lesiones frecuentes y sugiere la utilidad de la histopatología como herramienta confiable cuando no se cuenta con métodos moleculares. Esto es especialmente valioso en entornos con recursos limitados. El uso de tinciones histológicas (H-E y Warthin-Starry) da solidez al diagnóstico morfológico y permite validar lesiones con la posible presencia de espiroquetas (*Leptospira spp.*).

Detectar lesiones concordantes con leptospirosis en esta especie vulnerable ayuda a identificar riesgos sanitarios, y en base a esto diseñar protocolos de manejo y prevención en centros de rehabilitación.

Este estudio entrega un valor diagnóstico, al igual que un valor epidemiológico y de conservación de fauna silvestre, al documentar hallazgos histopatológicos sugerentes de leptospirosis en el Pudú, utilizando métodos de confianza. Representando una contribución para la salud animal, la conservación de la biodiversidad y la vigilancia zoonótica en el sur de Chile.

## 2. HIPÓTESIS

- Los hallazgos histopatológicos en riñón de Pudú son compatibles con leptospirosis.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo General

- I. Estudiar muestras histopatológicas de riñón de Pudú (*pudu puda*, Molina 1782), colectadas en la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario de la Universidad San Sebastián, Sede De la Patagonia, Puerto Montt, en el periodo 2016-2024.

### 3.2 Objetivos Específicos

- I. Identificar presencia de *Leptospira spp.*, mediante tinción de Warthin Starry.
- II. Describir lesiones histopatológicas sugerentes de leptospirosis.
- III. Determinar la frecuencia de lesiones histopatológicas compatibles con leptospirosis.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

El proyecto contempló el análisis de 31 muestras de riñón de Pudú, habiendo calculado previamente un mínimo de 28 muestras para el desarrollo del estudio. Se trató de muestras a conveniencia, que se encontraban disponibles, provenientes de cadáveres de pudúes ingresados a evaluación de necropsias.

De éstas, algunas ya se encontraban en histocassettes parafinados y otras en frascos en formalina al 10% para ser procesadas. Estas muestras se obtuvieron de necropsias realizadas a pudúes ingresados a la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, Puerto Montt, entre el periodo 2016 – 2024 (desde el año 2016 se lleva un control de trazabilidad de pudúes ingresados al Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre).

### **4.1 Obtención de Muestras histopatológicas**

Las muestras de riñón que se encontraban en frascos embebidas en formalina al 10% fueron procesadas, para luego ser observadas al microscopio. En el proceso se consideraron los siguientes pasos: se procedió al laminado de muestras, las que consideraron corteza y médula renal, de un tamaño de 0,5 cm de ancho x 0,5 cm de largo, que luego pasaron por un proceso de deshidratación y aclaración en el procesador automático de tejidos STP-120 de la empresa MYR, siguiendo con los pasos de impregnación e inclusión. Ya teniendo todas las muestras incluidas, se realizaron cortes con el micrótomo, para obtener 2 cortes por histocassette parafinado, de 3 micras cada uno. Un corte fue teñido con tinción Hematoxilina-Eosina (corte 1), según lo descrito por Mejía-Parra et al., (2020). Las muestras que presentaron lesiones histopatológicas sugerentes de leptospirosis fueron teñidas con tinción de Warthin Starry (corte 2), descrita por Fainé (1982).

## 4.2 Características del estudio

El estudio fue retrospectivo, de carácter experimental y descriptivo, tal como se menciona anteriormente, se utilizaron muestras ya incluidas y otra parte de las muestras debió ser procesada bajo el protocolo del laboratorio de histopatología de la Unidad de Morfología y Diagnóstico, para posteriormente ser observadas al microscopio, donde se describieron los hallazgos de lesiones.

## 4.3 Análisis de las Muestras

Todas las muestras (corte 1) con la tinción Hematoxilina-Eosina se observaron en un microscopio óptico (Leica, modelo DM500 con cámara incorporada TE 1200L), recorriendo completamente la muestra con aumentos 4x, 10x, 40x y 100x, donde se identificaron lesiones concordantes o sugerentes de leptospirosis. En aquellas muestras que presentaron lesiones sugerentes de leptospirosis, se procedió a analizar el corte 2, teñido con Warthin Starry, para determinar la presencia de *Leptospira spp*, en donde se observaron 20 campos en corteza renal y 20 campos en médula renal, además de realizar análisis mediante barridos con aumentos de 4x, 10x, 40x y posteriormente aumento de 100x, para confirmar la presencia o ausencia de espiroquetas, en túbulos renales, de acuerdo a lo descrito por Amaro y Castro (2011).

Como control positivo se utilizó un corte de intestino de cerdo, teñido con tinción H-E y Warthin Starry, el cual presentaba enteritis fibrinosa asociada al agente *Lawsonia intracellularis* (diagnosticada por PCR y tinción Warthin Starry).

#### **4.4 Análisis de resultados**

Los resultados se registraron en tablas elaboradas en el programa Microsoft Excel® 365 y gráficos elaborados en el programa Graphpad Prims 9.

##### **4.4.1 Cálculo de Frecuencia de lesiones histopatológicas**

La frecuencia y prevalencia fueron calculadas de acuerdo con las fórmulas descrita por Triola (2009).

$$\text{Frecuencia} = f \frac{(\text{Número de muestras que presentaron determinada lesión})}{n (\text{Número de muestras sometidos a evaluación})} \times 100$$

$$\text{Prevalencia} = \frac{(\text{Número de muestras que presentaron lesión})}{(\text{Número total de muestras sometidas a evaluación})} \times 100$$

##### **4.4.2 Análisis estadístico**

Para evaluar si existía una diferencia estadísticamente significativa entre la frecuencia de muestras con lesiones histopatológicas sugerentes de leptospirosis y aquellas sin lesiones, se aplicó la prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ), de acuerdo con la metodología descrita por Triola (2009).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 IDENTIFICACIÓN PRESENCIA DE *Leptospira spp.*, MEDIANTE TINCIÓN DE WARTHIN STARRY.

De acuerdo con los objetivos específicos de este estudio se logró identificar y describir lesiones histopatológicas sugerentes a leptospirosis. Fueron 31 muestras observadas al microscopio, donde en 26 muestras se evidenciaron lesiones, 5 muestras se encontraron sin lesión.

En la Tabla 1 se describen los hallazgos histopatológicos identificados en 31 muestras mediante la tinción H-E. Se seleccionaron algunas muestras para ser sometidas a tinción especial de Warthin Starry, donde no se evidenció la presencia de la espiroqueta, la totalidad de las muestras analizadas resultaron negativas mediante histoquímica.

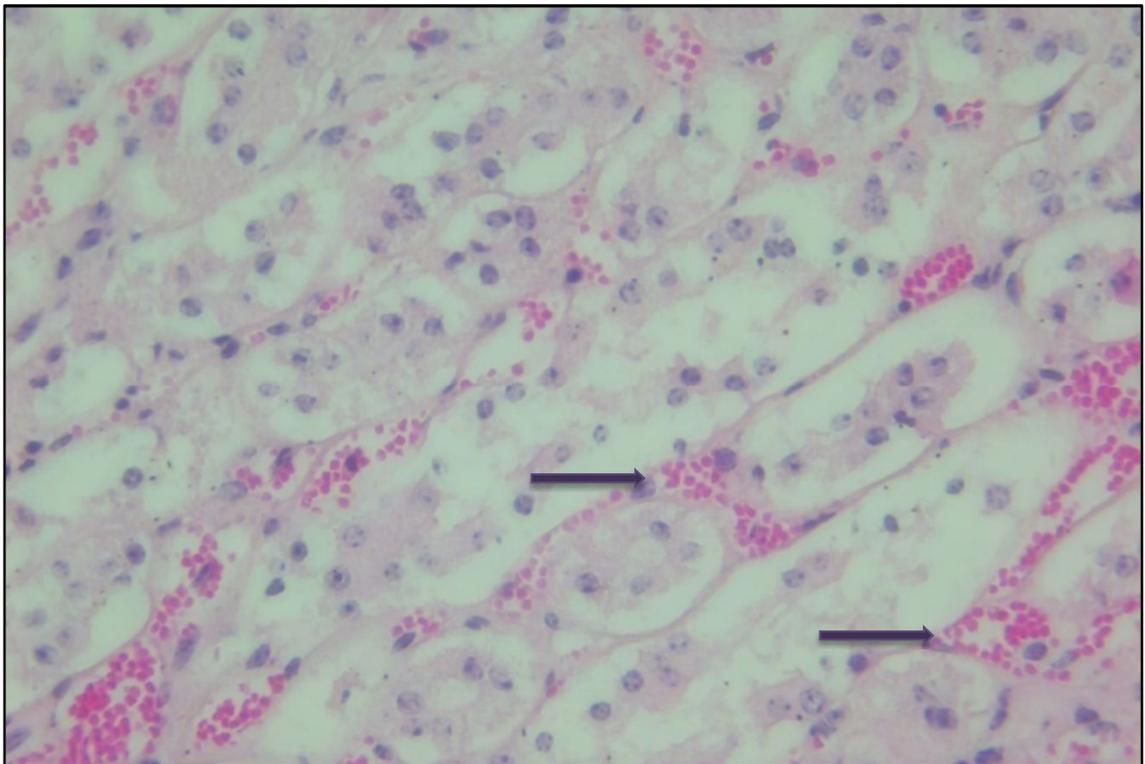
**Tabla 1: Trastornos Histopatológicos encontrados en riñón de Pudú, sugerentes de leptospirosis, además de los resultados de la evaluación de los tejidos mediante tinción Warthin Starry. Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario. USS, Sede de la Patagonia, Puerto Montt, Chile. Rango de datos: Periodo 2016 – 2024.**

N° Individuos	N° Caso	Fecha necropsia	Hallazgos Histopatológico	Positividad / Negatividad a Muestra sometida a tinción Warthin Starry
1	722 16-N	13-09-2016	Acumulo hialino tubular	No se sometió a tinción
2	973 17-N	22-11-2017	Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario, Degeneración grasa	Negativa
3	1034 18-N	19-04-2018	Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario peritubular	Negativa
4	192-2018-34		Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario, Infiltrado hialino	Negativa
5	1247 19-N	29-04-2019	Sin lesión	
6	1282 19-N	13-06-2019	Hiperemia, Congestión, Múltiples focos de infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario, Hemorragia	Negativa
7	1442 21-N	09-04-2021	Hiperemia, Congestión	No se sometió a tinción
8	1536 21-N	01-10-2021	Hiperemia, Congestión, Hemorragia	No se sometió a tinción
9	1573 21-N	05-11-2021	Sustancia hialina en espacio de Bowman	No se sometió a tinción
10	1583 21-N	10-11-2021	Sin lesión	
11	1596 21-N	19-11-2021	Hemorragia, Congestión	No se sometió a tinción
12	1619 21-N		Infiltrado inflamatorio, Hemorragia, Hiperemia, Congestión	Negativa
13	1667 22-N	31-03-2022	Congestión	No se sometió a tinción
14	1671 22-N	01-04-2022	Hemorragia, Congestión	No se sometió a tinción
15	1819 22-N	08-11-2022	Sin lesión	
16	1821 22-N	10-11-2022	Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario	Negativa
17	1863 23-H	18-01-2023	Hemorragia, Congestión	
18	1932 23-N	26-04-2023	Sin lesión	
19	2114	11-10-2023	Acumulo hialino	No se sometió a tinción
20	2160	21-12-2023	Acumulo hialino alrededor del glomérulo	Negativa
21	2193 24-H	17-04-2024	Degeneración grasa tubular, Sustancia hialina acelular en espacio de Bowman, Congestión	No se sometió a tinción
22	2204 24-H		Hemorragia multifocal, Congestión	No se sometió a tinción
23	2206 24-H		Acumulo hialino en espacio tubular	No se sometió a tinción
24	2210 24-H		Hemorragia multifocal	No se sometió a tinción
25	2211 24-H		Acumulo de sustancia hialina intratubular	No se sometió a tinción
26	2212 24-H		Congestión difusa, Acumulo de sustancia hialina, Hemorragia	No se sometió a tinción
27	2216 24-H		Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario	Negativa
28	2217 24-H		Hiperemia, Congestión, Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario	Negativa
29	2218 24-H		Sin lesión	
30	2227 24-H		Acumulo hialino intratubular, Congestión	No se sometió a tinción
31	Pudú sin antecedentes		Congestión, Acumulo de sustancia hialina en espacio de Bowman	No se sometió a tinción

Fuente: Elaboración propia, 2024.

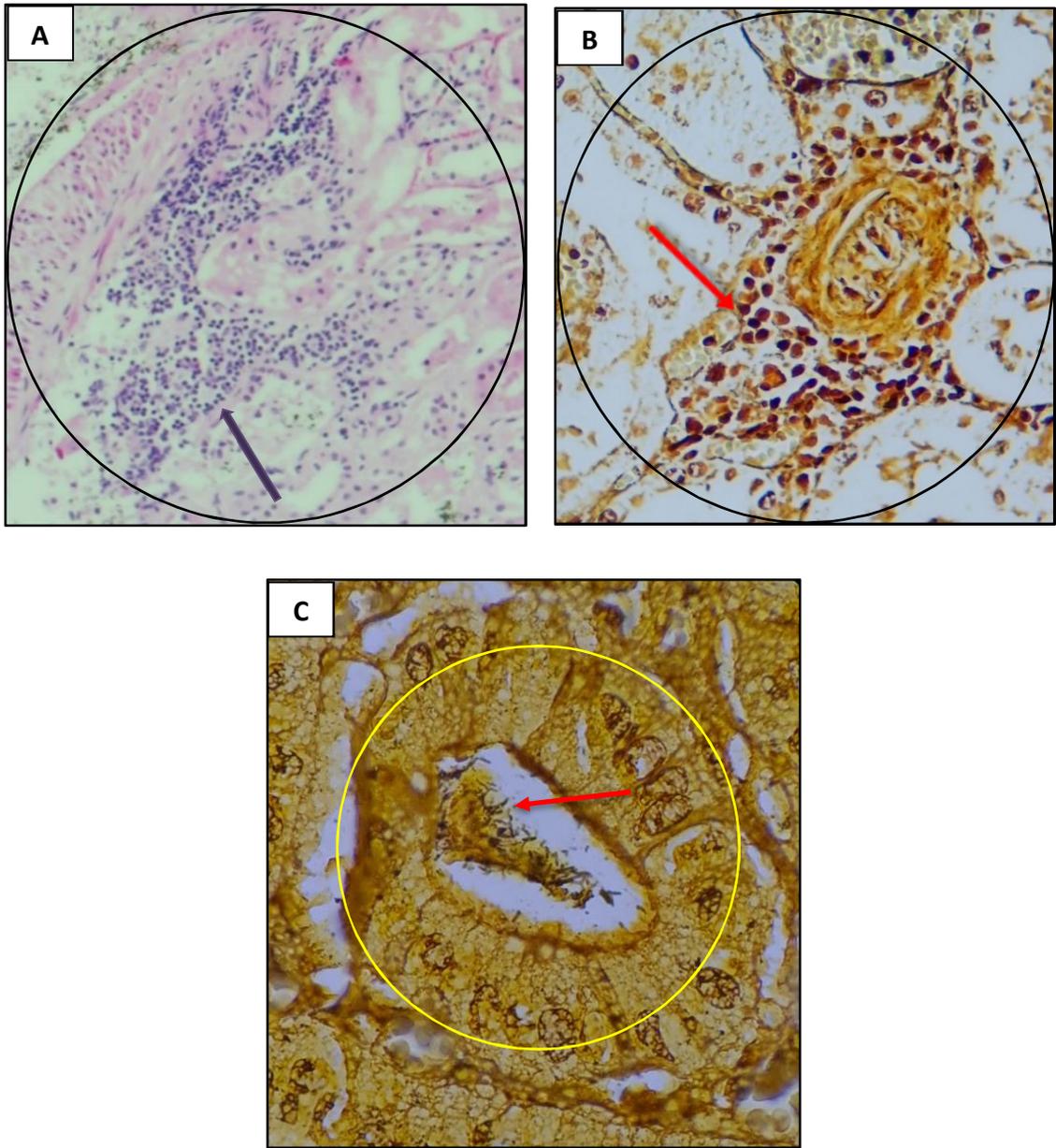
## 5.2 DESCRIPCIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS SUGERENTES DE LEPTOSPIROSIS.

Entre los hallazgos se logró encontrar y describir trastornos patológicos diversos, entre los cuales los más importantes corresponden a: hemorragias multifocales (Figura N°8), infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario peritubular (Figura N°9), sustancia hialina en el espacio de Bowman (Figura N°10), sustancia hialina intratubular (Figura N°11), degeneración grasa tubular, congestión difusa e hiperemia.



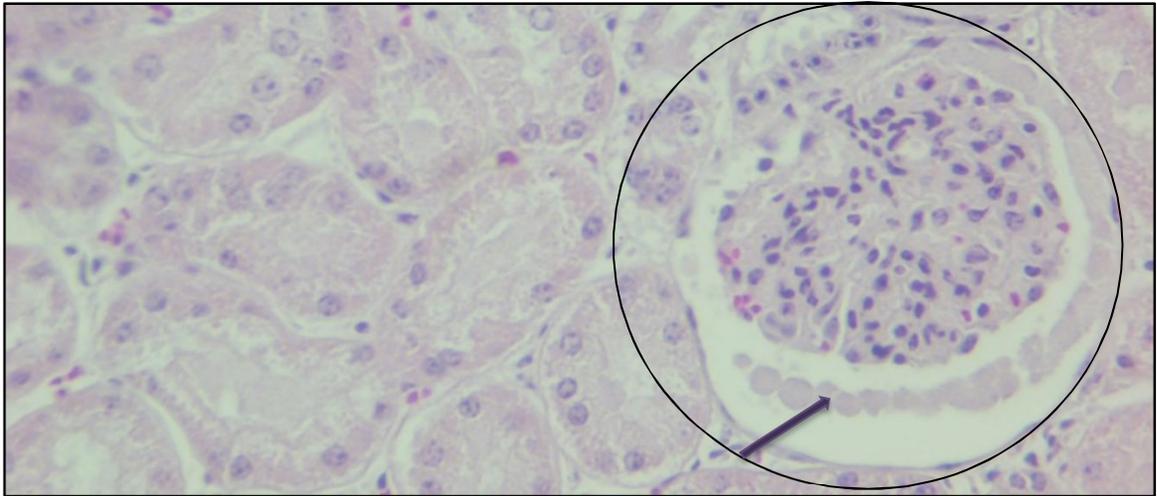
Fuente: Elaboración propia, 2024.

**Figura 9** Corte histológico de riñón de Pudú (*Pudu puda*). La flecha indica Hemorragia multifocal (Tinción H-E, 40X).



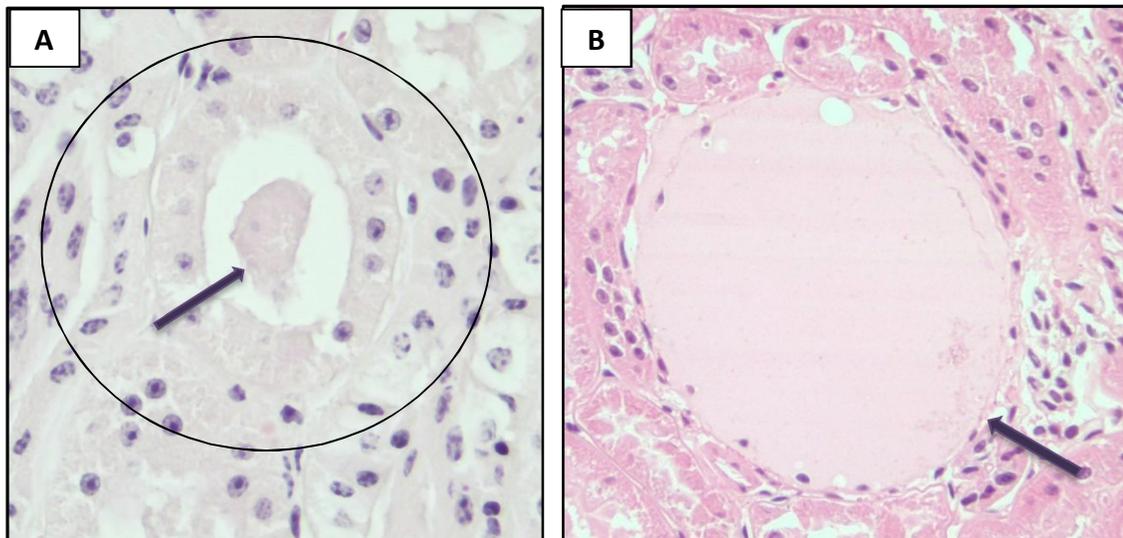
Fuente: Elaboración propia, 2024.

**Figura 10. Corte histológico de riñón de Pudú (*Pudu puda*).** En la imagen A, la flecha negra indica infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario peritubular (Tinción H-E, 40X). En la Imagen B, la flecha roja indica infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario peritubular (Tinción Warthin Starry 100X). En la imagen C, control positivo, corte histológico de intestino de cerdo, la flecha roja indica presencia de espiroquetas en lumen tubular. Presentaba enteritis fibrinosa asociada al agente *Lawsonia intracellularis* (Tinción Warthin- Starry, 100X)



Fuente: Elaboración propia, 2024.

**Figura 11. Corte histológico de riñón de Pudú (*Pudu puda*).** La flecha negra indica sustancia hialina en espacio de Bowman. Tinción H-E 40X.



Fuente: Elaboración propia, 2024.

**Figura 12. Corte histológico de riñón de Pudú (*Pudu puda*).** En la imagen A, la flecha negra indica sustancia hialina intratubular (Tinción H-E, 40X). En la imagen B La flecha indica acúmulo hialino intratubular (Tinción H-E, 100X).

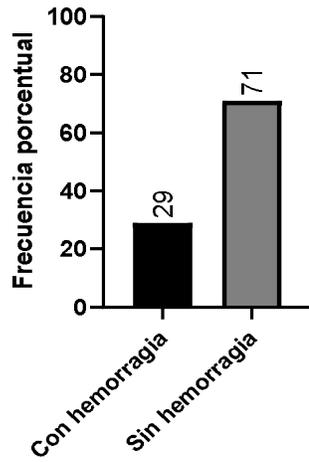
### 5.3 DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS COMPATIBLES CON LEPTOSPIROSIS.

**Tabla 2: Frecuencia de trastornos histopatológicos renales, asociados a leptospirosis en pudú. Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario. USS, Sede de la Patagonia, Puerto Montt, Chile. Rango de datos: Periodo 2016 – 2024.**

<b>PRESENCIA DE LESIÓN</b>	<b>AUSENCIA DE LESIÓN</b>
Con hemorragia	Sin Hemorragia
9 (29%)	22 (71%)
Con acúmulo hialino	Sin acúmulo hialino
9 (29%)	22 (71%)
Con infiltrado inflamatorio	Sin infiltrado inflamatorio
8 (26%)	23 (74%)
Con hiperemia /congestión	Sin hiperemia /congestión
14 (45%)	17 (55%)

Fuente: Elaboración propia, 2024.

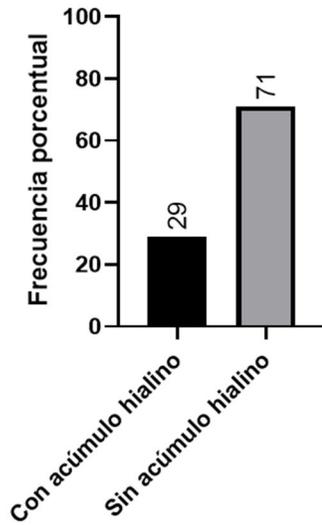
De un total de 31 muestras, el 84% presentó lesiones, equivalentes a 26 de las 31 muestras analizadas, en donde además se determinaron las lesiones histopatológicas con mayor frecuencia tales como hemorragias, las que se presentaron en un 29% (Figura N°12), presencia de sustancia hialina en espacio de Bowman o intratubulares, las que representaron un 29% (Figura N°13), infiltrado inflamatorio en un 26% (Figura N°14), hiperemia y congestión en un 45% (Figura N°15).



Frecuencia porcentual de hemorragias

Fuente: Elaboración propia, 2024.

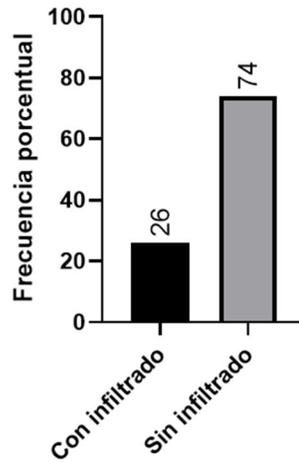
Figura 13. Frecuencia porcentual de hemorragias presentadas en muestras de riñón de Pudú.



Frecuencias porcentuales de acúmulos hialinos

Fuente: Elaboración propia, 2024.

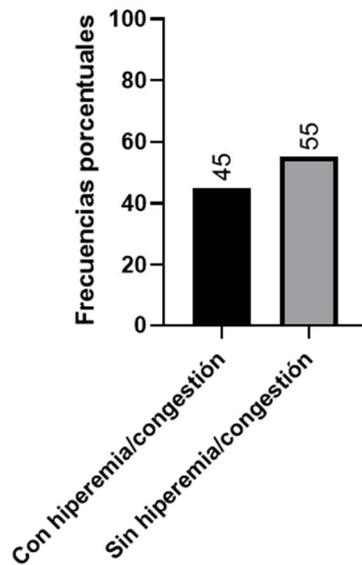
Figura 14 Frecuencia porcentual de acúmulo hialino presentadas en muestras de riñón de Pudú.



Frecuencia porcentual de infiltrado inflamatorio

Fuente: Elaboración propia, 2024.

Figura 15. Frecuencia porcentual de infiltrado inflamatorio presentadas en muestras de riñón de Pudú.



Frecuencias porcentuales de hiperemia/congestión

Fuente: Elaboración propia, 2024.

Figura 16. Frecuencia porcentual de hiperemia/congestiones presentadas en muestras de riñón de Pudú.

#### 5.4 Análisis estadístico de los resultados

Se analizaron un total de 31 muestras histopatológicas de riñón de Pudú, de las cuales 26 presentaron lesiones y 5 no presentaron lesiones. Bajo la hipótesis nula ( $H_0$ ), se asumiría una distribución equitativa entre ambas categorías (15.5 muestras con lesión y 15.5 sin lesión), lo que implicaría que no existe asociación entre las muestras evaluadas y la presencia de lesiones.

El resultado de la prueba Chi-cuadrado fue el siguiente:

- $\chi^2 = 14,23$
- Valor p = 0,00016

Dado que el valor p es considerablemente inferior al umbral de significancia de 0,05 ( $p < 0,05$ ), se rechaza la hipótesis nula. Esto indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la frecuencia observada y la esperada de lesiones histopatológicas en las muestras estudiadas. Por lo tanto, se infiere que la presencia de lesiones no es aleatoria y podría estar relacionada con procesos patológicos compatibles con infección por *Leptospira spp.*

Este análisis respalda la validez de los hallazgos histopatológicos descritos en este estudio como indicadores potenciales de leptospirosis en Pudúes, aunque no se haya identificado directamente la espiroqueta mediante tinción Warthin Starry.

## 6. DISCUSIÓN

Si bien en la actualidad no hay estudios en Pudú, en donde se describa la presencia de la espiroqueta *Leptospira spp.*, mediante histopatología, si se describen estudios experimentales en otras especies como roedores silvestres. En Valdivia, un estudio indica que el uso exclusivo de técnicas histoquímicas como la tinción con sales de plata, no permite detectar adecuadamente la infección renal por *Leptospira* (Barria, 2013). Por otra parte, estudios experimentales en ratas, describen que la inmunohistoquímica es una herramienta sumamente útil en patología veterinaria, la cual podría ser utilizada con éxito en el diagnóstico e investigación de la leptospirosis (De Faria et al., 2007). También existe evidencia de investigaciones en riñón de comadreja, en donde los autores indican que se visualizan *Leptospiras* en la luz de los túbulos contorneados renales mediante la técnica de Warthin Starry; Además, otros trabajos, informan resultados serológicos, que evidencian el diagnóstico de *Leptospira spp.* (Pinto et al., 2016).

### **6.1 OBJETIVO 1 y 2: IDENTIFICAR LESIONES HISTOPATOLÓGICAS DE RIÑÓN, CONCORDANTES CON PRESENCIA DE *Leptospira spp.*, MEDIANTE TINCIÓN DE WARTHIN STARRY Y DESCRIBIR LESIONES HISTOPATOLÓGICAS SUGERENTES DE LEPTOSPIROSIS.**

El fin de este estudio, tuvo como objetivo general estudiar 31 muestras histopatológicas de riñón de Pudú, y describir hallazgos compatibles con leptospirosis. Cumpliendo con el objetivo específico número 1 y 2 se logró identificar lesiones histopatológicas, tales como hemorragia multifocal, infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario peritubular, sustancia hialina en el espacio de Bowman, sustancia hialina intratubular, degeneración grasa tubular, congestión difusa e hiperemia, mediante tinción H-E.

Es importante destacar que las lesiones histopatológicas son altamente sugerentes de la presencia de este patógeno. Estos resultados son comparables a los entregados por Barría (2013), quien realizó un estudio experimental con 221 preparaciones histopatológicas de riñón, de 6 especies de roedores silvestres en la ciudad de Valdivia. A estas muestras se les aplicó la tinción H-E, y luego de observadas se identificó hemorragia, hiperemia, congestión, infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario. Otro estudio experimental realizado en 8 cobayos donde inoculó una cepa de *Leptospira pomona*, informa que los principales hallazgos fueron infiltración hialina intracelular y extracelular, hemorragia multifocal, infiltración leucocitaria (Delgado et al., 2007).

En relación con la positividad a la tinción Warthin Starry, no se observaron espiroquetas en ninguna de las muestras analizadas, sin embargo, un estudio describe que puede estar relacionada a la técnica, por una tinción débil, por ende, las espiroquetas no se visualizan. Por otra parte, la tinción de estructuras inesperadas es mucho más probable que se vea, que una tinción insuficiente, además puede tener varias causas, se menciona que las muestras al estar previamente fijadas en formaldehído tornan las fibras demasiado oscuras a la tinción Warthin Starry. También puede afectar una temperatura excesivamente alta o exposición al nitrato de plata por un tiempo mayor de lo indicado, residuos de plata metálica en el material de vidrio utilizado para el procedimiento pueden alterar la muestra (Kiernan, 2002). También se aconseja que sea una persona competente quien realice la tinción especial de Wartin Starry, ya que esta es demasiado metódica y se necesita mucha precisión en la ejecución de la técnica. Si en el procedimiento hay una precipitación exorbitante de la plata o una decoloración exagerada de las muestras, modifica el resultado al evaluar las muestras al microscopio. Por otra parte, se describe que la presencia de la actividad inflamatoria moderada disminuye la capacidad de fijación de Wartin Starry, los infiltrados de células inflamatorias se superponen a la bacteria (Rodríguez et al., 2020).

Esto se debe considerar al momento de realizar el diagnóstico histopatológico, ya que, entre los hallazgos descritos en este estudio, se describe infiltrado inflamatorio, el cual se puede calificar como moderado de acuerdo con la evaluación microscópica.

### **6.2 OBJETIVO 3: DETERMINAR FRECUENCIA DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS COMPATIBLES CON LEPTOSPIROSIS.**

También se logró determinar una alta frecuencia de lesiones histopatológicas, ya que 26 de 31 muestras presentó lesiones representado una prevalencia de 84%. Cabe mencionar que se observaron muestras de riñón con más de una lesión, presentándose con mayor frecuencia hiperemia y congestión, como se observa en el gráfico de la figura N° 15. De acuerdo con Barria (2013) se podría inferir que esta lesión está asociada a la patogenia de la leptospirosis, ya que provoca cambios vasculares y circulatorios al inicio de la infección como resultado de lesión endotelial, al alcanzar una concentración en la sangre, además del daño causada por sus toxinas.

Como ya se ha mencionado anteriormente no se encuentra evidencia científica relacionados al diagnóstico de leptospirosis mediante tinción de Wartin Starry en tejido renal de Pudú, pero si se encuentran estudios en los que utilizaron otras técnicas de diagnósticos con la que podemos inferir, que si es probable contraer el patógeno de *Leptospira* en el medio ambiente donde habita el pudú y otras especies de animales silvestres con las que interactúa, ya que los resultados de estos estudios indican una prevalencia considerable.

Como lo mencionó Balcázar et al., (2024) quien realizó una de las investigaciones más recientes en fauna silvestres en el sur de Chile, donde se evaluó la seroprevalencia de leptospirosis en animales silvestres atendidos en un centro de rehabilitación de fauna en Puerto Montt (Región de Los Lagos, Chile), se tomaron muestra de sangre de 60 animales de distintas especies, esta fue analizada mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT), donde predomina el Serogrupo *Tarassovi*, detectado en 80% de los casos seropositivos.

Los resultados mostraron reactividad serológica a *Leptospira spp* patógena: En zorro chilla (*Lycalopex griseus*), 44,44%; en guiña (*Leopardus guigna*), 50,00%; y en pudú (*Pudu puda*), 40,00 %. Además, en loro Choroy (*Enicognathus leptorhynchus*), bandurria (*Theristicus melanopis*) y pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*), con valores de seroprevalencia de 33,33%; 23,08% y 66,67 respectivamente.

Como se menciona en el estudio, en pudúes no se tienen antecedentes entre la asociación de la infección por *Leptospira* y enfermedades clínicas, sin embargo, el cuadro clínico que se desarrolla y los títulos de anticuerpos son consistentes con una infección activa, lo que es de suma importancia para investigaciones futuras investigaciones para confirmar la leptospirosis como causa de morbilidad.

Continuando con especies que interactúan y comparten hábitat con el pudú tenemos a los roedores como reservorios naturales y la evidencia de estudios realizados por Zamora y Riedemann (1995), estudio que tenía por objetivo detectar la presencia de *Leptospira interrogans* en roedores silvestres del área rural de Valdivia, mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) e inmunoperoxidasa (IPO), ambas orientadas a la identificación de la bacteria en tejido renal. Para llevar a cabo el estudio se capturaron 368 roedores silvestres, luego se tomó tejido renal el cual fue analizado. Los resultados obtenidos indicaron 36,1% roedores positivos para *Leptospira interrogans* principalmente de las especies *Akodon longipilis* y *Akodon olivaceus*; estas especies junto a *Oryzomys longicaudatus* y *Rattus rattus* son mencionadas en investigaciones anteriores, siendo identificadas como principales reservorios de *Leptospira* mediante técnicas serológica y de tinción argéntica; Reforzando el estudio anterior se investigó la infección natural por *Leptospira* en dos especies de roedores endémicos en distintas localidades cercanas a Santiago, Chile. El degú (*Octodon degus*) y el pericote de Darwin (*Phyllotis darwini*), para la investigación se capturaron roedores entre el 2010 y 2011, estos animales fueron sacrificados para luego extraer y analizar muestras de riñón y sangre.

El 2014 se realizó una segunda captura, donde esta vez los animales fueron anestesiados, posteriormente se tomó muestra de orina y sangre de estos roedores; Luego fueron marcados en las orejas y liberados en el lugar de captura. La detección de *Leptospira* se realizó mediante PCR dirigida al gen *LipL32* (específico de cepas patógenas), además la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para detección serológica. Los resultados de la PCR fueron positivos en un 10% de los degús y un 5,9% de los pericotes de Darwin. También se pudo observar que entre los años 2010 y 2011 hubo 4,5% de animales infectados, teniendo una mayor prevalencia en el año 2014 siendo de un 23,5%, En cuanto a la prueba serológica MAT mostró baja detección de anticuerpos, solo 2 degús fueron positivos contra serovares *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*. La baja detección a la prueba MAT se asocia al título de anticuerpos bajos o a serovares no representados en el panel. Correa et al. (2017); Además, se puede mencionar la presencia de *Leptospira* patógena en visones americanos (*Neovison vison*) entre la región de los ríos y la región de Aysén. Mediante PCR se detectó *Leptospira* en el 55,6% de los visones analizados, lo que representa una alta prevalencia, descrita por Barros et al. (2014), quienes lograron identificar especies patógenas mediante secuenciación del gen 16S rRNA: *Leptospira interrogans*, asociada principalmente a roedores, lo que se atribuye a que son parte de su dieta. Al igual que el estudio presentado por Salgado et al. (2021), donde se describe al visón americano (*Neovison vison*), como un depredador activo de roedores silvestres y sinantrópicos, además de un potencial hospedador de *Leptospira interrogans*, incluyendo el serovar *Hardjo-prajitno* frecuentemente asociado a ganado bovino, así como *Copenhageni* e *Icterohaemorrhagiae*, relacionados con roedores.

En cuanto a animales domésticos hago mención al estudio realizado por Tuemmers (et al. 2021), en la Región de la Araucanía, se estudiaron 100 caballos de comunidades mapuche de las comunas de Teodoro Schmidt, Padre las Casas, Lonquimay y Curarrehue, mediante Prueba de Aglutinación Microscópica, donde se utilizaron antígenos vivos de ocho serovares del género *Leptospira spp.*, correspondientes a las especies *Leptospira borgpetersenii* (serovares

*Ballum* y *Tarassovi*) y *Leptospira interrogans* (serovares *Canicola*, *Pomona*, *Hardjo*, *Autumnalis*, *Copenhageni* y *Grippotyphosa*). Evidenciando un 35% de las muestras positivas a la prueba para al menos un serovar de *Leptospira interrogans*. Sólo se encontraron reacciones a *Canicola* (22%), *Grippotyphosa* (21%), *Hardjo* (13%) y *Pomona* (10%). Cabe mencionar un actual estudio donde confirman que equinos de la Región de Los Lagos han estado expuestos a *Leptospira* patógena, obteniéndose una seropositividad de 68,63%, siendo ésta la investigación con prevalencia más alta en el país reportada hasta ahora, presentándose con mayor frecuencia el serovar *Tarassovi* (85,7%), seguido de *Grippotyphosa* (68,6). El autor sugiere una alta probabilidad que animales silvestres sean una fuente de infección importante (Moreno, 2023).

## 7. CONCLUSIONES

- 1.- No se identificaron espiroquetas (*Leptospira spp.*) mediante la tinción Warthin Starry en las muestras estudiadas. Por otra parte, las lesiones descritas en las muestras analizadas con tinción H-E son altamente sugerentes con leptospirosis.
- 2.- Las principales lesiones histopatológicas encontradas en muestras de Pudú fueron las siguientes: infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario peritubular, sustancia hialina en espacio de Bowman e intratubular, congestión e hiperemia y hemorragias, lesiones descritas también por Barria (2013)
- 3.- Se pudo establecer una prevalencia de muestras con lesiones sugerentes de leptospirosis, en un 84% de los casos estudiados.
- 4.- Se acepta la hipótesis planteada en el estudio realizado.

## 8. REFERENCIAS

Azócar-Aedo, L., & Monti, G. (2022). Seroprevalence of pathogenic *Leptospira* spp. in domestic dogs from southern Chile and risk factors associated with different environments. *Preventive Veterinary Medicine*, 206, 105707.

<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105707>

Balcázar, L., Azócar-Aedo, L., Barrera, V., Meniconi, G., Muñoz, V., & Valencia-Soto, C. (2024). Detección de anticuerpos contra *Leptospira* patógena en mamíferos silvestres y aves del sur de Chile: primer registro de seropositividad en una guiña (*Leopardus guigna*). *Animales*, 14(4), 601.

<https://doi.org/10.3390/ani14040601>

Barría O, (2013). Hallazgos histopatológicos renales y su relación con leptospirosis en roedores silvestres de la provincia de Valdivia, Chile. de bibliotecas uach - producción digital, s. (s. f.-b). tesis electrónicas uach. fvb275h.pdf (uach.cl)

Barros, M., Sáenz, L., Lapierre, L., Nuñez, C., & Medina-Vogel, G. (2014). High prevalence of pathogenic *Leptospira* in alien American mink (*Neovison vison*) in Patagonia. *Revista Chilena de Historia Natural*, 87(1).

<https://doi.org/10.1186/s40693-014-0019-x>

Belsare, A. (2012). Histopathological image analysis using image Processing techniques: An Overview. *Signal And Image Processing: An International Journal*, 3(4),23-36. <https://doi.org/10.5121/sipij.2012.3403>

<https://doi.org/10.5121/sipij.2012.3403>

Brihuega, B.; Paván, M.; Cairó, F.; Venzano, A.; Auteri, C.; Funes, D.; Romero, G.; Samartino, L. *Leptospira* patógena en riñón de *Didelphys albiventris* (comadreja) Revista Argentina de Microbiología, 39, 1, 2007, p. 19 Asociación Argentina de Microbiología Buenos Aires, Argentina

CODEFF (2021) *El Pudú: El ciervo más pequeño del mundo*. Recuperado el 25 de septiembre del 2021 de:

<https://codeff.cl/crfs/el-pudu-el-ciervo-mas-pequeno-del-mundo/>

Correa, J. P., Bacigalupo, A., Botto-Mahan, C., Bucarey, S., Cattán, P. E., De Cortázar, R. G., Landaeta-Aqueveque, C., & Ramírez-Estrada, J. (2017). Natural Infection of *Leptospira* Species in the Native Rodents Degu (*Octodon degus*) and Darwin's Pericote (*Phyllotis darwini*) in Mediterranean Ecosystem of Chile. *Journal Of Wildlife Diseases*, 53(3), 677-680.

<https://doi.org/10.7589/2016-11-248>

De Faria, M. T., Athanzio, D., Ramos, E. G., Silva, E., Reis, M., & Ko, A. (2007). Morphological Alterations in the Kidney of Rats with Natural and Experimental *Leptospira* Infection. *Journal Of Comparative Pathology*, 137(4), 231-238.

<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.08.001>

Delgado. F, Brihuega. B, Venzano. A, Funes. D, Blanco Viera. F, Auteri. C, Romero. G, Capellino. F, Sarmiento. L, (2007). *Adaptación de un protocolo de inmunohistoquímica para la detección de Leptospiras spp. En muestras de tejido fijadas en formaldehído*. Revista Cubana de Medicina Tropical, 59(1).

El Mercurio (2021) Infografía recuperada el 25 de septiembre del 2021 de:

<http://infografias.elmercurio.com/20180922-VA-pudu/>

Faine S. & World Health Organization (1982). *Guidelines for the Control of Leptospirosis. World Health Organization (67)*. Genova, Italy, p 161. Recuperado de:

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/37219>

Galarce, N., De la Fuente, S., Escobar, B., Dettleff, P., Abalos, P., Hormazábal, J. C., Flores, R., Sallaberry-Pincheira, N., & Martínez, V. (2021). Survey of Zoonotic Bacterial Pathogens in Native Foxes in Central Chile: First Record of *Brucella canis* Exposure. *Animals*, 11(7), 1980.

<https://doi.org/10.3390/ani11071980>

iNaturalist Chile. (s. f.). Pudú sureño (Pudu puda).

<https://inaturalist.mma.gob.cl/observations/75258925>

Jannette Amaro y Mauricio Castro (2011). *Procedimientos de solicitud y entrega de técnicas histoquímicas / Protocolo de técnicas. Hospital Santiago Oriente.*

[http://200.72.129.100/transparencia/transparencia\\_activa/documentos/apato/Manuales%20Hasta%20Agosto%202012/Procedimiento\\_Tecnicas\\_Histoquimicas.pdf](http://200.72.129.100/transparencia/transparencia_activa/documentos/apato/Manuales%20Hasta%20Agosto%202012/Procedimiento_Tecnicas_Histoquimicas.pdf)

Jiménez, J. E. (2010). Southern pudu Pudu puda (Molina 1782). *Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer*. Funep & IUCN, Jaboticabal & Gland, 140-150.

Kiernan, J. (2002). Silver Staining for Spirochetes in Tissues: Rationale, Difficulties, and Troubleshooting. *Laboratory Medicine*, 33(9), 705-708.

<https://doi.org/10.1093/labmed/33.9.705>

Leptospirosis. (s. f.). EPI – Departamento de Epidemiología.

[https://epi.minsal.cl/leptospirosis/#:~:text=En%20el%20a%C3%B1o%202021%2C%20en,\(n%3D13%20casos\)](https://epi.minsal.cl/leptospirosis/#:~:text=En%20el%20a%C3%B1o%202021%2C%20en,(n%3D13%20casos))

Martínez, P., Ortega, D., & Salinas, K. (2012). *Evaluación de la leptospirosis según el Sistema de Vigilancia Epidemiológica Nacional*, Chile 2003-2009. *Revista chilena de infectología*, 29(6), 648-654.doi:

<https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v29n6/art10.pdf>

Mejía-Parra, J. L. J., Guerrero-Espinoza, A. E., Flores-Arrascue, C. P., & Chiclayo-Padilla, A. S. (2020). Estandarización de nuevo protocolo Inmunohistoquímico para identificar *Helicobacter pylori* de biopsias gástricas y valoración frente a la tinción Hematoxilina-Eosina. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 13(3), 291-298.

<https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2020.133.740>

M, E. Z., & P, R. P. (2007). Leptospirosis: Puesta al día. *Revista Chilena de Infectología*, 24(3).

<https://doi.org/10.4067/s0716-10182007000300008>

Ministerio del Medio Ambiente. (2021). *Pudu pudu* (Molina, 1782), ficha especie, Recuperado el 01 de septiembre del 2021 de:

[http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha\\_independen.aspx?EspecieId=17&Version=1](http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha_independen.aspx?EspecieId=17&Version=1)

[http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha\\_independen.aspx?EspecieId=7&Version=1](http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha_independen.aspx?EspecieId=7&Version=1)

[http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha\\_independen.aspx?EspecieId=8&Version=1](http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha_independen.aspx?EspecieId=8&Version=1)

Montalvo, (2010). Técnicas histológicas.

[APUNTE\\_DE\\_TECNICA\\_HISTOLOGICA\\_Dr.\\_Montalvo20200505-71731-jjekls-libre.pdf \(d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net\)](https://cloudfront.net/d1wqtxts1xzle7/APUNTE_DE_TECNICA_HISTOLOGICA_Dr._Montalvo20200505-71731-jjekls-libre.pdf)

Moreno, T. (2023). Determinación de seropositividad contra *Leptospira* patógena e identificación del serovar/serogrupo infectante en equinos de la Región de Los Lagos, Chile [Memoria para optar al título de Médico Veterinario]. UNIVERSIDAD SAN SEBASTIÁN, FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NATURALEZA ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA CARRERA MEDICINA VETERINARIA SEDE DE LA PATAGONIA

Moya, S., Oettinger, S., Borie, C., Flores, R., Abalos, P., & Briceño, C. (2018). Serologic Survey of *Brucella canis* and *Leptospira* spp. in Free-Ranging Wild and Domestic Canids from Tierra del Fuego, Chile. *Journal Of Wildlife Diseases*, 55(3), 713. <https://doi.org/10.7589/2018-05-126>

Natalia, C. C. (s. f.). *Leptospirosis*.

[https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152014000200012#:~:text=La%20patogenia%20de%20la%20leptospirosis,tapiza%20la%20bucofaringe%20y%20nasofaringe](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152014000200012#:~:text=La%20patogenia%20de%20la%20leptospirosis,tapiza%20la%20bucofaringe%20y%20nasofaringe).

Paredes, E., Cubillos, V., Leyán, V y Romero, A. (2008). Guía de Patología Especial e Inmunopatología (PANI240.). UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL. VALDIVIA, REGIÓN DE LOS RÍOS, 2008.

Pavez, M. (2011). *Inferencia sobre el uso del hábitat pleistocénico por el pudú (Pudu Puda MOLINA, 1782) en el centro sur de Chile*. (Seminario de Graduación presentado como arte de los requisitos para optar al Grado de Licenciada en Ciencias Biológicas, Universidad Austral de Chile, Valdivia). Recuperado de:

<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2011/fcp337i/doc/fcp337i.pdf>

Pinto, P. S., 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.

<https://doi.org/10.1007/s11250-016-1201-8>

Rodríguez, E. A., García, M. R., Piedrahíta, E. J. H., Duque, J. A., & Castro, J. F. (2020). Identificación de *Helicobacter pylori* por medio de la coloración especial de Warthin-Starry en biopsias de pacientes con gastritis crónica folicular, previamente negativas en la tinción de hematoxilina-eosina. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 35(1), 1-7.

<https://doi.org/10.22516/25007440.268>

SAG (2021). *Ficha técnica leptospirosis*. Recuperado 25 de septiembre del 2021 de:

[https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f\\_tecnica\\_leptospirosis.pdf](https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_leptospirosis.pdf)

Salgado, M.; Raffo, E.; Bustos, M.; Tomckowiack, C.; Tejada, C.; Collado, L.; Medina-Vogel, G. New insights on the infection of pathogenic *Leptospira* species in American mink (*Neovison vison*) in southern Chile. *Trop. Anim. Health Prod.* 2021, 53, 2.

<https://doi.org/10.1007/s11250-020-02469-2>

Sub-unidad de soporte al diagnóstico – Anatomía patológica, Ministerio de salud. Perú, (2020). Guía de procedimiento: Histoquímica para microorganismos unidad de soporte al diagnóstico y tratamiento sub-unidad de soporte al diagnóstico – anatomía patológica.

[RD N° 000166-2020-DG-INSNSB Guía de Histoquímica para Microorganismos 25082020-30.pdf](#)

Torres, M., Hernández, S., Agudelo, P., Arroyave, E., Zavala, J., y Puerto, F. (2016). Revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(5), 620-625.

<https://www.medigraphic.com/cgibin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=67886>

Triola, M. F. (2009). *Estadística* (10.<sup>a</sup> ed., pp. 40–46). Pearson Educación.

Zamora, J.; Riedemann, S. Leptospirosis de roedores silvestres en el área rural de Valdivia. Pesquisa de *Leptospira interrogans* mediante inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa. *Arch. Med. Vet.* 1995, 28, 115–118.

Zamora, J. & Riedemann, S. (1999). Animales silvestres como reservorios de leptospirosis en Chile: Una revisión de los estudios efectuados en el país. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 31(2), 151-156.

<https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1999000200001>

Zoonosis. (2025, 6 junio). OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud.

<https://www.paho.org/es/temas/zoonosis>