

## EL DIAGNÓSTICO DE LA LEPTOSPIROSIS

**Prof. Dr. Bact. Nestor O. Stanchi**

Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad Nacional de La Plata - Universidad Católica de Cuyo-San Luis  
*nestorstanchi@yahoo.com.ar*

El diagnóstico de la leptospirosis, tanto para la clínica humana como animal, continúa realizándose con la técnica descrita por Martín y Pettit en 1918, denominado Test de Aglutinación Microscópica (*Microscopic agglutination test* o MAT) método que se considera de referencia para la investigación de esta zoonosis.

El diagnóstico basado en el aislamiento del microorganismo es, sin lugar a duda, la irrefutable evidencia de infección en humanos. El hallazgo de leptospiras en muestras de animales está indicando infección, pero debido a los largos períodos de eliminación de esta bacteria, debe llevarse a cabo un estudio de signología clínica, que correlacione los hallazgos de laboratorio con la clínica y epidemiología. El cultivo de leptospiras, debido a que el microorganismo tiene un tiempo de duplicación cercano a las 7 horas, hace necesario incubar el mismo por no menos de 2 meses (incluso hay laboratorios que lo hacen hasta 6 meses). Este tiempo es por demás excesivo para un diagnóstico clínico aunque sí es útil para el estudio epidemiológico. De allí es que la serología tiene un importante valor diagnóstico.

En la búsqueda de bibliografía se encuentran numerosas pruebas que, de una u otra manera, intentan reemplazar o al menos complementar a la mencionada MAT. Algunas continúan utilizándose hoy día como un método alternativo de diagnóstico, pero la confirmación serológica sólo es posible mediante MAT.

Entre las pruebas que actualmente siguen utilizándose es la basada en una aglutinación macroscópica que utiliza un antígeno termo resistente proveniente de una cepa de leptospira no patógena (*L. biflexa*), conocido como antígeno TR. Esta prueba ha demostrado una alta correlación con sueros de origen humano, aunque es pobre su eficacia en sueros animales, con la salvedad que podría utilizarse en caninos. La prueba consiste en enfrentar sobre un portaobjetos o lámina de vidrio el suero del paciente con el antígeno TR y luego de una agitación, se realiza la lectura del mismo en búsqueda de aglutinación. Para aquellos laboratoristas habituados al diagnóstico por medio de pruebas serológicas aglutinantes, los “grumos” que se producen en la reacción de TR suelen ser más débiles o pequeños para identificar los sueros reactivos. La reactividad debe comprobarse mediante MAT para arribar al diagnóstico.

Otra prueba que está teniendo cada vez más adeptos es el ELISA, esto es debido a su practicidad, a la necesidad de laboratorios de mediana complejidad, a la posibilidad de encontrar reactivos comerciales, e incluso a la posibilidad de diferenciar isotipos de anticuerpos (IgG e IgM) que le dan a esta técnica un valor apreciable. Además tiene la capacidad de detectar anticuerpos en el paciente unos días antes que la prueba de MAT. El test sólo detecta anticuerpos género específico y no sirve la identificación de serovar o serogrupo de leptospiras.

En el diagnóstico de la leptospirosis en canino, se ha incorporado una técnica que utiliza el inmuno oro para la rápida detección de esta enfermedad (Lepto Dip-Stick), pudiendo ser utilizado como diagnóstico presuntivo.

Como se mencionó al principio, otras técnicas diagnósticas se han desarrollado,

y su uso no está extendido, entre ellas se pueden mencionar: Fijación de complemento, contrainmunolectroforesis, leptotek lateral flow, dried latex agglutination test (una placa de cartón con antígeno disecado), inmuno fluorescencia indirecta, test de aglutinación del látex, test de aglutinación macroscópica, test de aglutinación en microcápsula, test de eritrocitos sensibilizados, entre otras.

Indudablemente la técnica de Aglutinación Microscópica es la que permite el diagnóstico serológico de la enfermedad. No describiré aquí la técnica que puede encontrarse en detalle en la web en el sitio de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), pero sí nombrar algunas de las causales de diferencia de resultados entre laboratorios, que suele ser una de las dudas más frecuentes entre los profesionales. Al respecto debo mencionar que la técnica a pesar de su estandarización, no deja de ser una técnica subjetiva, y esto es uno de los factores por la cual la OMS recomienda realizar una serología pareada (10 a 15 días de intervalo) realizadas en el *mismo laboratorio*. Entre los factores que pueden modificar la técnica de MAT se incluyen:

Origen de las cepas utilizadas como antígenos (aislamientos locales, cepas de referencia internacional).

Cepa: incluso dentro de un serogrupo se pueden utilizar distintas cepas, ejemplo. *L. interrogans* sv. *Icterohaemorrhagiae* cepa RGA o Winjberg.

Medio de cultivo empleado, se recomienda el EMJH pero puede ser realizado con Stuart u otro (la composición iónica varía).

Tiempo de incubación se puede hacer entre 1 a 4 horas.

Temperatura de incubación, es aceptable a temperatura de 28 °C, aunque también se puede a 37 °C (consideremos que los distintos isotipos de inmunoglobulinas tienen distinta temperatura óptima de reacción).

Dilución del suero en Solución fisiológica o en PBS (estabilidad del pH).

Lectura en fondo oscuro seco o húmedo.

Lectura “macro método” o “micro método” (en lugar de colocar una gota de la prueba en el microscopio, se coloca la microplaca completa en el microscopio de fondo oscuro).

Tiempo de cultivo de la cepa (aceptado de 7 días).

Estado de la cepa (con o sin autoaglutinaciones) o contaminaciones (debe verificarse siempre por fondo oscuro).

Densidad del cultivo.

Conservación del suero (congelado/descongelado), contaminado, hemolizado, etc.

Estado “anímico” del observador

Por el momento debemos continuar utilizando esta técnica de MAT que, a pesar de sus variados aspectos negativos, nos proporciona una única técnica para evaluar sueros de humanos y animales. Recomendando el empleo del ELISA como técnica complementaria y rápida para los laboratorios que no puedan realizar la técnica de MAT como patrón.