

LEPTOSPIROSIS: TOMA DE MUESTRAS Y DIAGNÓSTICO

Brihuega B.

Sector Leptospirosis. Departamento de Patobiología, INTA Castelar

La leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa provocada por una bacteria del género *Leptospira* que afecta a los animales domésticos y silvestres siendo estos una fuente de infección para el hombre. Podemos definir a la leptospirosis como una zoonosis de diagnóstico complejo que provoca pérdidas económicas difíciles de cuantificar.

El agente etiológico de la leptospirosis es una bacteria que se caracteriza por su flexibilidad, motilidad y forma. Las leptospiras pertenecen a la Familia *Leptospiraceae*, segunda familia del orden Spirochaetales (Canale-Parola, 1984; Hartskeerl *et al.*, 2000).

Según la clasificación serológica el género *Leptospira* está dividido en dos especies, *L. interrogans* que comprende las cepas patógenas y *L. biflexa* que comprende las cepas saprófitas aisladas del medio ambiente.

Es la zoonosis de mayor distribución mundial, y es una enfermedad endémica en la Argentina.

El diagnóstico de la leptospirosis comprende el diagnóstico clínico, bacteriológico, molecular y serológico.

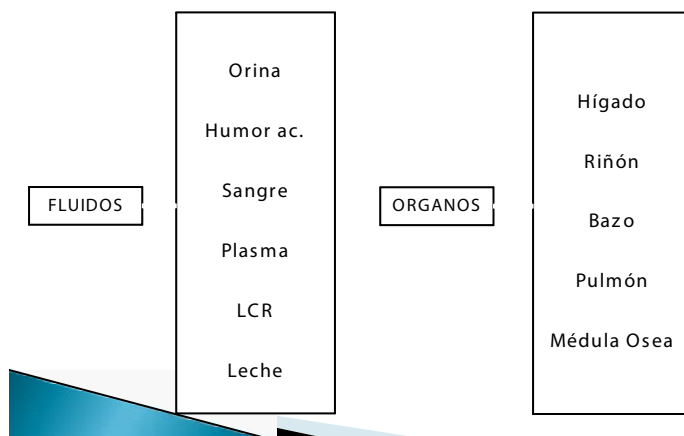
El aspecto clínico presenta variadas manifestaciones según especie y edad. El diagnóstico bacteriológico intenta detectar al agente etiológico.

El diagnóstico molecular detecta el ADN del microorganismo, y el serológico investiga la presencia de anticuerpos.

Los estudios bacteriológicos identifican al microorganismo por métodos directos, mediante la observación en microscopio de campo oscuro, coloraciones argénticas, aislamiento del agente en cultivos especiales, inoculación en animales de laboratorio, inmunofluorescencia directa e inmunohistoquímica.

El aislamiento es el diagnóstico confirmatorio y para su intento se cultivan fluidos y órganos en los medios especiales para leptospira (Fletcher, EMJH). Ver el cuadro a continuación.

Los medios sembrados son llevados a estufa de 30 °C y observados bajo mi-



croscopía de campo oscuro.

El diagnóstico molecular es útil para detectar leptospiras, sobretodo en materiales contaminados o de difícil aislamiento, o cuando las leptospiras no están viables.

La PCR (reacción en cadena de la polimerasa "*polimerasa chain reaction*") identifica el ADN de manera específica con elevada sensibilidad y en corto periodo de tiempo a partir de cualquier material clínico. Variedad de primers han sido descritos, la mayoría generoespecíficos 16S o 23S rRNA; serovarespecíficos para los genes de los elementos repetidores IS, primers que detectan leptospiras patógenas, primers para leptospiras saprófitas.

La PCR tiene como ventajas la confirmación rápida del diagnóstico en la fase inicial de la enfermedad y la detección del ADN del microorganismo, no dependiendo de la viabilidad del agente.

Esta es una técnica muy sensible, pero la combinación de dos métodos directos de diagnóstico es mejor y debe ser asociado a la microaglutinación (MAT).

El punto crítico de la técnica PCR es la etapa de extracción del ADN, debiéndose ajustar a los diferentes tejidos y fluidos.

El diagnóstico serológico es el diagnóstico más solicitado en caso de sospecha de leptospirosis. Los métodos utilizados son indirectos; hay diferentes técnicas de tamizaje y una técnica de confirmación.

Dentro de las técnicas de tamizaje

podemos enumerar la técnica de Elisa, la macroaglutinación (antígeno TR), aglutinación con látex, lepto Dip stick, contrainmunolectroforesis, inmunofluorescencia indirecta, y hemoaglutinación.

La técnica de confirmación es la prueba de microaglutinación (MAT).

Los métodos de screening son prácticos, económicos y detectan anticuerpos en fase temprana. Pero tiene como desventaja, que no permiten determinar serovariedad, no miden la cinética de los anticuerpos y son menos específicos.

La técnica ELISA es útil para el diagnóstico temprano ante cuadros inespecíficos como leptospirosis, detecta infecciones recientes, es sensible y tiene buena concordancia con MAT.

La MAT es la prueba de referencia (gold standard), pero se necesita personal entrenado, mantener el cepario y un chequeo del antígeno.

Si bien se puede realizar MAT en diferentes tipos de muestra, suero sanguíneo, lácteo, orina, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso; la muestra de elección es el suero sanguíneo.

La titulación inicial en la MAT es 1/50 en humanos, 1/100 en equinos, ovinos, porcinos, caprinos, caninos y 1/200 en bovinos. Realizándose en los sueros que dan positivo diluciones en progresión geométrica 2 para llegar a titulación final

A continuación se observa un cuadro con distintas técnicas serológicas y su correlación con MAT.

	MAT	ELISA IgM	TEST RAPIDOS
Sensibilidad	100%	90 – 98%	≥ 97%
Especificidad	100%	90 – 97%	≥ 93%

Se han realizado recientemente estudios en 2742 muestras de animales de producción, obtenidas en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, La Pampa y Santa Fe; arrojando los siguientes resultados: sobre 2394 sueros bovinos fueron seropositivos el 65.50%;

sobre 223 equinos seropositivos 59.64% y sobre 125 porcinos, fueron positivos el 57% (Brihuega B. et al., 2006).

La leptospirosis es una zoonosis de difícil erradicación, pero debemos tomar medidas para poder controlarla.

BIBLIOGRAFÍA

Brenner, D. J., A. F. Kaufmann, K. R. Sulzer, A. G. Steigerwalt, F. C. Rogers, and R. S. Weyant. 1999. Further determination of DNA relatedness VOL. 14, 2001 *Leptospira* between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49:839–858

Brihuega B., Romero G, Auteri C, Samartino L. 2006. Immunofluorescence and serodiagnosis of *Leptospira* in farm animals. *Develop. In Biol.* Vol. 128:159.

Faine, S., and N. D. Stallman. 1982. Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Wolbach and Binger 1914) Noguchi 1918. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32:461–463.

Haapala, D. K., M. Rogul, L. B. Evans, and A. D. Alexander. 1969. Deoxyribonucleic acid base composition and homology studies of *Leptospira*. *J. Bacteriol.* 98:421–428.

Johnson, R. C., and S. Faine. 1984. *Leptospira*, p. 62–67. In N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.

Perolat, P., R. J. Chappel, B. Adler, G. Baranton, D. M. Bulach, M. L. Billingham, M. Letocart, F. Merien, and M. S. Serrano. 1998. *Leptospira fainei* sp. nov., isolated from pigs in Australia. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 851–858.

Stanchi, N. O. y Brihuega, B. *Temas de Microbiología* 2007, capítulo 44, 414–415, Editorial Intermédica,

Yasuda, P. H., A. G. Steigerwalt, K. R. Sulzer, A. F. Kaufmann, F. Rogers, and D. J. Brenner. 1987. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37:407–415.

Zuerner, R. L., J. L. Herrmann, and I. Saint Girons. 1993. Comparison of genetic maps for two *Leptospira interrogans* serovars provides evidence for two chromosomes and intraspecies heterogeneity. *J. Bacteriol.* 175:5445–5451.