

LEPTOSPIROSIS- TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

Brihuega B

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Castelar
bibianabri@hotmail.com

La Leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa, causada por una bacteria del género *Leptospira* que afecta sobre todo a los animales salvajes y domésticos, que sirven como fuente de infección para el hombre. Presenta una epidemiología compleja y distribución cosmopolita, en la que varias especies, principalmente los roedores actúan como hospedadores de mantenimiento de muchas serovariedades en todo el mundo, siendo el hombre y los animales de explotación hospedadores accidentales. La República Argentina es un país endémico con brotes epidémicos.

En la ganadería su importancia radica en las pérdidas que produce en la reproducción donde pueden aparecer natimortos, abortos y/o nacimientos de animales débiles e infertilidad.

Según la clasificación serológica o fenotípica hay más de 225 serovares.

Las especies del género *Leptospira* han sido reclasificadas tomando como base los estudios de ADN. Es por esto que la clasificación fenotípica de leptospirosis está siendo reemplazada por la genotípica, en la cual un número de genomoespecies incluyen todas las serovariedades de ambas, *L. interrogans* y *L. biflexa*, habiéndose demostrado heterogeneidad genética.

Las especies de leptospirosis aisladas de animales y humanos fueron diferenciadas en base a estudios del ADN llamándolas *L. interrogans*, *L. kirshneri*, *L. weilii*, *L. noguchii*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. meyeri*, *L. inadai*, *L. fainei* y *L. alexanderi*. Las genomoespecies de *Leptospira* no corresponden a las dos especies previas (*L. interrogans* y *L. biflexa*).

Las características del género son importantes para su aislamiento e identificación, estas son: forma espiralada, de diámetro celular (0,1-0,2 µm), con un largo de 14-20 µm, no crece en medios de cultivo comunes, temperatura óptima de incubación: 28-30 °C, aerobio estricto, con movimientos de rotación, flexión y traslación, flexibilidad, disposición helicoidal.

TECNICAS DIAGNÓSTICAS

Test serológicos:

Detectan los anticuerpos aparecidos como consecuencia de la infección por leptospirosis. Los tests se dividen en: A) Tests screening (o género específicos): aglutinación macroscópica, fijación de complemento, hemoaglutinación, contrainmuno-electroforesis, inmunofluorescencia indirecta, ELISA, etc. B) Tests específicos (o serovar específicos): microaglutinación (MAT).

Test de Macroaglutinación

Es una técnica cuantitativa y no cualitativa, ya que detecta inmunoglobulinas M. Es de realización rápida, sencilla, económica y de gran valor diagnóstico, aunque se recomienda complementarla siempre con la técnica de microaglutinación (MAT). Tiene mucha utilidad en los diagnósticos individuales o ante un brote de leptospirosis, pero no tiene aplicación en encuestas epidemiológicas o estudios de prevalencia.

Ventajas: Práctico, económico, detecta anticuerpos en fase temprana

Desventajas: no permite determinar serovar, no permite medir cinética

de anticuerpos, más sensible, menos específico.

Elisa

Presenta mucha sensibilidad pero carece de la especificidad del MAT. Existen aquellos Elisas que detectan IgM e IgG, tanto en caninos como en grandes animales. También se han desarrollado para detectar anticuerpos antileptospira en humanos.

Test de aglutinación microscópica (MAT)

Esta técnica es la base del diagnóstico serológico y de la clasificación taxonómica de leptospiras.

Las diluciones de prueba de los sueros son de libre elección; aunque se sugiere: 1/25 para animales silvestres y de laboratorio; 1/50 para humanos y felinos; 1/100 para porcinos, equinos, caprinos, ovinos y caninos; 1/200 para bovinos.

Diagnóstico Bacteriológico

El aislamiento es la prueba confirmatoria de un diagnóstico presuntivo de leptospirosis. Las muestras se siembran en los medios de EMJH y Fletcher:

Orina: la viabilidad de las leptospiras en orina, es relativamente corta. Se puede suministrar vía oral y previo al aislamiento, $C_2H_3O_2Na$ al animal sospechoso (principalmente los carnívoros). De esta manera se alcaliniza la orina.

Sangre: se saca la sangre y se siembran en forma aséptica no más de 1-2 gotas, dado que puede contener anticuerpos que afecten el desarrollo de las leptospira, está indicada la técnica de dilución.

Inoculación en hámsters: Se inocular intraperitonealmente de 0,5 a 1 ml de orina a hámster jóvenes (60 g de peso).

Organos y fluidos: El estado de conservación de estas muestras es un elemento clave en relación con la posibilidad de éxito del aislamiento. Si no pueden ser procesadas inmediatamente y se las debe conservar por un tiempo corto (4-5 horas) conviene refrigerarlas. En caso que no lleguen al laboratorio antes de las 48 - 72

horas, se las debe congelar a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia tiene como ventaja sobre el aislamiento que es una técnica rápida y de sencilla realización, pero se necesita de un microscopio de fluorescencia (luz ultravioleta) y de un observador avezado para no confundir el diagnóstico. La técnica consiste en tener anticuerpos marcados con fluoresceína.

Observación en microscopio de campo oscuro

Es una técnica sencilla, pero muy difícil de lograr resultados positivos. Se debe centrifugar el material (orina, sangre, LCR) durante 20 min a 10.000 rpm, y observar al microscopio, el sedimento que queda luego de descartar el sobrenadante. Si el observador no es experimentado, puede cometer errores por confundir leptospiras con otras espiroquetas, artefactos, restos de fibrina, etc.

Tinción argéntica: técnica en la cual la visualización de las leptospiras suele verse dificultada por la importante coloración del fondo y los artefactos; además requiere de un observador experimentado. Las más conocidas son las de Levaditi y Warthin-Starry.

Tinción de inmunoperoxidasa: no está muy difundida en los laboratorios de diagnóstico, reservándose su uso para los trabajos de investigación. Presenta la ventaja de que permite apreciar las bacterias en un microscopio óptico, al mismo tiempo que se observan el tejido.

Técnica de PCR: consiste en la amplificación específica de secuencias de ADN por la acción de una ADN polimerasa. La especificidad de esta reacción está garantizada por el "primer" usado como sustrato y las condiciones de reacción. Presenta alta sensibilidad y especificidad.

Esta enfermedad es de diagnóstico complejo debido al polimorfismo de su presentación clínica, la vacunación es el medio válido de control de esta zoonosis.