

DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS

Dres. Mercedes Agorio

Ricardo Méndez Algorta

Dpto. de Microbiología

Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino"

Jornadas de Buiatría. I Latinoamericanas. II Uruguayas
19 al 21 de junio de 1974 - Paysandú, Uruguay

La leptospirosis es una Zoonosis cuya incidencia hasta el presente en nuestro país es poco conocida. Para Szatałowski "el conocimiento de la distribución global de esta enfermedad está relacionado con la distribución de los laboratorios de diagnóstico y con los proyectos específicos de su búsqueda".

A partir de 1960 con la creación del laboratorio de diagnóstico del I.N.T.A., en la Rep. Argentina, comienza a diagnosticarse / con mayor frecuencia en el Uruguay. De acuerdo con un trabajo de / Lombardi y Col. de los 61 casos de leptospirosis humana registrados, en nuestro país, desde 1938 hasta 1972, 54 de ellos se diagnosticaron en los últimos 5 años. En cuanto a los animales podemos afirmar que su estudio comienza a partir de 1960.

Para poder determinar la extensión del problema y tomar medidas de control o prevención, se organizó en 1969 en el Centro de / Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino" el Servicio de / Leptospirosis.

Se proyectó un plan de trabajo dividido en dos etapas, una inmediata y la otra mediata. La primera consta de encuestas serológicas en las distintas especies de animales domésticos y silvestres, y el aislamiento de cepas. En la segunda se encargaría de ser necesario, la preparación de una vacuna que proteja a cada una de las especies domésticas.

Las limitaciones encontradas determinaron que hasta el presente, este plan no se haya cumplido de acuerdo a lo previsto. Las tareas que se han venido desarrollando son casi exclusivamente de / diagnóstico serológico, en caso de consulta por sospecha. Se intentó en algunas oportunidades el aislamiento obteniéndose éxito en / un caso de abortos en cerdas.

El año pasado se habló aquí sobre leptospirosis como enfermedad abortiva y presentamos un cuadro con el número de sueros trabajados y los resultados obtenidos.

Se expondrán ahora los casos que juzgamos más interesantes.

Canelones 1969, en un tambo de vacas Holando se sospecha leptospirosis en animales con ictericia y hemoglobinuria. Hubo además por lo menos una muerte. A la autopsia se observó predominio / del cuadro icterico, vejiga con contenido orgjizo y lesiones en riñón e hígado. El título del suero fue de 1/1.000 a L.wolffi. Posteriormente se remitieron 47 sueros del establecimiento de los cuales 37 fueron positivos con títulos de hasta 1/1.000 a L.wolffi. El único dato accesorio fue que había una gran cantidad de ratas / en el establecimiento.

1971, se consulta por mortandad en terneros con ictericia y / hemoglobinuria en un tambo Holando de Colonia de condiciones higiénicos deficientes situado en un campo bajo. El brote coincidió con

una temporada muy lluviosa.

Cuando se llegó al lugar ya habían iniciado tratamiento con antibióticos, la mortandad había cesado y los síntomas desaparecidos. Se extrajo sangre del 10% de los animales. De éstos el 90% resultó positivo con predominio a los serotipos L. butembo 1/20.000. L. pomona 1/15.000 y L. wolffi 1/10.000.

En este mismo año hubo en el Dpto. de Salto coincidiendo también con lluvias, un foco de abortos donde había animales serológicamente positivos a L. pomona y L. wolffi. Cuando el Servicio de Diagnóstico del Centro se trasladó al lugar, los abortos habían cesado y no se consultó más.

En 1972 se detectaron 4 focos, en Tacuarembó, San José, Florida y Flores. El primero fue un problema de abortos de bovinos importados de Alemania. Serológicamente negativos a brucelosis, todos los animales abortados fueron positivos a L. pomona con títulos hasta de 1/5.000. En Flores sucedió el mismo problema en ganado Hereford. Hubo en un potrero de costa bastante baja, un alto porcentaje de abortos y algunas muertes de terneros al poco tiempo de nacer. Todos los animales que abortaron hicieron retención de placenta. Sólo muy pocos animales de potrero lindero abortaron. El ganado se había entorado de diciembre a marzo y los problemas comenzaron en los días de setiembre. Todos los animales fueron negativos a brucelosis y positivos a L. pomona con títulos hasta de 1/10.000. En cuanto al caso de Florida la enfermedad se manifestó con ictericia hemoglobinuria, constipación y muerte. En el establecimiento abundaban las ratas hasta el extremo de que en un sólo día se llegó a matar más de 100. Se extrajo sangre de todos los terneros y más de 50% presentaron títulos altos a L. pyrogenes y L. canícola (1/60.000). Los perros tuvieron títulos de hasta 1/1.000 a los mismos serotipos.

En 1973 se detectaron 3 focos de mortandad de terneros, 2 de muertes con hemoglobinuria y 7 de abortos. Los focos de mortandad de terneros fueron en San José, Colonia y Canelones. Los serotipos encontrados en San José fueron L. pomona, L. autumnalis y L. Bratislava con títulos de hasta 1/1.000. El año anterior se habían diagnosticado leptospirosis en el establecimiento. En Colonia los terneros morían con ictericia y hemoglobinuria y los sueros enviados tenían títulos de hasta 1/1.000 a L. pomona, L. autumnalis y L. Bratislava.

Los 2 focos de muertes con hemoglobinuria, anemia, descenso de la producción, depresión del sensorio, los encontramos en Montevideo. Uno, poco estudiado ya que se enviaron muy pocos sueros; en el otro se encontraron más del 50% de sueros positivos a L. Pomona // 1/12.000 y L. wolffi 1/1.000.

En cuanto a los focos de abortos se situaron: 3 en Tacuarembó, y 4 en Paysandú. Todos coincidieron en épocas de lluvia. De los de Tacuarembó se tienen pocos datos sólo se puede indicar que el resultado al test serológico dio en 2 focos L. pomona 1/12.000 y el tercer foco 1/5.000 a L. wolffi. Se debe destacar que en este título ningún animal abortado / fue probado; los resultados fueron de animales preñados. No tuvimos mas informaciones.

Los 4 focos de Paysandú fueron mejor estudiados. Presentaron la características de que los abortos sólo se manifestaron en potreros bajos.

La tasa de abortos varió de 10% al 20% y los serotipos encontrados fueron L. pomona, en todos los casos, y L. bratislava, L. autumnalis en alto porcentaje.

Muchos otros casos en el que se sospechó leptospirosis y en los // que hemos encontrado títulos, incluso altos, no los comentamos hoy porque la remisión que se nos hizo de sueros no fue representativa.

Para poder ahondar el conocimiento de la enfermedad es necesario / la colaboración de las autoridades sanitarias de cada lugar. Es imprescindible que ellas conozcan bien el curso y las múltiples manifestaciones que presentan, para remitir el material correcto al laboratorio.

DIAGNOSTICO

En el cuadro 1 tomado de un trabajo de Turner publicado en la revista de la Soc. Real de Trans. de Med. Tropical e Higiene en el año // 1967 se detalla las fases de la enfermedad, en la lera. leptospirosis / y febril las leptospiras circulan y se multiplican en la sangre. La 2da de inmunidad y leptospirosis comienza a partir de la segunda semana de enfermedad.

Tiempo	1º semana	2º	3º	4º	Meses	Años
Pedido de incubación 2-20 días inoculación.	Estado Agudo Fiebre	Estado Convaleciente				Uveítis Nefritis Interticial
Presentes en: Sangre L. C. R.						
1						Huespedes reservorios
Orina 2						Huespedes convalecientes
Concentración de anticuerpos						
Altos						
Títulos Bajos						
"Neg"						
Diagnóstico.						
Cultivo	Sangre	L.C.R.				Orina
Serología						
Fases	<u>Leptospiremia</u>					<u>Inmunidad y leptospirurica</u>

El método de diagnóstico a elegir depende de la fase en que se encuentra la enfermedad.

En la primera fase podemos hacer el diagnóstico:

- 1) Por observación de sangre en campo oscuro.

Esta prueba tiene sus limitaciones y debe ser complementada por otros métodos que se pueden obtener resultados falsamente positivos al confundir con el germen formaciones protoplasmáticas o trozos de fibrina. Contrariamente se pueden obtener resultados negativos en muestras pobres en leptospiras.

2) Por tinción de frotis de sangre con Giemsa.

3) Por aislamiento por cultivo de gotas de sangre en medios especiales e inoculación a cobayos. Para esto es necesario remitir sangre tomada asépticamente en tubos estériles con citrato de sodio en solución // Sorensen pH 8. Esta mezcla deberá estar proporcionada del 10% con la // sangre a extraer. De esta manera la leptospiras pueden sobrevivir hasta 11 días.

En los casos en que no se cuenta con la solución, la sangre deberá ser remitida refrigerada lo más pronto posible. En el laboratorio se // sembrará un trozo de coágulo y se inoculará a cobayos y con el suero se hará una prueba de aglutinación, que aunque podrán no aparecen anticuerpos, servirá para la comparación con la remisión posterior de sueros.

En la segunda fase podemos diagnosticar:

1) Por observación de orina a campo oscuro.

2) Por tinción de orina con Giemsa.

Estos métodos tienen sus limitaciones: 1) se pueden obtener resultados falsamente negativos en orinas pobres en leptospiras y 2) se pueden obtener muestras negativas de orina de animales enfermos o convalecientes, pues la eliminación del organismo sufre fluctuaciones.

3) Por el aislamiento a partir de orina por inoculación a cobayos, o cultivo en medios especiales. Para la remisión de orina al laboratorio, ésta deberá ser obtenida directamente de la vejiga, para evitar / contaminantes.

En caso de muerte el diagnóstico se hace por cultivos, inoculación y por frotis del hígado y riñón teñidos con Giemsa. Por cortes histológicos de los mismos órganos teñidos por la técnica de Levaditti.

Para la remisión de órganos es necesario hacer la necropsia lo más cercano a la muerte, ya que la leptospiras se destruyen muy rápidamente. Estos se enviarán en frascos estériles y refrigerados. Para la técnica de Levaditti se deben cortar de 2 o 3 mm. y enviarlos en formol / neutro al 10% con solución Buffer pH 8.

SEROLOGIA

La técnica empleada por el Centro de Investigaciones Veterinarias es la microaglutinación de Martin y Petit. Consiste en enfrentar diluciones de sueros con una batería de 15 antígenos vivos. Se incuban a estufa de 37° C por 2 horas se hace la lectura en microscopio de campo oscuro.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Con una sola remisión de sueros.

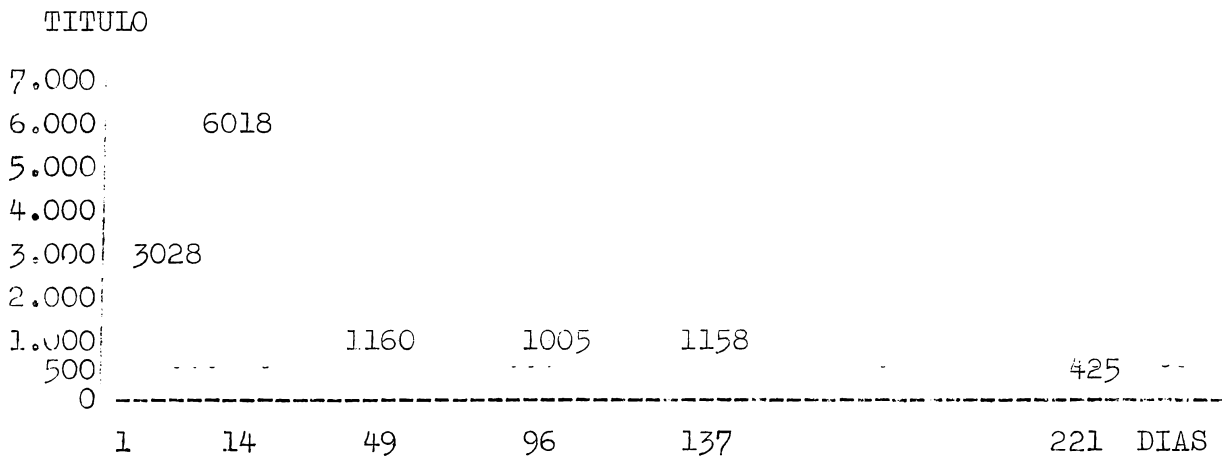
Un título positivo de 1/200 constituye sólo la evidencia de infección en el organismo, que puede ser de una semana o de varios años a-

trás.

Un título alto puede dar alguna evidencia de infección reciente pero no se puede confiar porque las aglutinaciones pueden persistir y ser detectables por varios años. (Gráfica I y II).

VARIACIONES DE ANTICUERPOS

Porcentaje de 55 sueros de un brote de abortos



Gráfica 1. El primer muestreo se realizó el 28 de Julio después de 2 meses que empezaron los abortos.

VARIACION DE ANTICUERPOS

De 3 sueros tomados al azar del mismo brote.

Los resultados negativos no descartan la posibilidad de una infección, especialmente cuando la obtención del suero es al principio de la enfermedad.

Con una serie de remisiones con aumento de título

Un aumento significativo entre dos o más muestras es una buena evidencia de infección. Cuatro veces o más es lo que se considera como significativo.

Con una serie de remisiones sin aumento de título.

Cada resultado puede ser considerado de una de estas tres maneras:

1) La enfermedad observada no es leptospirosis en su etiología y la reacción positiva representa alguna infección pasada.

2) La infección fue producida por un serotipo diferente al del usado en la batería de antígenos y los títulos fueron estimulados por cepas heterólogas.

3) La primera muestra fue obtenida después del máximo aumento de título o sea en cualquier parte de la meseta.

En caso de sospecha se aconseja hacer 2 remisiones de sueros bien identificados con un intervalo de 10 a 14 días, del 10% de los animales del rodeo afectado.

Todos estos materiales deberán llegar al laboratorio con formulario de remisión lo más completo posible.