

▶ **DIAGNOSTICO DE  
LEPTOSPIROSIS**

# ANIMAL



**Dra. Brenda Orellana.**  
**IHMV**  
Simulacro de Leptospirrosis



# Introducción

- Diagnóstico laboratorial de la Leptospirosis puede ser complejo e implica pruebas que se dividen en dos grupos.
- 1. Pruebas serológicas están diseñada para detectar los anticuerpos antileptospira.  
(suero, LCR, Orina, Humor, acuoso, leche )
- 2. Diagnóstico bacteriológico:  
aislamiento del agente etiológico prueba confirmatoria del diagnóstico presuntivo de la Leptospirosis .

# Toma de muestra.

## ► Sangre

- En la mayoría de los grandes mamíferos, se utiliza la vena yugular o una vena caudal, pero también se pueden utilizar venas braquiales y mamarias.

## ► Suero

- La sangre debe dejarse a temperatura ambiente, pero protegida del calor o frío excesivos, durante 1-2 horas, hasta que el coágulo empiece a retraerse. . Entonces, se recoge el coágulo con una varilla estéril, girándola, y se colocan los frascos en el frigorífico a 4° C. La muestra se puede centrifugar a 1000 g durante 10-15 minutos después de unas horas o al día siguiente, y el suero se puede decantar o quitar con una pipeta.

# TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS

DIAGNOSTICO	TECNICA	MUESTRA	CONSERVADOR	EMPAQUE	TIEMPO PARA DIAGNOSTICO	OBSERVACIÓN
Leptospirosis	Aislamiento	Riñón Hígado, Bazo, Pulmón, Medula Osea	Refrigeración	Frascos estériles bien cerrados	2 – 4 semanas	Deberán arribar a Laboratorio en las primeras 4 horas después de la recolección.
		Orina	Temperatura ambiente	Frasco estéril bien cerrado	2 – 4 semanas	Deberán arribar a Laboratorio en las primeras 2 a 4 horas después de la recolección.
		Agua	Temperatura ambiente	Frascos estériles bien cerrados	2-4 Semanas	
	Aglutinación Microscópica	Suero	Refrigeración	Tubos bien sellados e identificados	1 – 3 días, dependiendo del número de muestras	Deberán arribar a Laboratorio en las primeras 24 horas después de la recolección

# Información mínima indispensable

## Modelo de remisión del caso

- Datos generales del animal
- Sintomatología
- Número de animales enfermos
- Número de animales muertos
- Número de abortos
- Antecedentes epizootiológicos
- Tratamiento con antibióticos
- Fecha de los primeros síntomas
- Fecha de la toma de la muestra

# Leptospirosis

Período de incubación 2 a 20 días	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Meses	Años
	Estado Agudo	Estado Convaleciente		Uveítis		
Manifestaciones Clínicas Diversas Fiebre - Forma leve o anictérica (90%)						
Leptospira en:						
Sangre	—————					
LCR		—————				
Orina (reservorios)		—————	—————	—————		
Orina (convalecientes)		—————	—————	—————		
Concentración de Anticuerpos						
Fases de la Enfermedad	Leptospiremia	Inmune y		Lepstospiruria		



# Principales muestras clínicas

# 1. Identificación del agente

## Animales con signos clínicos:

- Órganos internos (hígado, pulmón, cerebro y riñón)
- Fluidos corporales: sangre, leche, líquido cerebroespinal, torácico y peritoneal)

**Demostrar la presencia de leptospiras en animales con signos clínicos, surgieren leptospirosis aguda, y en el feto, leptospirosis crónica de la madre.**

**Atención con tratamiento con antibiótico y viabilidad del m.o para el diagnóstico.**

# 1. Identificación del agente, continuación...

## **Animales sin signos clínicos:**

- El riñón, la orina y tracto genital de animales si son positivos a leptospiras, se consideran portador crónico.

## 2. Pruebas serológicas

- Diagnóstico clínico  
(2 muestras de sueros pareadas por animal)
- Prevalencia en el rebaño  
(muestra de suero de 10 animales o el 10%)
- Estudios epidemiológicos  
(muestra de suero representativa del área)

# Cultivo de Muestra de Sangre

- ▶ Extracción de sangre venosa
- ▶ Inmediatamente sembrar 2-3 gotas de sangre en tubos con medios selectivos para leptospiras
- ▶ Incubar a 30 °C
- ▶ Realizar lecturas por microscopio de campo oscuro cada 1 ó 2 semanas hasta visualizar espiroquetas, sino eliminar los tubos a los 6 meses de incubación.

# Cultivo de Muestra de Orina

- 50 mL de la primera micción
- Frasco estéril, bien identificado
- Mantener a temperatura entre 4 - 8 °C preferiblemente
- Cultivar orina, con un tiempo no mayor de 2 horas después de obtenida
- Inocular en tubos con 5 mL de medio, realizando diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000
- Incubar a 30 °C

# Toma de muestra en aguas y suelos

Estudios epizootiológicos y epidemiológicos

**AGUA**

20 mL de agua desagües  
líquidos (rurales y  
domésticos)

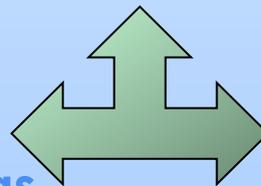
Frasco estéril  
• Boca ancha  
• Tapa de rosca  
• Color ámbar

Boca del pomo en dirección contraria  
a la corriente de agua  
(próximo a la interfase agua-suelo)

Limpieza y Turbidez

Corrientes rápidas o  
lentas  
Condiciones climáticas

Temperatura  
pH





# Toma de muestra en aguas y suelos

Estudios epizootiológicos y epidemiológicos

## SUELO

- Lugares húmedos
- Sombreados
- Distancia no mayor de 5 metros del agua

# Flujograma de envío de muestras y resultados



# DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS

- ▶ Serología por Microaglutinación (MAT).
- ▶ Aislamiento e Identificación:
- ▶ PCR



Capacidad máxima de diagnóstico Serológico 25 muestras diarias, cada muestra se analiza con 8 a 10 serovares.

# Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)

- Serodiagnóstico de Leptospirosis
- Tipaje serológico de cepas de *Leptospira*

# Definición MAT

- Diluciones seriadas del suero (o cepas), que se expone con igual volumen de una suspensión de leptospiras (o suero), a una temperatura adecuada y en un período de tiempo, realizando las lecturas microscópicamente, y estimando 50% de aglutinación como título a punto final en la mezcla de reacción.

### 3. Temperatura/Tiempo de incubación.

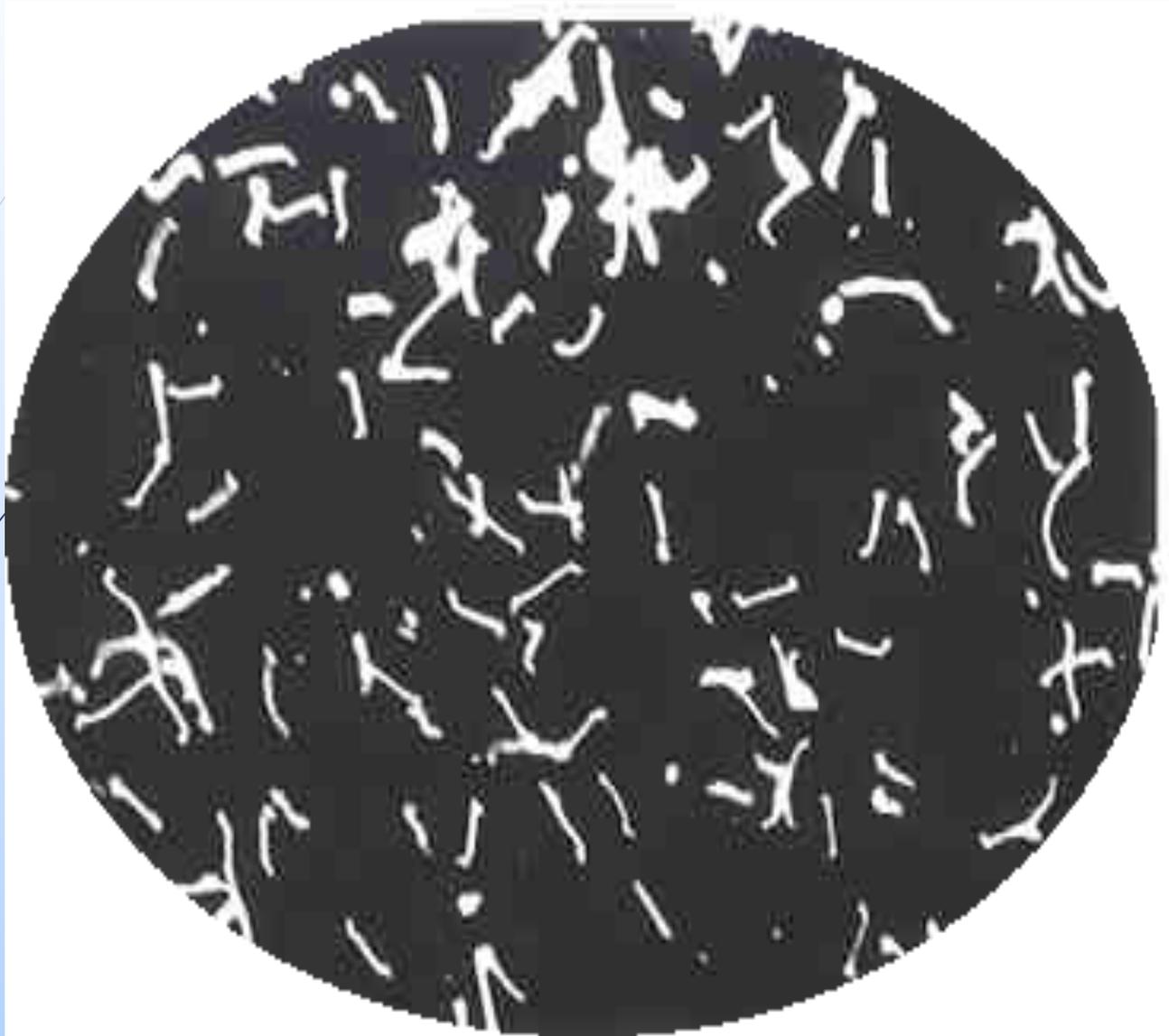
- ▶ Generalmente 2-4 horas a 30°C.
- ▶ A mayor temperatura (37°C) el tiempo de incubación disminuye.

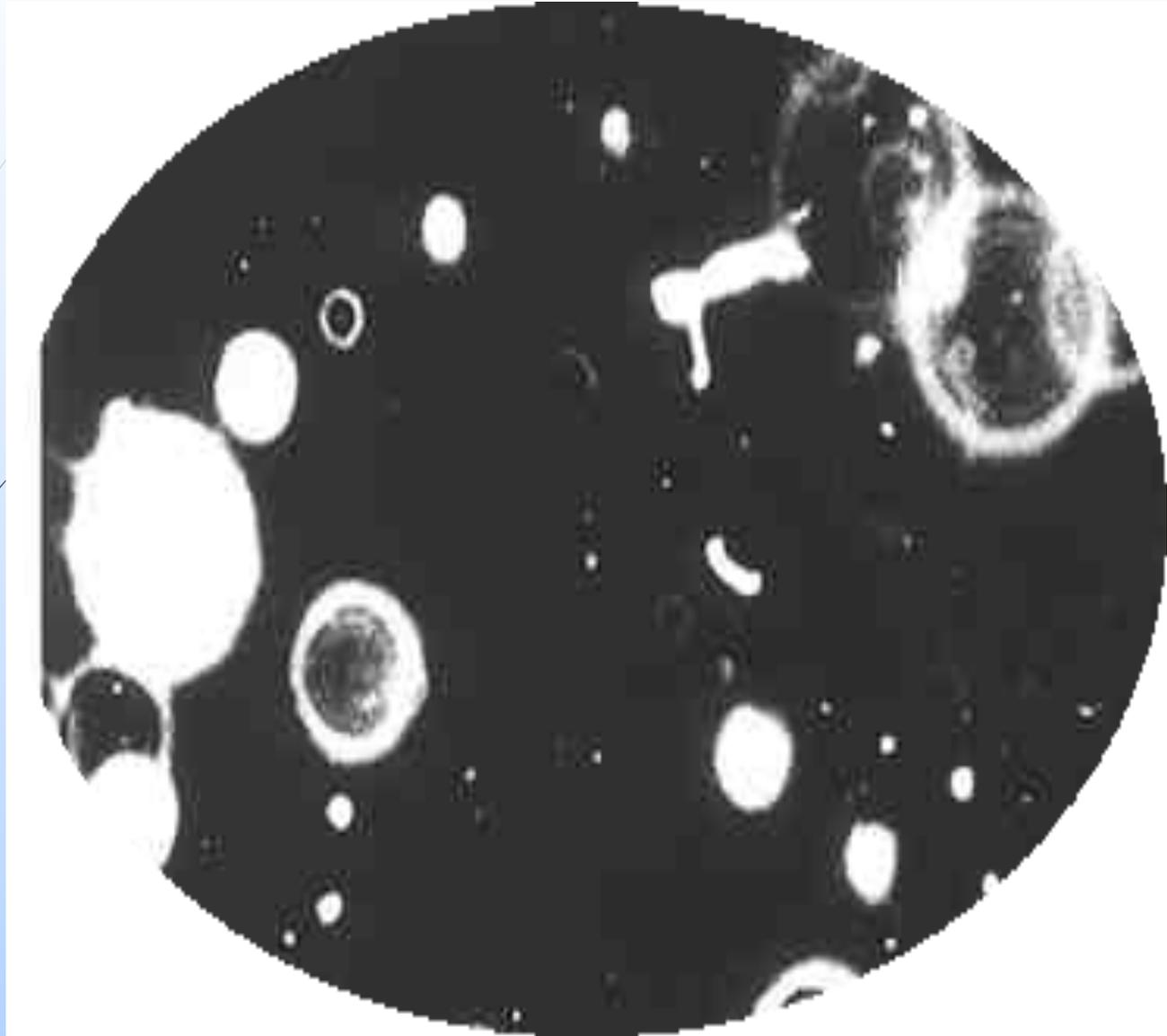
## 4. Lectura de la prueba

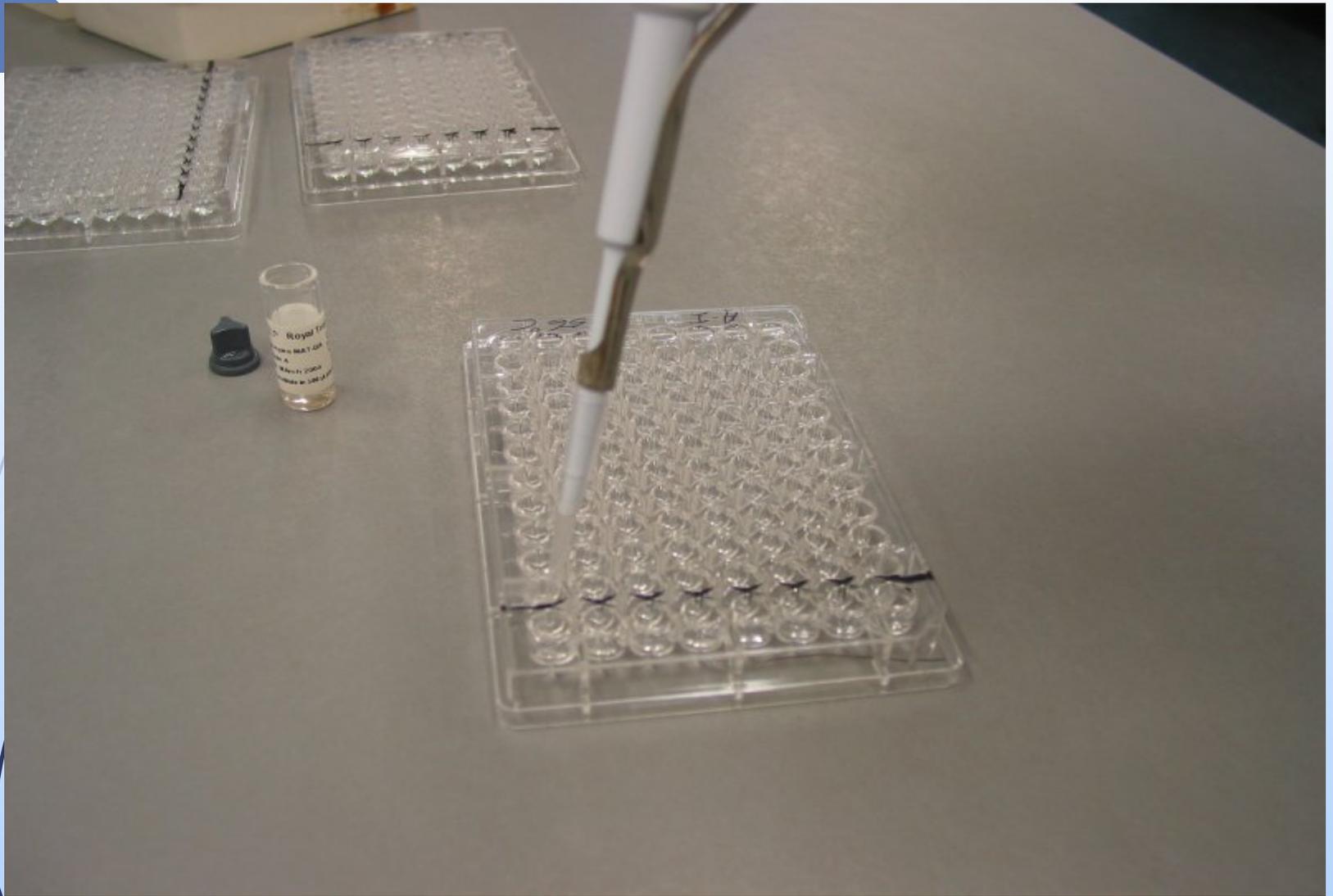
- ▶ **Subjetividad del lector**
- ▶ **Microscopio**
- ▶ **Diferencia si el antígeno es vivo o muerto**



# Ejemplos de aglutinación y de leptospiras libres







# MAT

## NEGATIVA

Control Negativo



# SEROGRUPOS UTILIZADOS MAT

#	Serovar
1	Australis australis Ballico
2	Austramaliz austramaliz Automnalis Akayami A
3	Ballum castellonis Castellon 3
4	Bataviae bataviae Swart
5	Canicola canicola Hond Utrech V
6	Cynopteri cynopteri 3522C
7	Grippotyphosa grippotyphosa MOSKA V
8	Hebdomadis hebdomadis Hebdomadis
9	Icterohaemorrhagiae copenhageni M20
10	Javanica javanica Veltrat Batavia 46
11	Panama panamá C2 214
12	Pomona pomona Pomona
13	Pyrogenes pyrogenes Salinem
14	Sejroe hardjo Hardjoprajitro
15	Sejroe sejroe MB4
16	Tarassovi tarassovi Perepelitsin

# Interpretación de los resultados de prueba de MAT

- Es de alta importancia para completar el examen serológico remitir una segunda muestra que sea tomada de 14 a 21 días después de la primera.

# Interpretación de los resultados de prueba de MAT, continuación...

## Caso confirmado:

- Cuando se detectan *Leptospiras* en sangre, en la orina o en la suspensión de los órganos en feto abortado o en los órganos de los animales de laboratorio que mueren a causa de la inoculación del material patológico .

# Interpretación de los resultados de prueba de MAT, continuación...

## Caso confirmado:

- Cuando se detectan títulos en MAT altos  $\geq 1:100$  junto con síntomas clínicos.
  
- Cuando aumenta en 4 o más veces el título de anticuerpos de los reactores investigados a los 14 a 21 días posteriores a la primera investigación.

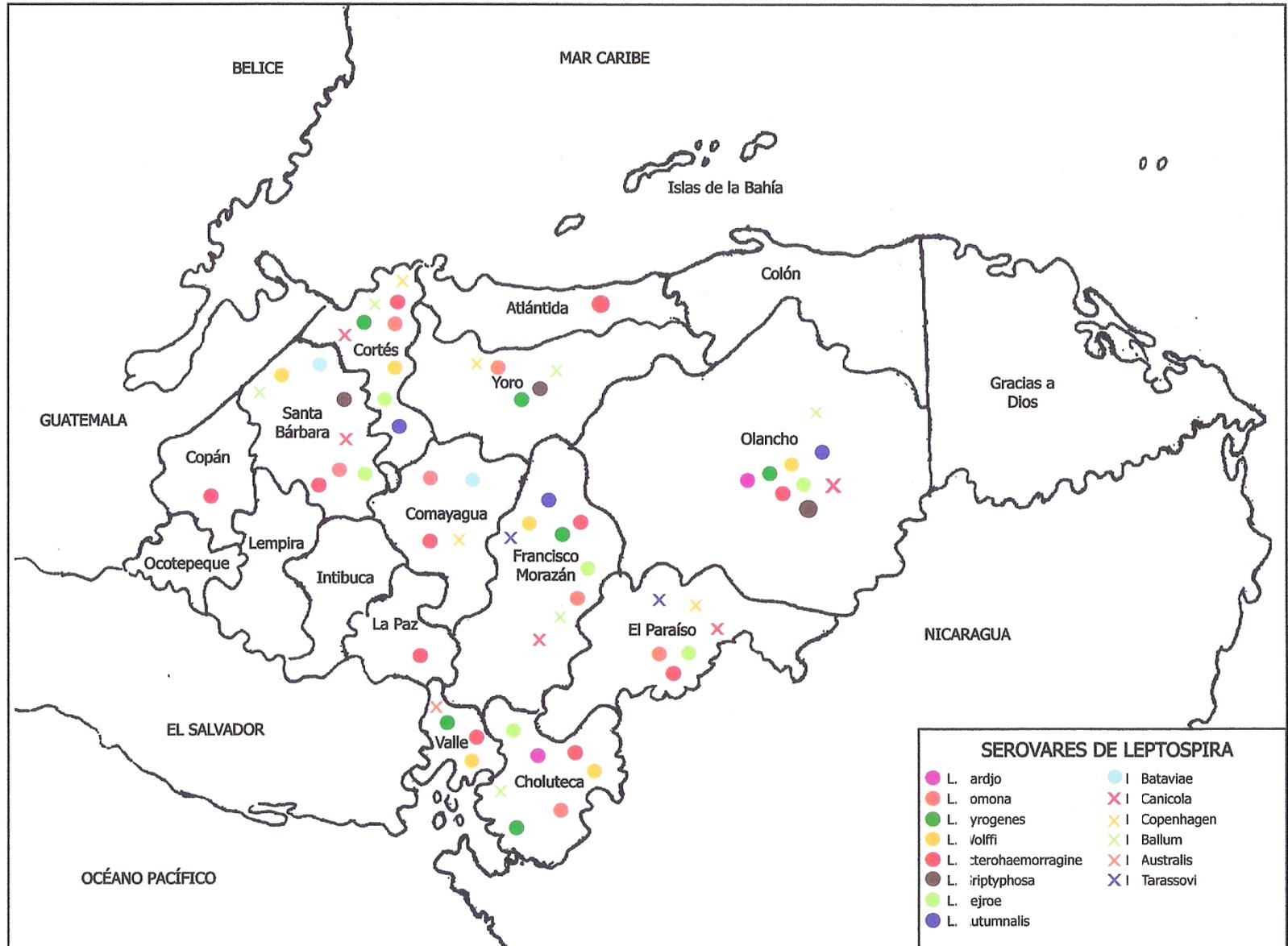
# Interpretación de los resultados de prueba de MAT, continuación...

## Caso confirmado:

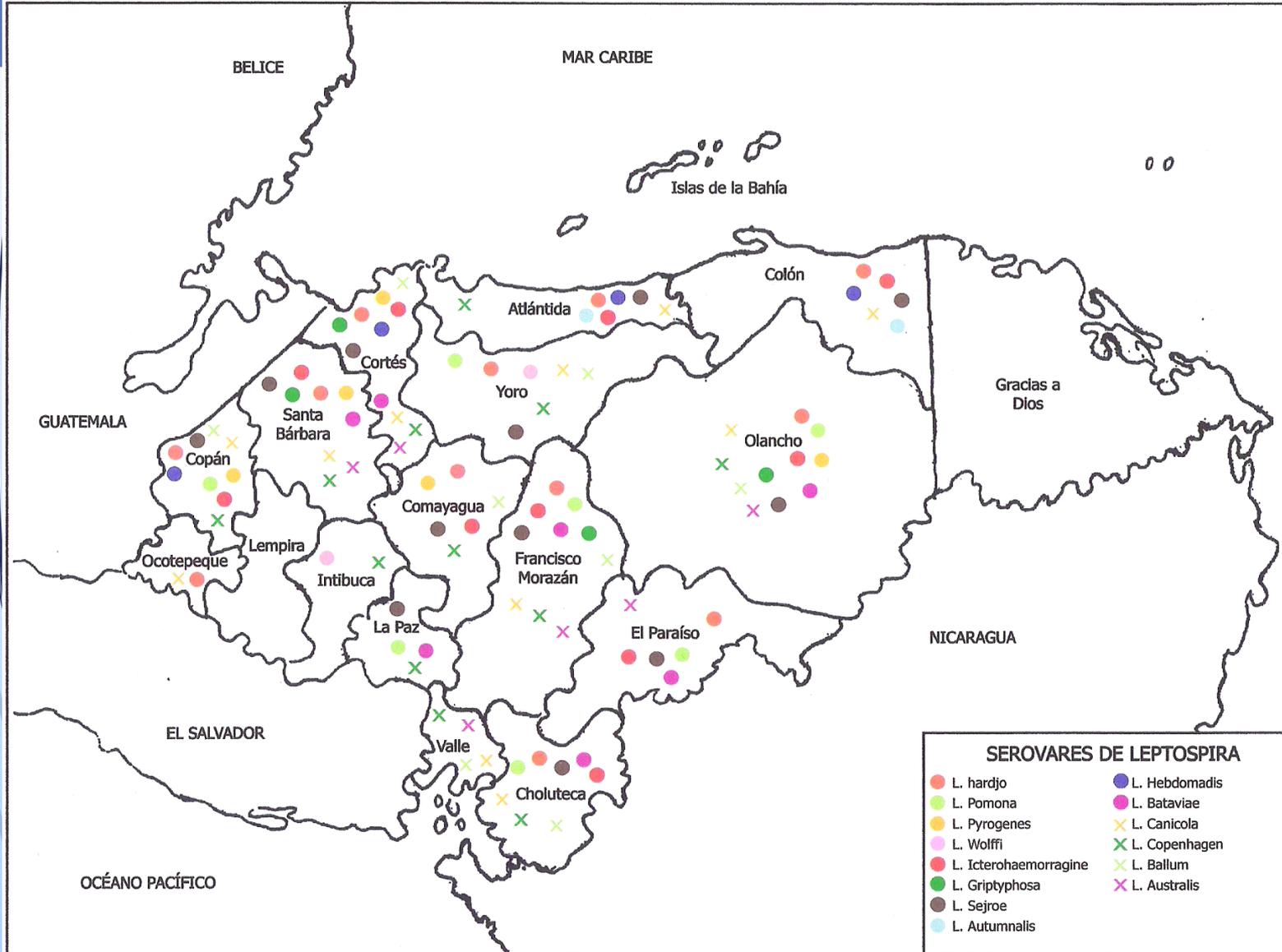
► Cuando se observan en cortes de tejido de hígado y riñón con impregnación argéntica formas espiroquetales y los mismos cortes teñidos con coloración de hematoxilina-eosina demuestran lesiones propias a las descritas para la enfermedad y son coincidentes a los signos o síntomas y el cuadro epizootológico.

# DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE SEROVARES *L. interrogans* EN PORCINOS EN LOS DEPARTAMENTOS DE HONDURAS, 1985 - 2005

## MÉTODO: MICROAGLUTINACIÓN



# DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE SEROVARES DE LEPTOSPIRA EN BOVINOS EN LOS DEPARTAMENTOS DE HONDURAS UTILIZANDO EL MÉTODO DE MICROAGLUTINACIÓN, 1985 - 1998



# Interpretación de los resultados de prueba de MAT, continuación...

## Caso sospechoso:

► Los títulos en las investigaciones por MAT de 1:100 o superior en la primera investigación, frente a uno o más antígenos leptospirales, sólo es evidencia indicativa de la enfermedad en un período anterior o posible enfermedad en curso. Es este caso debe realizarse un estudio pareado a los 14 a 21 días posteriores a la primera extracción.

**GRACIAS POR SU  
ATENCIÓN!!!**

