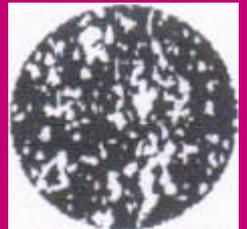




# Diagnóstico laboratorial de Leptospirosis



**Lic. Marta Elizabeth Meléndez**  
Coordinadora Plataforma Microbiología  
Responsable Laboratorio Sarampión-Rubeola y  
Leptospirosis  
Laboratorio Vigilancia en Salud L.N.R.

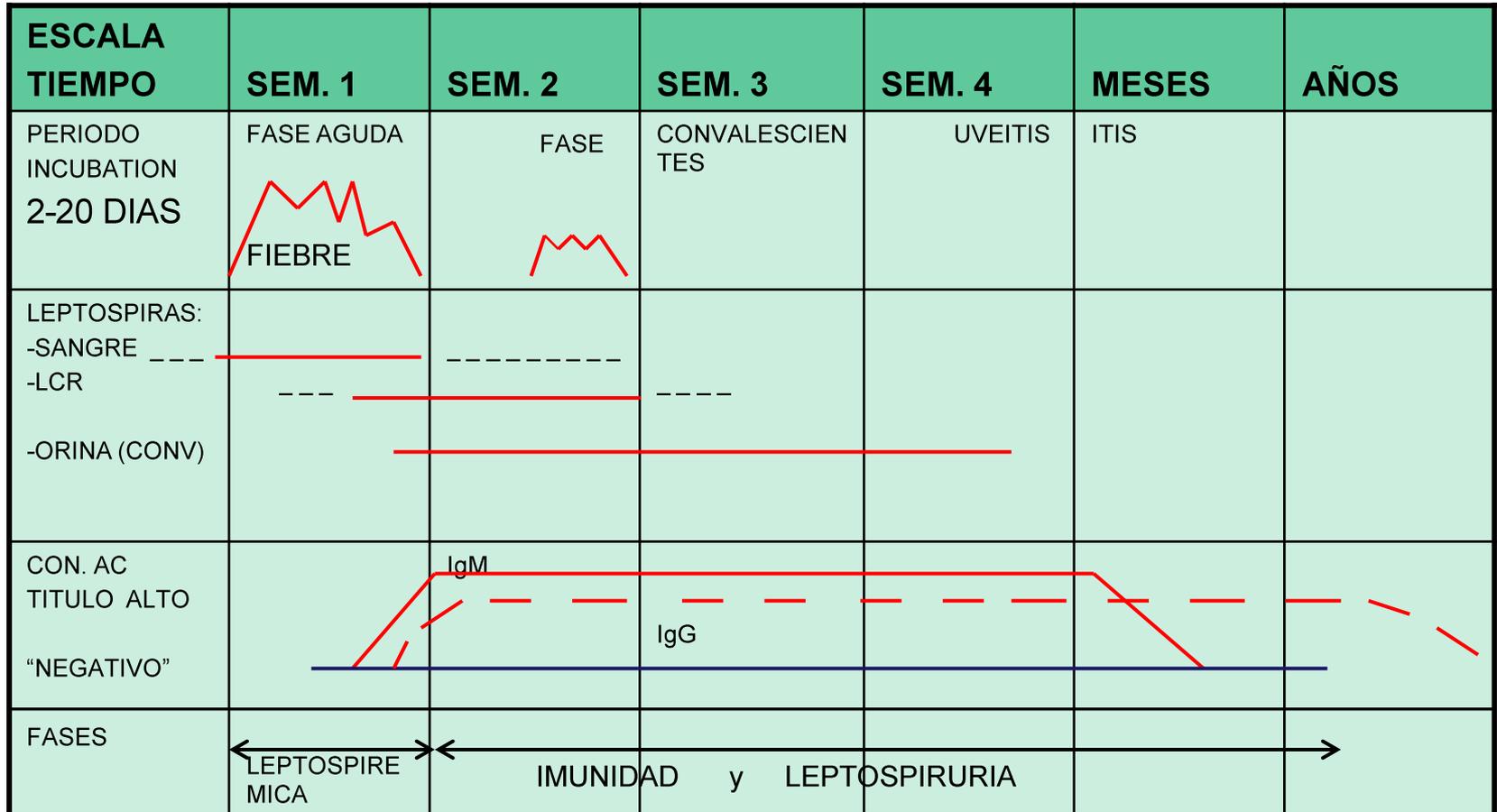
# OBJETIVO

Dar a conocer las diferentes metodologías de trabajo utilizadas en el laboratorio para el diagnóstico de leptospirosis

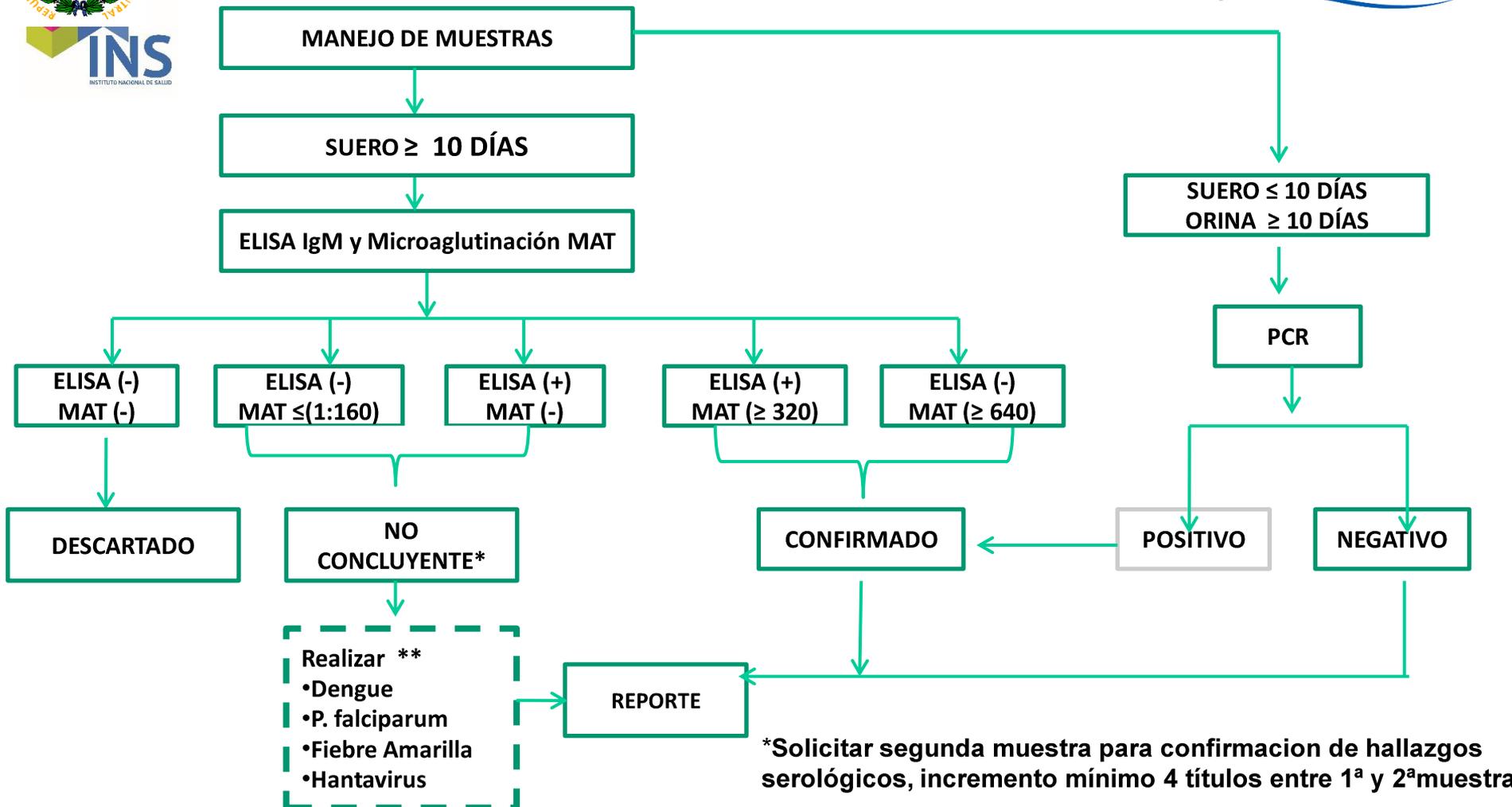
# RESPUESTA INMUNE

➤ Para saber el tipo de muestra a tomar es importante la **fase de la enfermedad**

➤ La **especificidad** de una prueba se cumple con una muestra de calidad



# ALGORITMO DE TRABAJO LEPTOSPIROSIS



**\*Solicitar segunda muestra para confirmación de hallazgos serológicos, incremento mínimo 4 títulos entre 1ª y 2ª muestra**

**Títulos  $\geq 1:640$  a uno ó varios serovares constituye diagnóstico confirmatorio, en sueros únicos**

**\*\*De acuerdo a investigación clínica y epidemiológica**

Tipo de Prueba	Reporte	Metodología	Detecta	Tipo de muestra	Tiempo T.M.	Especificidad	Resultado
Molecular	Pruebas confirmatorias	PCR convencional	ADN	Suero y L.C.R.	≤ 10 días post inicio	100%	Positivo Negativo
				Orina	≥ de 10 días		
Cultivo		Siembra	aislamiento serovar	Suero y L.C.R.	≤ 10 días post inicio		

- **PCR:** La secuencia de los “oligonucleótidos ó primer” corresponde a la estructura primaria del gen *rr(16S)* de la especie *L. interrogans* (patógenas)
- **Cultivo:** es recomendado para estudios, las leptospiras son catalogadas como fastidiosas la recuperación ó positividad es un 3%, el tiempo de observación es 4-6 meses
- En **orina** la excreción de leptospiras es esporádica y variable en cantidad

# Diagnóstico Laboratorial de Leptospirosis

Tipo de Prueba	Reporte	Metodología	Detecta	Tipo de muestra	Tiempo T.M.	Especificidad	Resultado
Serológicas: Ag-Ac	Cualitativo Pruebas rapidas de tamizaje	Aglutinación macroscópica	Ac. IgM	Suero	≥de 10 días post inicio de síntomas	92%	Positivo y Negativo
		Inmunocroma tografia				95%	
	Cuantitativo en títulos Prueba confirmatoria	Microaglutina ción (MAT)	Ac.IgM/IgG	Suero y L.C.R.		100%	Título /corte 1:160

- **Las pruebas rápidas:** utilizan como antígenos proteínas de la especie *L. interrogans*
- **MAT:** Cepario Patrón de referencia consensuado a nivel de los laboratorios de América incluye cepas comunes en la región, especies incluidas *L. interrogans* y *L. Biflexa*.
- Para la lectura de la prueba se utiliza un microscopio de campo oscuro

# Cepario patrón de referencia (antígenos)

N°	ESPECIE	SEROVAR	CEPA DE REFERENCIA	SEROGRUPO
1	L. interrogans	australis	Ballico	Australis
2		autumnalis	Akiyami A	Autumnales
3		bataviae	Swart	Bataviae
4		canicola	Hond Utrecht IV	Canicola
5		hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
6		icterohaemorrhagiae	RGA	Icterohaemorrhagiae
7		copenhageni	M20	Icterohaemorrhagiae
8		Pomona	Pomona	Pomona
9		Pyrogenes	Salinem	Pyrogenes
10		Hardjo	Hardjoprajitmo	Sejroe
11		Wolffi	3705	Sejroe
12		copenhageni	Wijnberg	Icterohaemorrhagiae
13		icterohaemorrhagiae	Kantarowics	Icterohaemorrhagiae
14		Bratislava	Jez Bratislava	Australis
15	L. borgpetersenii	castellonis	Castellón 3	Ballum
16		javanica	Veldrat batavia 46	Javanica
17		Sejroe	M84	Sejroe
18		tarassovi	Perepeletsin	Tarassovi
19	L. noguchi	Panama	CZ214K	Panama
20	L. biflexa	Patoc	Patoc	Semaranga
21	L. biflexa (meyeri)	semaranga	Veldrot Semarang 173	Semaranga
22	L. santarosai	Tingomaría	M13	Cynopteri
23	L. kirschneri	cynopteri	3522 C	Cynopteri
24		grippotyphosa	Andaman	Grippotyphosa

# Montaje de la prueba MAT (Tamizaje)

➤ **24 cepas** ó antígenos

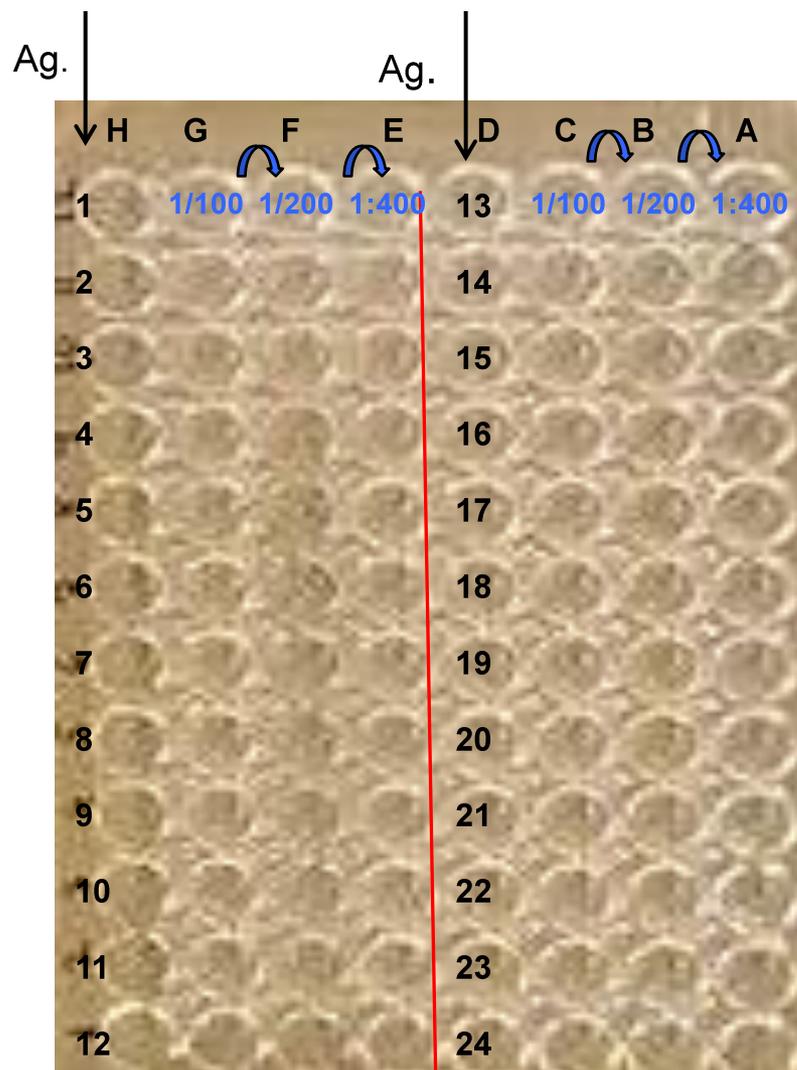
➤ **Ag. 7 días de crecimiento**

las cepas se mantienen por pasajes semanales en medio de cultivo EMJH.

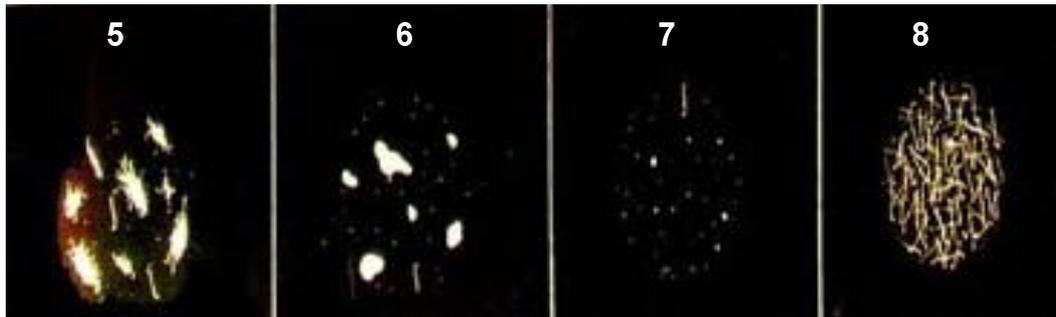
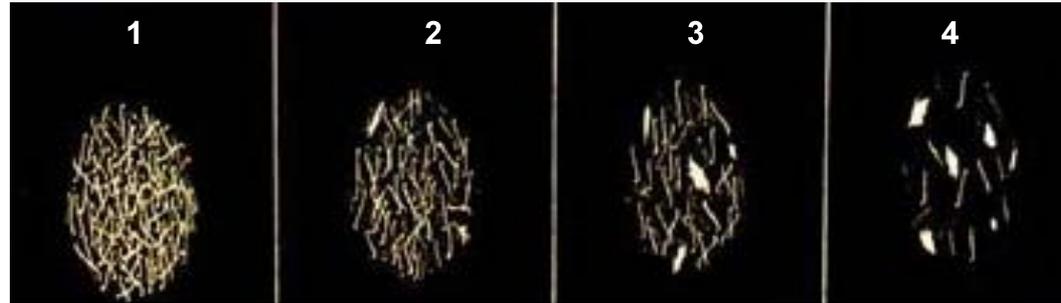
➤ **Movilidad y concentración**

(200-400 leptospiras por campo)

➤ **Dilución inicial del suero 1:100**



# PRUEBA DE MICROAGLUTINACION “MAT” UTILIZANDO ANTIGENOS VIVOS



N	TÍTULO
1	Negativo
2	1:40
3	1:160
4	1:640
5	1:640
6	1:2560
7	1:2560
8	Negativo

- **El título** alcanzado depende del serovar, la edad y el estado inmunológico del paciente
- **El MAT** es específico para el serotipo infectante o serovar antigénicamente relacionado
- Si se observa reacción en uno ó mas serovares se continua la dilución y se observa al microscopio hasta determinar el título final

# INTERPRETACIÓN RESULTADOS

Serovares Reactores	Muestra Aguda	Muestra convaleciente	Interpretación	Tipo Ac.
Canicola	1:80	1:80	Negativo	IgG
Icterohaemorrhagiae M20*	1:80	1:160	Negativo	IgG
Wolffi	--	--	Negativo	
Icterohaemorrhagiae RGA*	--	1:320	Positivo =seroconversión	IgM
Wijnber*	1:160	1:640	Positivo = aumento título	IgM

\*Serogrupo Icterohaemorrhagiae

- En algunos pacientes durante la fase temprana de la infección los anticuerpos pueden no reaccionar con el serovar causante de la infección, hacen reacción cruzada llamada **reacción Paradoxical**, Luego son inducidos o creados los anticuerpos específicos
- También se observan reacciones cruzadas entre serovares del mismo serogrupo, se deduce que el serovar con título mas alto es el causante de la infección
- Para confirmar ó descartar el caso, la **TOMA DE LA SEGUNDA MUESTRA ES IMPORTANTE**, a veces es necesaria una tercera muestra

**Gracias**



**Laboratorio Nacional de Referencia**