



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNÓSTICO DE
LABORATORIO
VETERINARIO**

TRABAJO FINAL INTEGRADOR

Alumna:Med. Vet. Ana Follmer

Director:Dr. Gabriel Travería

Co-Directora:Dra. Laura R. Baltian

**TITULO: ESTUDIO RETROSPECTIVO DE
LEPTOSPIROSIS EN FETOS BOVINOS EN LA
PROVINCIA DE LA PAMPA**

Año 2017

INDICE

| | PAGINA |
|--------------------------------------|---------------|
| I.- INTRODUCCIÓN. | 3 |
| II.- DESARROLLO. | 5 |
| 1. Patogenia. | 8 |
| 2. Formas de presentación clínica. | 11 |
| 3. Respuesta inmune. | 12 |
| 4. Lesiones comunes de la patología. | 15 |
| 5. Diagnóstico. | 15 |
| 6. Control. | 19 |
| III.- METODOLOGÍA | 21 |
| IV.- RESULTADOS | 22 |
| V.- DISCUSIÓN | 29 |
| VI.- CONCLUSIONES. | 31 |
| VII.- BIBLIOGRAFÍA. | 32 |
| VIII.- ANEXO | 35 |

I.- INTRODUCCIÓN

El aborto bovino es un problema de gran impacto económico limitando el desarrollo ganadero en todos los países del mundo. Se presenta en forma esporádica, endémica o de brote, es de origen multifactorial, presenta etiologías infecciosas y no infecciosas (Rivera y Zuñiga, 2004).

Durante el ciclo reproductivo del bovino se pueden presentar diversas pérdidas prenatales y posnatales. Las prenatales abarcan el servicio, la concepción, el período embrionario y el fetal. En el período embrionario se produce la diferenciación orgánica y está comprendido desde la concepción hasta el día 45 de gestación, las pérdidas durante este período se conocen como mortalidad embrionaria, El período fetal abarca desde el día 45 de gestación hasta el final de la vida intrauterina. Se considera aborto a la expulsión de un feto no viable incapaz de llevar una vida independiente desde el día 45 hasta el día 260 de gestación. Desde el día 260 hasta el parto se denomina parto prematuro, ya que el ternero estaría en condiciones de vivir fuera del útero. El nacimiento de un ternero a término (aproximadamente 280 días de gestación) pero muerto se denomina natimorto.

Las pérdidas neonatales ocurren desde el nacimiento hasta los primeros 28 días de vida, y se lo puede dividir en período hebdomadal (1 a 7 días) y post-hebdomadal (8 a 28 días). La mayoría de las pérdidas reproductivas ocurren durante el período embrionario y se estiman entre 20% a 40%. En los bovinos de carne se considera común un 5% de abortos desde el diagnóstico de la preñez hasta el parto (Morrell, 2010).

Los trabajos realizados en el país sobre las causas de aborto en el ganado bovino coinciden en que la mayoría son infecciosas, con la brucelosis en el primer lugar, seguida por la campilobacteriosis. Otros agentes como la leptospirosis se diagnostican en forma variable condicionada por factores ambientales, entre ellos las precipitaciones y la temperatura.

El diagnóstico etiológico del aborto bovino resulta un desafío tanto para el veterinario como para el laboratorista, por su relativa baja eficiencia. Existe una gran variedad de causas, la mayoría asociada a un número limitado de agentes infecciosos, aunque probablemente una elevada proporción de abortos de origen no infeccioso estén implicados, estas pérdidas son difíciles de establecer.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

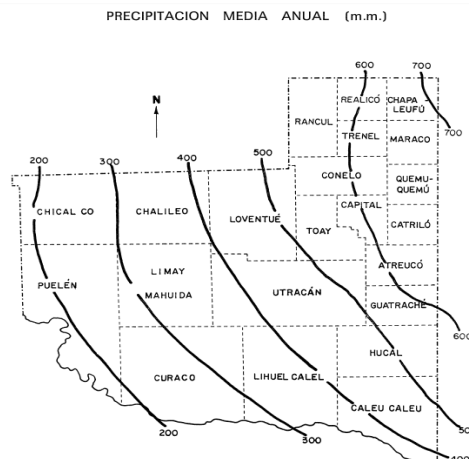
La proporción del aborto bovino atribuida a un agente específico puede variar según la región, probablemente debido a cambios en el clima, la alimentación, prácticas de manejo, programas de vacunación, etc. La calidad de las muestras remitidas y los protocolos de trabajo de cada laboratorio, también pueden influir en la identificación de ciertos agentes abortivos. La implementación de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha mejorado el diagnóstico. Los abortos pueden ocurrir en cualquier período de la gestación, sin embargo son más fáciles de detectar en el segundo y tercer trimestre debido probablemente a la dificultad que representa encontrar los fetos abortados en periodos previos. Este hecho influiría en la estimación de la edad gestacional promedio de los fetos abortados.

Existen pocos signos clínicos para el diagnóstico del aborto y debido al proceso de autólisis fetal es raro encontrar lesiones macroscópicas o microscópicas características de algún agente abortigénico en particular. Por ello se requiere de un trabajo completo y sistemático que involucren los antecedentes del rodeo problema tomando en cuenta, las vacunaciones previas, el ingreso de animales, movimientos, presencia de abortos en determinadas categorías de animales, porcentaje de abortos y enfermedades previas, edad gestacional de los abortos, estado de los fetos (frescos o autolíticos), si se realiza servicio natural o artificial, los hallazgos de patología, el reconocimiento de agentes virales, bacterianos, parasitarios y fúngicos, complementado con la detección de la respuesta inmune (Morrell, 2010).

En la provincia de La Pampa predomina el clima templado y semiárido. En el sector nororiental del territorio se registran los mejores niveles de precipitación, existiendo también buenos suelos y temperaturas agradables que han permitido el asentamiento de la mayor parte de la población con el mayor desarrollo productivo.

Hacia el oeste y sudoeste, disminuye el nivel de precipitaciones (ver figura 1) y calidad de los suelos, siendo las amplitudes térmicas muy pronunciadas, típicas de los climas continentales. Las condiciones rigurosas del medio se acentúan en el oeste, donde sólo es posible la ganadería de cría intensiva, la agricultura bajo riego y la actividad minera (<http://www.lapampa.gov.ar/clima-de-la-pampa.html>).

Figura 1. Isoyetas de la Provincia de La Pampa



<https://recursosnaturales.lapampa.edu.ar/pdfs/caracterizacion.pdf>

II.- DESARROLLO

La leptospirosis, es una enfermedad que afecta a los animales domésticos, la fauna silvestre y el hombre, siendo su distribución mundial (Stanchi, 2010).

La leptospirosis bovina es una enfermedad infecciosa con alta morbilidad y baja mortalidad. Provoca pérdidas económicas significativas a la industria ganadera y representa un importante riesgo como fuente de infección para el hombre, a través del agua y los alimentos contaminados. Es considerada una enfermedad antropozoonótica (Rodríguez, 2013).

El agente etiológico es una espiroqueta del género *Leptospira*. De las cuales existen especies patógenas y no patógenas o saprófitas que presentan similitudes y se diferencian antigénicamente. Las leptospiras saprófitas pertenecen a la especie *biflexa*, se encuentran en ambientes húmedos como suelos, aguas superficiales, agua de mar e inclusive agua del grifo (Moral, 2014). Todas las leptospiras patógenas se encuentran clasificadas bajo una sola especie: *interrogans* de la cual se distinguen 250 serovariedades comprendidas en 24 serogrupos (Levett, 2015). Entre las serovariedades más comunes que afectan al ganado bovino se encuentra: Pomona,

Hardjo, Tarassovi, Wolffi, Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis yPyrogenes (Erreis y Albarracin, 2011), (Stanchi, 2010), figura 2.

Figura 2. Dra. Bibiana Brihuega, MV
Laboratorio de Leptospirosis
Instituto de Patobiología
INTA Castelar

Serogrupos Aislados en la República Argentina

Bovinos: Pomona - Canicola - Hardjo

Ovinos: Castellonis - Pomona

Porcinos: Pomona - Canicola - Tarassovi

Ratas y animales silvestres: Icterohaemorrhagiae -
Bataviae - Canicola - Pomona - Grippotyphosa

Humano: Icterohaemorrhagiae - Canicola -
Pomona - Grippotyphosa

Las leptospiras que comparten los aglutinógenos mayores se reúnen en serogrupos de acuerdo a las características antigénicas de superficie reconocidas por el sistema inmune del hospedero. A su vez, todas las leptospiras que se encuentran en un serogrupo dado, presentan diferencias en sus antígenos de superficie que sirven para clasificarlas en serovares (aproximadamente 200 dentro de *Leptospirainterrogans*).

Genotipificación: Basado en la filogenia del ARNrribosomal 16S y la hibridación del ADN se reconocen 22 especies ordenadas en tres grandes grupos de acuerdo a su patogenicidad. Especies patogénicas: *Leptospirainterrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii*, *L. mayottensis*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. alexanderi*, *L. kmetyi*, y *L. alstonii*. Especies de baja patogenicidad: *L. broomii*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. licerasiae*, *L. wolffi*. Especies saprofíticas: *L. biflexa*, *L. idonii*, *L. meyeri*, *L. terpstrae*, *L. vanthielli*, *L. wolbachii*, *L. yanagawae* (Fouts, 2016).

El serovar Hardjo tiene la capacidad de colonizar y persistir en el tracto genital de las vacas y los toros infectados siendo el serovar con mayor actividad patogénica en bovinos, el cual crece en el útero grávido y la glándula mamaria produciendo aborto, mastitis e infertilidad (Rodríguez, 2013).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

La leptospirosis tiene como reservorio a los animales de vida libre (ratas, comadrejas, reptiles, etc.), quienes actúan como portadores y eliminadores constantes por intermedio de la orina, contaminando el medio.

En estos animales la bacteria puede persistir por largos períodos en los túbulos renales, estableciendo una relación simbiótica, sin evidencias de enfermedad o cambios patológicos.

Para la mayoría de los serovares de leptospira los hospedadores más importantes lo constituyen los roedores. Un hospedador puede actuar de reservorio para más de una serovariedad y a su vez una serovariedad de leptospira puede tener hospedadores diferentes. Generalmente, cada serovariedad tiene su o sus hospederos predilectos de mantenimiento al cual se adapta.

La exposición de animales susceptibles a una serovariedad no adaptada al hospedador, causa la enfermedad en forma incidental caracterizada por ser aguda, con signos clínicos severos, producción de altos niveles de anticuerpos y un período corto de excreción de leptospira por vía renal (Odriozola, 2001).

En un estudio realizado en Colombia se demuestra la importancia de la circulación de los distintos serotipos entre las especies animales. Los altos porcentajes de seropositividad a los serotipos Bratislava (48,3%) y Pomona (14,4%) muestran la relevancia de los porcinos en esta zona. Además, 20,1% de los bovinos en estudio fueron positivos a Icterohaemorrhagiae y 1,2% a Grippotyphosa, cuyos reservorios son los roedores y los animales silvestres, y 6% a Canicola, serotipo adaptado fundamentalmente a los caninos (Ochoa y col., 2000).

La enfermedad se transmite por vía transplacentaria, digestiva, mamaria, cutánea, por contacto con el suelo o alimentos contaminados, siendo el período de incubación variable entre 5 y 14 días, con un máximo de 21 días. Después de la infección inicial, la leptospiruria persiste por meses; los vacunos pueden eliminar microorganismos durante 12 meses, el hombre raramente supera los 60 días de eliminación (Odriozola, 2001).

Con respecto al ambiente existen ciertos factores que aseguran la mayor supervivencia de la bacteria en el medio, entre ellos está la neutralidad del pH del suelo (Odriozola, 2001) ($\text{pH} < 6$ y $\text{pH} > 8$ son inhibidores) (Erreis y Albarracin, 2011); las lluvias y las temperaturas templadas (Odriozola 2001) (temperaturas $< 7-10^{\circ}\text{C}$ y temperaturas $> 34-36^{\circ}\text{C}$) son nocivas (Erreis y Albarracin, 2011).

Los organismos de leptospira sobreviven hasta 180 días en suelos húmedos, por varios meses en superficies acuosos y sobreviven aún mejor en agua estancada que en movimiento (Erreis y Albarracin 2011).

Las inundaciones, sumadas a la mayor concentración de hacienda, generan mayores posibilidades de contagio y difusión de una enfermedad cuyo vehículo es el agua, donde algunas serovariedades de leptospiras pueden sobrevivir hasta 300 días y 180 en el barro (Aba, 2014).

Aunque la tasa de mortalidad es baja en bovinos (5%), la morbilidad suele ser elevada, pudiendo llegar al 100% de los animales expuestos.

En los terneros la mortalidad es mayor que en los adultos. Las cifras de aborto, el descenso de producción de leche y la muerte de bovinos, elevan las pérdidas económicas (Erreis y Albarracin 2011).

Las ratas y ratones domésticos merecen especial atención dentro de la salud pública y la sanidad animal como reservorio de esta enfermedad debido a su relación con viviendas, fábricas, almacenes de alimentos, supermercados y fincas (Odriozola, 2001).

A. PATOGENIA

La bacteria penetra a través de las mucosas o piel lacerada, siendo transportada por vía linfática, multiplicándose en riñones, hígado, bazo, sistema nervioso central, tejido ocular y tracto genital, durante más o menos 7 días (Khan, 2007).

Los animales, incluyendo los seres humanos, pueden dividirse en huéspedes reservorios y huéspedes accidentales (incidentales). La enfermedad es mantenida en la naturaleza por la infección crónica de los túbulos renales proximales de los huéspedes reservorios, los cuales se definen como las especies donde la infección es endémica y generalmente se transmite de un animal a otro por contacto directo.

Un animal infectado puede permanecer libre de síntomas y excretar leptospiras en su orina durante toda su vida. Otros animales, incluyendo los humanos, pueden infectarse por contacto indirecto con un huésped reservorio, a través del contacto de la piel con solución de continuidad (abrasiones o cortes) o de las mucosas (ojos, boca) con agua y/o suelo contaminados con orina. Los mamíferos pequeños son los

transmisores más importantes de la leptospirosis en zonas urbanas y pueden infectar animales domésticos de granja, perros y humanos.

Diferentes especies de roedores pueden ser reservorios de distintos serovares, pero generalmente las ratas son huéspedes reservorios para los serovares Icterohaemorrhagiae y Ballum, los ratones para Ballum. Los animales domésticos también son reservorios de algunos serovares de *Leptospira*, y muchos animales son portadores seronegativos (Cedola, 2014), figura 3.

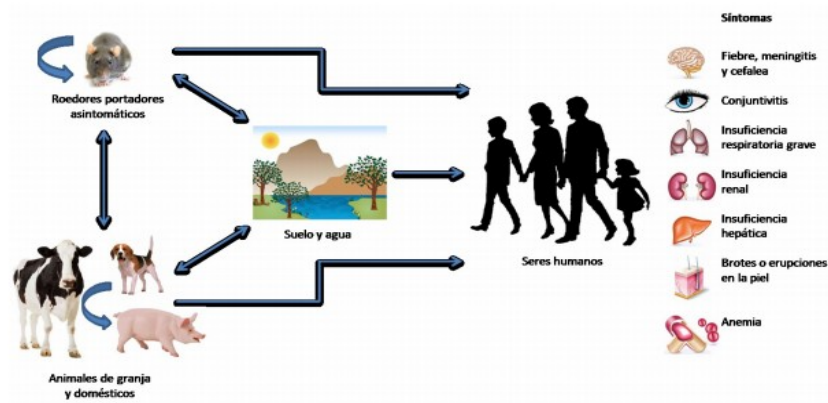


Figura 3. Ciclo de infección de *Leptospira interrogans*. Los roedores, en especial la rata, son los reservorios crónicos asintomáticos de la bacteria, y la excretan en su orina. Otros animales y el hombre pueden contagiarse por contacto directo o a través del agua y suelo contaminados con orina. La bacteria ingresa por piel o mucosas, y produce una gran variedad de síntomas. Cedola (2014).

Durante la etapa septicémica, existen leptospirosis solamente en la sangre. Hay también evidencia de laboratorio y anemia hemolítica aguda y aumento de fragilidad de los eritrocitos y en algunos casos hemoglobinuria.

Se ha observado leucopenia en bovinos, la única medida diagnóstica positiva en esta etapa de la enfermedad es el cultivo de la sangre. Si sobreviene el aborto, debe examinarse el riñón, el pulmón y el líquido pleural del feto abortado en busca de la presencia del microorganismo. Las pruebas serológicas en el momento del aborto pueden ser totalmente ineficaces (Erreis y Albarracin, 2011).

En la etapa subsiguiente a la caída de la fiebre comienzan a formarse anticuerpos, y las leptospirosis desaparecen de la sangre y aparecen en la orina. La

leptospirosis se acompaña de albuminuria de diferente intensidad y persiste durante periodos que varían según las especies (Blood y Henderson, 1986).

Las leptospiras se acantonan en el riñón, atravesando los espacios intertubulares y las células epiteliales de los túbulos, para penetrar en la luz tubular; allí forman microcolonias que se multiplican y finalmente se eliminan por orina. La inmunidad específica generada por infección persiste por años (Odriozola, 2001).

La enfermedad puede ser de presentación aguda, subaguda o crónica.

AGUDA: la presentación es frecuente en terneros. Durante la septicemia como producto de la hemólisis intravascular extensa (depende del serotipo) se produce suficiente hemolisina para causar hemoglobinuria. Si el animal sobrevive se inicia un proceso infeccioso en el riñón originando nefrosis hemoglobinúrica. Los signos clínicos incluyen fiebre alta, anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia, congestión pulmonar, uremia y de vez en cuando la meningitis y la muerte.

SUBAGUDA: Es más común en los bovinos adultos, es similar a la forma aguda pero la reacción es menos grave, es una infección oculta.

CRONICA: Frecuentemente presenta aborto, con o sin degeneración placentaria, el nacimiento de terneros prematuros o débiles infectados, debido a la invasión bacteriana durante la fase septicémica. El aborto ocurre generalmente en la segunda mitad de la preñez (Kahn, 2007).

Después de penetrar por piel o mucosas el microorganismo tiene un periodo de incubación de 4-10 días en el cual se multiplica rápidamente y se disemina en ciertos órganos (hígado, riñón, pulmón, tracto reproductor y líquido cefalorraquídeo), luego migra y puede aislarse de la sangre periférica por varios días hasta que cesa la fiebre. Seis días después de iniciada la leptospiremia se observa anticuerpos en el torrente sanguíneo y la bacteria en orina (Rivera y Zuñiga, 2004).

En bovinos se caracteriza por provocar aborto, infertilidad, agalactia, nefritis, anemia hemolítica y mastitis entre otros signos (Gerrit y col., 2005).

B.FORMAS DE PRESENTACIÓN CLÍNICA

INFERTILIDAD

En vaquillonas de primer servicio puede esperarse una caída en el índice de preñez de hasta un 30% (Odriozola, 2001).

ABORTO

La mayoría de los abortos se presentan en el último tercio de la gestación y alrededor de las 6-12 semanas posteriores a la leptospiremia inicial. Con la entrada de la infección en un rodeo sin experiencia inmunitaria previa, podría esperarse hasta un 30% de abortos, mientras que en un rodeo donde la infección ha estado ya presente los abortos pueden afectar al 5% de las vacas (Odriozola, 2001).

NACIMIENTO DE TERNEROS DEBILES O PREMATUROS

Cuando la infección se produce al final de la gestación, en situaciones endémicas se puede esperar hasta un 5% de animales afectados. Los terneros infectados en el útero y que sobreviven a la infección, pueden desarrollar inmunidad y nacer con una infección preestablecida o se hacen inmunotolerantes en el útero, es decir, son negativos e incapaces de responder a la infección (Odriozola, 2001).

CAIDA DE LA PRODUCCIÓN LACTEA

Si la leptospira entra por primera vez en un rodeo, por encima del 50% de los animales pueden sufrir una caída aguda en la producción, ésta puede recuperarse a valores normales o permanecer deprimida por el resto de la lactancia.

Cuando la infección ocurre hacia el final de lactación puede producirse el secado prematuro. Los animales afectados pueden tener agalactia por 2 a 3 días, de éstos el 50% va a retornar a la producción previa y el 50% restante recuperará hasta el 90% de la producción original. Además puede esperarse hasta un 15% de animales afectados con mastitis (Odriozola, 2001); (Gerrit y col 2005).

MUERTE DE TERNEROS

La leptospirosis aguda se presenta mayormente en terneros, pero animales de todas las edades resultan afectados. Dentro de los 3 a 5 días de iniciada la infección los animales presentan alta temperatura, depresión, caída en el consumo de alimento, hemoglobinuria, ictericia y anemia (Odriozola, 2001); (Kahn, 2007).

C. RESPUESTA INMUNE

La inmunidad innata es la primera respuesta de un animal frente a un microorganismo extraño, mediante la cual se intenta eliminar la infección o contenerla hasta la aparición de una respuesta inmune más específica y eficaz, la inmunidad adaptativa. Los principales componentes de la inmunidad innata son las barreras físicas, químicas y biológicas, las células fagocitarias, ciertos linfocitos y células asesinas naturales o NK (Natural Killer) y factores solubles, que incluyen los componentes del complemento y las citoquinas que median la fagocitosis y la inflamación. La respuesta inmune innata es inespecífica, es decir, carece de memoria inmunológica y se desarrolla por mecanismos inespecíficos, incapaces de distinguir las diferencias antigénicas de los diferentes tipos de microorganismos Sin embargo, este mecanismo no resulta eficiente frente a las leptospiras (Doménech, 2008).

Se ha observado en estudios *in vitro* que mientras la leptospira saprófita (*L. biflexa*) muere en pocos minutos en presencia de suero normal humano (no inmune), las leptospiras patógenas son capaces de sobrevivir y resistir la acción lítica del sistema de complemento, especialmente si son virulentas. Los receptores TLR (del inglés, Toll-like receptors) son proteínas que reconocen patrones comunes en la superficie de diversos microorganismos y se expresan en diferentes tipos celulares, entre ellos, neutrófilos y macrófagos (Cedola, 2014).

El LPS (Lipopolisacárido) “clásico” de las enterobacterias (por ejemplo, *Escherichiacoli*) activa las células a través del receptor TLR4 para producir citoquinas pro-inflamatorias y respuesta a quimioquinas. Sin embargo, el LPS de las leptospiras posee un lípido A con una estructura diferente al de las enterobacterias. El lípido A es la porción del LPS que está anclada en la membrana bacteriana, y es el componente activo responsable de la actividad tóxica del LPS y de sus funciones. El LPS de las

leptospiras es reconocido por los heterodímeros TLR4/TLR2 en las células murinas, pero las células humanas no se activan a través del TLR4, sino a través de los heterodímeros TLR2/TLR1, posiblemente debido a la estructura inusual del Lípido A (Cedola, 2014).

Es importante destacar que el TLR4 es crucial para controlar la leptospirosis murina, ya que los ratones C3H/HeJ, que no expresan TLR4 (debido a una mutación espontánea) resultan susceptibles a la infección, mientras que el resto de las cepas de ratones presentan diferentes grados de resistencia (Cedola, 2014).

En muchos estudios *in vitro* se ha demostrado que la fagocitosis de las leptospiras por neutrófilos y macrófagos sólo es efectiva si el patógeno es primeramente opsonizado por anticuerpos IgG específicos, de lo contrario la fagocitosis es mínima o incluso inexistente. Por lo tanto, como generalmente las infecciones se producen en individuos no inmunes, la fagocitosis no es efectiva para eliminar las leptospiras. No obstante, las leptospiras (saprófitas en mayor medida que las patógenas) son susceptibles a los componentes de los gránulos primarios, el peróxido de hidrógeno y los péptidos catiónicos que son liberados por los neutrófilos bajo estimulación (Cedola, 2014).

Recientemente se descubrió que los neutrófilos pueden generar fibras o redes extracelulares llamadas neutrophil extracellular traps (NET), las cuales están compuestas de un esqueleto de ADN sobre el que se encuentran diversos componentes citoplásmicos –entre ellos diversas enzimas– y nucleares. Las NET son una barrera física que en muchos casos evita la diseminación de los microorganismos e incluso facilita su muerte al favorecer una alta concentración local de moléculas antimicrobianas. Por otro lado, su estructura fibrosa limita el daño al tejido donde se generan, al restringir el radio de acción de las moléculas que son liberadas por el neutrófilo (Yam-Puc, 2012).

Como las leptospiras son patógenos extracelulares, la respuesta inmune adquirida depende de la producción de anticuerpos. La infección por leptospiras produce una respuesta humoral con producción de inmunoglobulinas (Ig) IgM e IgG que son específicas de serovar (Cedola, 2014).

Si bien la producción de IgG es inconstante durante el transcurso de la enfermedad, la respuesta humoral puede ser detectada mediante el test de aglutinación microscópica o MAT a partir de los 5 a 7 días post-infección. El título llega

a su máximo en las semanas posteriores y permanece de meses a años, aunque puede verse afectado por el tratamiento (Cedola, 2014).

La prueba de MAT es el test serológico más importante y utilizado en el diagnóstico definitivo de la leptospirosis. Sin embargo, para ello se debe contar con una colección de cultivos de diferentes especies y serovares de leptospiras para testear la aglutinación de los sueros problema (Cedola, 2014).

En la leptospirosis, la mayoría de los anticuerpos específicos que se producen son contra el LPS leptospiral, el antígeno más destacado, aunque su potencial endotóxico es mucho menor comparado al LPS de las bacterias Gram-negativas. Otros componentes de la membrana también son antígenos importantes, como las lipoproteínas. Si bien la inmunidad mediada por la respuesta humoral (linfocitos B) es muy importante para conferir protección contra la leptospirosis, se conoce menos acerca de la inmunidad mediada por la respuesta celular (linfocitos T) (Cedola, 2014).

Los linfocitos B son muy importantes para la eliminación de las leptospiras del huésped, un mecanismo que depende de los receptores TLR2 y TLR4 en ratones, y esta respuesta está compartimentalizada. Mientras que en la circulación se produce IgM dependiente de TLR4, en el hígado se produce interferón gamma (IFN γ) dependiente de TLR2/4 (Cedola, 2014).

También se ha demostrado que las leptospiras activan los linfocitos T y las células renales parenquimales del riñón para producir IFN γ e iNOS (sintasa inducible de óxido nítrico). Inicialmente, esto genera una inflamación que es necesaria para atraer leucocitos y matar a las bacterias, pero se ha visto que las células B y T también participan en los procesos pro-inflamatorios que son independientes de los TLRs y que contribuyen al daño de los tejidos. Las leptospiras han desarrollado mecanismos de evasión de la respuesta inmune que le permiten llegar a los tejidos de órganos distantes como los pulmones, el hígado, el bazo y los riñones, y colonizarlos. Estos mecanismos incluyen la resistencia a la lisis por complemento y a la fagocitosis por células polimorfonucleares (neutrófilos) y macrófagos (Cedola, 2014).

D. LESIONES COMUNES DE LA PATOLOGÍA

ABORTO

La causa de aborto se debe a la leptospiremia y muerte fetal, en la mayoría de los casos es difícil el aislamiento de la leptospira, debido a los cambios de pH, O₂ y temperatura que la afectan. En el feto se observa ictericia, líquido sanguinolento en cavidades, hemorragia, autólisis y esplenomegalia. Los hallazgos histopatológicos son nefritis intersticial difusa y local, necrosis hepática centrolobulillar y en algunos casos lesiones vasculares en meninges y cerebro (Odriozola, 2001).

MUERTE DE TERNEROS

En la forma aguda los hallazgos constantes son la anemia, ictericia, hemoglobinuria y hemorragias en submucosas y subserosas. En el riñón se observan pequeños focos blanquecinos (Odriozola, 2001).

Pueden encontrarse úlceras y hemorragias en la mucosa del abomaso y si la hemoglobinuria es intensa se asocia a menudo con edema pulmonar y enfisema. El estudio histopatológico permite observar nefritis intersticial difusa, local y necrosis hepática centrolobulillar (Odriozola, 2001).

E. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del aborto depende de varios aspectos fundamentales:

- 1) La disponibilidad de una buena historia clínica.
- 2) Una adecuada recolección, conservación y envío de la muestra al laboratorio.
- 3) Una buena capacidad diagnóstica.

Si esto se cumple, alrededor del 45% de los casos de abortos pueden ser diagnosticados adecuadamente.

Las muestras que deben remitirse al laboratorio son: suero de la madre, placenta y feto abortado y muestras de suero de unas 5 vacas compañeras del rodeo

obtenidas al azar, y hasta muestras de alimento en caso de haberse empleado ingredientes mal conservados.

Debido a la etiología multifactorial del aborto es necesario hacer un examen sistemático del material recibido en el laboratorio que involucra la observación macroscópica del feto y placenta antes de hacer la necropsia en busca de malformaciones congénitas, presencia de placas de hongos, traumatismo, etc.

Usualmente no se observan lesiones macroscópicas en los tejidos fetales aunque la mayoría presenta abundante fluido en la cavidad torácica, abdominal y la cápsula renal.

Esporádicamente pueden observarse problemas en el corazón, presencia de quistes en el hígado, que sugieren lesiones de naturaleza congénita. En la placenta se debe observar las carúnculas y los espacios entre carúnculas.

En leptospirosis se pueden considerar tres fases en el diagnóstico (que pueden superponerse):

- ◆ Fase A: leptospiremia, o fase febril. Se pueden aislar microorganismos de sangre y órganos (hígado, bazo). Dura 7 a 10 días. Se puede aislar por cultivos directos o por inoculación (Odrizola, 2001).
- ◆ Fase B: después de 7 días aparecen anticuerpos específicos en sangre (reacción serológica) (Odrizola, 2001).
- ◆ Fase C: leptospiuria, de inmediato a la anterior. El aislamiento se realiza en la orina (Odrizola, 2001).

La técnica confirmatoria “*gold standard*” es el cultivo, aislamiento y tipificación de la cepa aislada (<http://ri.ues.edu.sv/1523/1/13100373.pdf>) (Rodriguez, 2013).

Serología:

Para la detección de anticuerpos específicos se necesitan 2 muestras pareadas con un intervalo de 10-15 días. Estas deben estar libres de contaminantes, no hemolizadas y llegar al laboratorio refrigeradas, en el menor tiempo posible.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

Los anticuerpos aglutinantes aparecen entre los 15-25 días y se mantienen por meses o años. En casos de *L. pomona* se pueden esperar títulos de 1:800 a 1:12.800, en caso del serovar Hardjo el título esperado es de 1:100 a 1:6.400. Cuando el título es bajo puede deberse a una infección inicial o a una enfermedad pasada.

Por eso la muestra debe ser doble, siempre el valor debe estar acompañado por datos sintomatológicos. En primer lugar la mayoría de las vacunas contra las leptospiras para uso en bovinos son pentavalentes.

Los bovinos vacunados recientemente por lo general presentan títulos para los 5 serovares contenidos en las vacunas, mientras que los bovinos infectados naturalmente que no han sido vacunados generalmente son seropositivos sólo para un sólo serovar.

La mayoría de los títulos por vacunación contra *L. serovar* Hardjo disminuyen a < 1:100 a los dos meses posteriores a la vacunación en vacunos no infectados. Por lo contrario, del 40 al 70 % de los vacunos con infecciones naturales de *L. serovar* Hardjo serán seropositivos en cualquier momento con títulos > 1:100, independientemente de su estado de vacunación.

Los títulos para *L. serovar* Hardjo generalmente no exceden 1:800 después de la vacunación, mientras que los títulos después de infecciones naturales agudas pueden alcanzar hasta 1:6.400 (Odrizola, 2001).

Según un estudio realizado en Colombia, los hallazgos de los modelos de regresión muestran la importancia del toro en el ciclo infeccioso y señalan la necesidad de realizar pruebas serológicas y un seguimiento continuo de los toros reproductores para verificar su estado sanitario y evitar la transmisión sexual de la enfermedad (Ochoa y col., 2000).

Los diferentes resultados que se producen en pruebas serológicas se debe a que probablemente no estemos frente a dos leptospiras sino a las coaglutininas acompañantes, puesto que en sus membranas las mismas comparten antígenos y proteínas.

La realidad podrá determinarse, en el caso de abortos o muertes, luego de una seroconversión en la segunda muestra. Si el problema tiene que ver con infertilidad en los animales, la interpretación se dificulta dado que no hay títulos altos y a veces no hay seroconversión (Aba, 2014).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

La especificidad de la MAT es buena; normalmente los anticuerpos frente a otras bacterias no dan reacción cruzada con *Leptospira spp.* de manera significativa. Sin embargo, existen reacciones serológicas cruzadas significativas entre serovares y serogrupos de *Leptospira spp.* y es probable que un animal infectado con un serovar tenga anticuerpos frente al serovar infectante que dé una reacción cruzada con otros serovares (normalmente a un nivel más bajo) en la MAT.

Por tanto, la serología no puede utilizarse para identificar definitivamente la identidad del serovar infectante en una infección individual o en un brote, y requiere el aislamiento del agente. Sin embargo, en áreas donde los serovares de *Leptospira spp.* presente han sido diagnosticados por aislamiento, el examen serológico de los animales infectados puede sugerir, el serovar infectante. Además, los animales que han sido vacunados contra la leptospirosis pueden tener anticuerpos frente a los serovares presentes en la vacuna utilizada (Feula, 2016).

Inoculación de animales de laboratorio:

- ◆ Extracción de orina lo más aséptica posible. Como la eliminación de leptospiras es intermitente se debe utilizar un diurético (furosemida) para lograr un "barrido" desde los túbulos renales (Odriozola, 2001).
- ◆ Inocular hámster (pos-destete de 50gr. de peso) intraperitonealmente (0,5ml) con la muestra y enviarlo al laboratorio dentro de los 5 días post inoculación (Odriozola, 2001).

Otras técnicas para demostrar leptospiras en la placenta y el feto son:

- Inmunofluorescencia, figura 4.
- Histopatología.
- PCR (reacción en cadena de la polimerasa)
- Inmunohistoquímica.

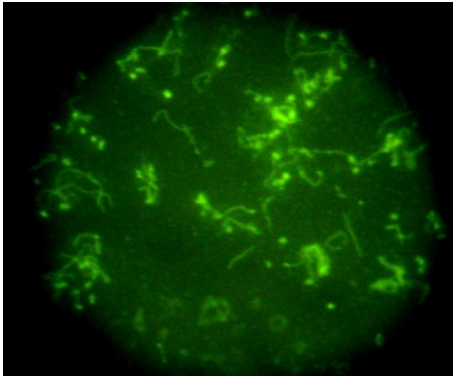


Figura 4. Leptospira IFD.
http://www.veterinaria.org/revistas/ventenfinf/vet_enf_inf_tripod/lepto/leptovb.htm

El diagnóstico de la infección del serovar Hardjo es más difícil y requiere una combinación de enfoques. La serología por sí sola a menudo no identifica animales infectados con el serovar Hardjo porque los excretores seronegativos son comunes en los rodeos de ganado infectados (<http://ri.ues.edu.sv/1523/1/13100373.pdf>) (Rodríguez, 2013).

La prueba de PCR puede identificar el serovar actuante y también la cepa. Sirve para tipificar e identificar puntualmente un aislamiento o una cepa de referencia, desde el punto de vista del agente (Aba, 2014).

F. CONTROL

- **Antibióticoterapia:** Los antibióticos indicados son penicilina, estreptomina y dihidroestreptomina. Este último antibiótico actúa sobre la leptospiremia y elimina el estado de portador (Alonso Andicoberry y col., 2001); (Gerrit y col., 2005).
- **Vacunas:** La solución a los problemas de los rodeos individuales consiste en la identificación del o los serotipos específicos, ya que las vacunas protegen contra los serotipos que están incluidos en ellas. Las bacterinas no protegen contra la infección renal y la iniciación del estado de portador; aunque desde el punto de vista clínico permanecen asintomáticos. El efecto protector de la vacuna produce: disminución de los abortos y mortandad de terneros (Blood y Henderson, 1986).

ZOONOSIS

La leptospirosis es considerada una enfermedad de tipo ocupacional conocida con el nombre de enfermedad de Weil. La bacteria puede ingresar al organismo a través de la piel o de membranas mucosas como la nasal o bucal, al contactar con deyecciones de ratas contaminadas con la bacteria.

Después de un período de incubación de días a semanas los infectados desarrollan la enfermedad. El diagnóstico puede confirmarse con test serológicos y los pacientes deben ser tratados posteriormente con antibióticos.

En algunos casos el problema se resuelve en semanas, aunque en casos muy agudos los pacientes desarrollan falla hepática, renal y algunas veces fallas cardíacas. A pesar del tratamiento, cerca del 20% de los pacientes que desarrollan la enfermedad mueren (Odrizola, 2001).

Hipótesis:

Hipótesis de trabajo: La prevalencia de leptospirosis en la zona de estudio aumentó significativamente durante los últimos 5 años asociada a condiciones climáticas (precipitaciones); evaluar serológicamente los rodeos nos permite determinar la situación epidemiológica habilitándonos a tomar medidas preventivas y determinar el serovar predominante en los rodeos pampeanos.

El objetivo general de este trabajo fue realizar un estudio retrospectivo de los fetos bovinos diagnosticados con leptospirosis en el Laboratorio Santa Rosa de la ciudad de Santa Rosa (La Pampa).

Los objetivos particulares fueron:

- asociar otras causas de aborto bovino.
- contribuir con la interpretación de los datos serológicos de un rodeo,
- aportar conocimiento a los veterinarios de la zona sobre el estado de la enfermedad.

III.-METODOLOGÍA

Para desarrollar este proyecto se trabajó con la información correspondiente a los registros de 319 fetos ingresados al Laboratorio Santa Rosa (Santa Rosa, La Pampa) en el período 2005 a 2015 inclusive, el material fue remitido por médicos veterinarios de la zona de estudio.

Necropsia: Los fetos fueron necropsiados por un veterinario, se registraron las lesiones macroscópicas, y se recolectaron muestras para histopatología, serología, bacteriología, virología y parasitología.

Histopatología: Se tomaron muestras de hígado, riñón, pulmón, corazón, glándula adrenal y cerebro, en formol al 10%, los cortes histológicos se colorearon con hematoxilina y eosina. Las muestras se procesaron por un especialista en patología veterinaria.

Bacteriología: Se extrajeron muestras de pulmón y líquido de abomaso, se colorearon con el método de Gram y se sembraron en placas de agar sangre, agar chocolate, agar brucella, agar sabraud y EMB.

Inmunofluorescencia directa: Se realizaron improntas de líquido de abomaso en portas de fluorescencia para determinar la presencia de *Campylobacter sp* utilizando el Conjugado-Campy Biotandil (Tandil, Argentina). A partir de las muestras de hígado, riñón, tiroides y pulmón, se utilizaron improntas para determinar la presencia de los virus de IBR (rinotraqueitis infecciosa bovina) Infectious Bovine Rinotracheitis Virus (VMRD, USA) y DVBV (virus de diarrea viral bovina) Bovine Viral Diarrhea Virus (VMRD, USA), para detectar la presencia de *Leptospira sp* se utilizó el conjugado de INTA Castelar (INTA Castelar, Argentina). Las muestras se observaron en un microscopio de fluorescencia Primo StarZeiss (Jena, Alemania).

Parásitología: Las muestras de contenido abomasal, se sembraron en un medio preparado en el laboratorio, compuesto por caldo de hígado, con el agregado de

peptona, sodio fosfato di básico, agar, suero equino y antibióticos: trifacilina, frademicina, estreptomocina, anfotericina, amikacina, (Laboratorio Santa Rosa SRL, Santa Rosa, La Pampa). Una vez inoculado, el medio se incubó en estufa a 37°C, con lecturas diarias durante 7 días.

Serología: Se tomaron muestras de suero fetal (o líquido de cavidades), madres y compañeras para las pruebas serológicas de brucelosis BPA (BPA Chemtest, Biochemiq, Argentina), FPA (Brucelosis Biotandil, Tandil, Argentina), IBR, BVD, Neospora (Hipra-CIVTEST-ELISA, España) y leptospirosis (MAT). Para la serología de leptospira los sueros se derivaron a INTA Castelar (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) donde se realizó la prueba de MAT. Los serovares estudiados fueron: BallumCastellonis, Canicola, Grippothphosa, Icterohemorrhagiae, Pomona, SejroeWolffi, Tarassovi y SejroeHardjo.

IV.- RESULTADOS

Durante los 11 años del período de estudio se procesaron un total de 319 fetos provenientes de establecimientos ganaderos de las provincias de: La Pampa (n=235), de el límite con Córdoba (n=6), límite con provincia de Bs. As (n=50) y sin determinar el origen (n=28).

Se arribó al diagnóstico etiológico en 154 fetos (48.27%), identificándose bacterias (n=71), virus (n=31) y parásitos (n=37), virus y bacterias a la vez (n=6), bacterias y parásitos (n=4), virus y parásitos (n=5).

Necropsia: Del total de fetos analizados se observaron lesiones macroscópicas, (ictericia, abundante líquido serosanguinolento en cavidades), compatibles con leptospirosis en 19 fetos, foto 1-2.



FOTO 1-2: Necropsia de fetos recibidos en el Laboratorio Santa Rosa S.R.L.

Histopatología: El análisis histopatológico informó nefritis intersticial linfocítica, degeneración y necrosis tubular, hepatitis linfocítica y necrosis hepática centrolobulillar, compatibles con leptospirosis en 16 fetos, lesiones compatibles con campilobacteriosis en 12 fetos, con brucelosis en 9 fetos, lesiones compatibles con neosporosis en 4 fetos, con IBR en 3 fetos y lesiones histopatológicas compatibles con BVD en 2 fetos.

Cultivo bacteriológico: Se aisló *Campylobacter sp.* en 30 fetos y *Brucella sp.* en 23 fetos.

Inmunofluorescencia directa: El análisis de IFD permitió diagnosticar 31 fetos positivos a leptospirosis, 11 fetos con IBR y 5 fetos con BVD.

Cultivo a trichomona: Dos fetos resultaron positivos a trichomonas.

Serología de feto: En el análisis serológico fetal, 13 fetos resultaron positivos a leptospirosis, 3 fetos a IBR, 1 feto a DVB, 10 fetos a brucelosis y 2 fetos a neosporosis.

Cuadro con resumen de resultados:

| Año | Lepto (IF) | Bruce (Cu) | IBR (IF) | BVD (IF) | Campy (Cu) | Tricho (Cu) | Neosp (Hi) |
|--------------|-------------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| 2005 | 11, 2(Se) | 5 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 2006 | 3(Hi) | 3 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| 2007 | 2 | 2 | 1 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| 2008 | 2, 1(Se) | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| 2009 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 |
| 2010 | 1(Hi) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2011 | 3 | 0 | 1 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| 2012 | 3, 2(Hi) | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 2013 | 5 | 1 | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| 2014 | 3, 1(Hi), 1(Se) | 2 | 0 | 0 | 4 | 0 | 1 |
| 2015 | 2 | 7 | 2 | 1 | 5 | 2 | 0 |
| TOTAL | 31, 7(Hi), 4(Se) | 23 | 11 | 5 | 30 | 2 | 4 |

Cuadro con los resultados de los fetos analizados en el período 2005-2015:

Lepto(IF): inmunofluorescencia directa positiva a leptospira; Bruce(Cu): cultivo positivo a brucelosis; IBR(IF): inmunofluorescencia directa positiva a IBR; BDV(IF): inmunofluorescencia directa positiva a BVD; Campy (Cu): cultivo bacteriológico positivo a campylobacteriosis; Tricho(Cu): cultivo parasitológico positivo a trichomoniosis; Neosp(Hi): histopatología positiva a neosporosis; Se: serología fetal.

Resumen con causas de aborto agrupadas por etiologías

| | BACTERIAS | VIRUS | PARASITOS |
|-------|-----------|-------|-----------|
| 2005 | 19 | 2 | 0 |
| 2006 | 7 | 1 | 1 |
| 2007 | 9 | 1 | 0 |
| 2008 | 5 | 4 | 0 |
| 2009 | 4 | 0 | 2 |
| 2010 | 1 | 0 | 0 |
| 2011 | 8 | 1 | 0 |
| 2012 | 8 | 3 | 0 |
| 2013 | 9 | 1 | 0 |
| 2014 | 11 | 0 | 1 |
| 2015 | 14 | 3 | 2 |
| TOTAL | 95 | 16 | 6 |

Serología de las madres y compañeras para leptospirosis:

Se tomaron al azar análisis serológicos de madres y compañeras de fetos abortados como ejemplos de interpretación en el resultado por la técnica de MAT.

1. En **2007** se realizó serología de la madre y 2 compañeras del lote. Se observó título de 1/3200 en serovar Pomona, al ser un título alto y observándose IFD positivo en el feto se podría inferir que sea un caso positivo a leptospirosis.
2. El mismo año se realizó la serología del feto (negativo), de la madre y 4 compañeras, dando título 1/200 para serovar Pomona (2 animales) y 1/400 (un animal). Se realizó seroconversión a los 32 días obteniendo 1/200 Wolffi (1 animal), 1/200 Hardjo (2 animales) y 1/400 (3 animales). En este caso es difícil establecer un diagnóstico, si bien el serovar Harjo se considera positivo con títulos bajos, lo recomendable sería ampliar el muestro y repetir el análisis.
3. En otro caso, se muestrearon 3 animales donde se obtuvieron títulos negativos en todos los serovares, se realizó seroconversión a los 25 días dando un título 1/200 en serovar Castellonis en un solo animal. Este muestreo se interpretó como negativo.

1. En **2008** se realizó serología de 6 compañeras del lote de la vaca abortada, se observó título 1/1600-1/800-1/400 al serovar Pomona y títulos menores en otros serovares. Si bien es imposible determinar el serovar actuante, podemos decir que hay anticuerpos presentes en los animales y aunque la IFD del feto es negativa el lote estuvo infectado con leptospirosis.
2. En otro estudio, se analizaron sueros de 5 compañeras de la madre abortada, dando 1/400 (un animal), 1/800 (un animal) a Wolffi y 1/200 (2 animales) al serovar Tarassovi. Como estos títulos no podían definir el diagnóstico se realizó seroconversión a los 24 días dando título 1/200 (un solo animal) al serovar Wolffi y 1/400 (un solo animal) al serovar Tarassovi. La seroconversión se interpretó como negativo a leptospirosis.
1. En **2009** se realizó serología; en un solo caso a 8 compañeras del lote observando títulos de 1/200 a 1/800 en el serovar Wolffi, si bien podríamos decir que hay títulos de anticuerpos, en este caso, es imposible decir que el aborto se debe a leptospira ya que son títulos relativamente bajos, no se realizó seroconversión y **el feto dio IFD negativo.**
1. En **2010**, se realizó un estudio serológico donde se analizan 5 sueros, observándose títulos 1/200 en los serovar Castellonis y Wolffi, **el feto fue negativo a IFD**, en este caso, los títulos son muy bajos como para interpretar un diagnóstico positivo, sería recomendable realizar seroconversión.
En **2011**, se realizaron 4 estudios serológicos correspondiente a madres y compañeras de los fetos abortados:
 1. La madre abortada dio un título 1/200 para serovar Hardjo y Pomona, 1/400 Wolffi y el **feto negativo a IFD**. En este caso con un solo animal es difícil llegar a un diagnóstico, se requiere un muestreo más amplio y seroconversión.
 2. La madre abortada con un título 1/800 al serovar Wolffi y 1/200 al serovar Hardjo, **el feto fue positivos a IFD**, en este caso, si bien el feto tiene un diagnóstico positivo, la serología es poco representativa del lote como para dar un diagnóstico serológico positivo.
 3. Seis compañeras de la madre abortada fueron analizadas, todas con títulos 1/200-1/400-1/800-1/1600 al serovar Wolffi y 4 con títulos 1/400-1/800 en el serovar Hardjo. En este caso al haber títulos más altos (1/800 para Hardjo y 1/1600 Wolffi)

y ser el **feto positivo a IFD** podemos interpretar un diagnóstico positivo a leptospirosis para ese rodeo.

4. La madre de un feto abortado con título 1/200 Grippothphosa y en Pomona, se le realizó seroconversión a los 23 días obteniendo todos títulos negativos. El resultado para ese animal es negativo, pero el muestreo es muy escaso para determinar un diagnóstico de rodeo.

En **2012** se realizaron 2 estudios serológicos relacionados a los fetos:

1. Dos vacas con títulos 1/800-1/1600 en el serovar Hardjo, 1/800 en el serovar Wolffi y 1/200 y 1/400 para Grippothphosa y el **feto negativo a IFD**. En este caso, aunque con pocos animales muestreados, los títulos altos, sobre todo en serovar Hardjo indicarían la presencia de anticuerpos de leptospira, por lo que podríamos dar un diagnóstico positivo.
2. Once compañeras de la madre abortada fueron analizadas, 10 con título 1/200 al serovar Castellonis, 1 con título 1/800 al serovar Pomona, 2 con título 1/200 al serovar Wolffi y 2 con título 1/200 y 1/400 a Hardjo, el **feto positivo a IFD**. En este caso, si bien podemos decir que el feto fue positivo a leptospira, se debería hacer seroconversión para establecer la positividad del lote/rodeo, ya que los títulos son relativamente bajos en varios serovares, lo que podría ser atribuido a una vacunación o a un inicio de infección, lo que se confirmaría en un estudio pareado.

En **2013** se realizaron 3 análisis serológicos:

1. Se analizaron 7 vacas, todas con títulos 1/400- 1/800-1/1600-1/3200-1/6400 en serovar Pomona, 5 con título 1/200-1/400 en serovar Wolffi y 5 con título 1/200 y 1/400 en serovar Hardjo, en este caso el **feto positivo a IFD**, claramente podemos afirmar que el diagnóstico es positivo a leptospirosis.
2. En otro caso, se analizaron 3 animales, todos con título 1/800 y 1/3200 para el serovar Pomona, uno con título 1/1600 Wolffi, 2 con título 1/200 y 1/1600 para el serovar Icterohemorrhagiae. La madre dio título 1/3200 para serovar Pomona y 1/1600 para el serovar Icterohemorrhagiae. En este caso, el **feto negativo a IFD**. Podemos decir que la madre y compañeras tenían títulos altos por lo que sería un diagnóstico positivo del rodeo.
3. Se analizaron 5 animales dando títulos 1/1600 y 1/200 para Pomona, 1/400 serovar Castellonis y 1/200 serovar Hardjo, el **feto fue negativo a IFD**; en este

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
 FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
 ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

caso, sería recomendable hacer seroconversión ya que con estos datos no es posible llegar a un diagnóstico certero.

1. En **2014** se analizó serológicamente un animal relacionado a un **feto negativo a IFD** con un título 1/200 al serovar Pomona. Es imposible determinar con un solo animal el diagnóstico.

1. En **2015** se analizó un caso, con 10 muestras, dando, 2 vacas título 1/200 al serovar Wolffi, y 8 vacas 1/200 al serovar Hardjo, el **feto negativo a IFD**, en este caso, se recomienda realizar seroconversión.

CÁLCULO DEL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN (ver tablas N°1-2 en anexos):

La correlación entre fetos positivos a leptospirosis y precipitaciones es de -0,12

CALCULOS DE PREVALENCIA (ver tablas N°2-3 en anexos):

| | <u>Prevalencia de la enfermedad</u> | <u>Odds Ratio</u> |
|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------|
| LEPTOSPIROSIS EN FETOS DE LA PAMPA | 0.13 (13%) | 1/0.15= 6.66 |

| | <u>Prevalencia de enfermedad</u> |
|--|----------------------------------|
| LEPTOSPIROSIS Y OTRAS CAUSAS DE ABORTO | 0.16 (16%) |

El 13% de los fetos bovinos abortados en La Pampa padecieron leptospirosis entre 2005 y 2015, y cada 6.66 fetos abortados, 1 (uno) ha sido por leptospirosis. (Ver tabla 2).

Teniendo en cuenta los fetos a los cuales se le diagnosticó leptospira y alguna otra enfermedad abortiva podemos decir que el 16% de los fetos abortados entre el 2005 y 2015 por leptospirosis padecieron otro agente causal de aborto (neospora, brucella, campylobacter). (Ver tabla 2)

| | CASTELLO- NIS | POMONA | CANICO- LA | GRIP- POTHPHOSA | WOLFFI | ICTEROHAE- MORRHAGIAE | TARASSOVI | HARDJO |
|-------------|------------------|--------|---------------|--------------------|--------|--------------------------|-----------|--------|
| Prevalencia | | | | | | | | |
| Título (%) | 18.84 | 27.53 | | 5.79 | 49.27 | 7.24 | 1.44 | 44.92 |

Los serovar más frecuentes en madres y compañeras de fetos abortados según técnica de MAT pertenecen aWolffi, Hardjo, Pomona y Castelloni, siendo Hardjo el serovar que manifiesta títulos más bajos que el resto de los serovares. Pomona es el serovar con mayor frecuencia de títulos elevados.

V.- DISCUSIÓN

Odriozola, (2001) menciona al agua como absolutamente esencial para la sobrevivencia de las leptospiras, por lo tanto es de esperarse un aumento de su presentación en épocas de abundantes lluvias. En este trabajo queda expresado que no existe un aumento de casos de leptospirosis en épocas de lluvias ya que el coeficiente de correlación es negativo.

Según Aba, (2014) desde el punto de vista serológico y en base a la técnica de MAT (test de aglutinación microscópica), la serovariedad con mayor frecuencia de positividad en Argentina es Pomona.

Luego seguirían en orden: Wolffi, Ballum y Hardjo, pero en estos casos debemos considerar la presencia de coaglutininas, razón por la cual se hace imprescindible la toma de una segunda muestra a los 10 o 15 días de la primera, para ver si se produce una seroconversión que permita definir realmente cual es la serovariedad presente.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

Por otro lado y desde el punto de vista de la técnica diagnóstica directa (el aislamiento en medio de cultivos especiales, en Argentina se ha aislado el serovar Pomona en casos clínicos de bovinos. A nivel de frigoríficos, también hace un tiempo se halló Hardjo, pero no se pudo corroborar en casos clínicos locales (Aba, 2014).

En este estudio a diferencia de lo mencionado por Aba 2014, Wolffi, y Hardjo son los serovares más encontrados mediante la técnica MAT.

Para Rivera y Zuniga, (2004) los resultados serológicos en casos de abortos deben analizarse con sumo cuidado pues dependerá de la prevalencia de la infección en una determinada área y la permanencia de los anticuerpos en el animal.

Sin embargo en caso del aborto por leptospira en un animal no vacunado es posible encontrar títulos altos al momento del aborto, ayudando a interpretar la causa del aborto.

Como se analizó en este trabajo mediante varios estudios serológicos de madres y compañeras de fetos, coincidimos con el autor, en que los resultados deben analizarse con sumo cuidado y en el contexto del rodeo al cual pertenecen. Pero como indican estos autores, si el título de anticuerpo es alto en uno o varios animales que no han sido vacunados, en ese caso, sí se puede interpretar como un diagnóstico positivo.

Para Ochoa y col., (2000) la seroprevalencia para Hardjo en las vacas en producción fue de 30,5%, lo que constituye un riesgo para la ganadería de leche por la asociación encontrada entre este serotipo y el número de bovinos infértiles. Este serotipo se considera causa importante de problemas de infertilidad en el ganado vacuno a nivel mundial.

Según este trabajo, la prevalencia de Wolffi y Hardjo en los rodeos de La Pampa es alta, para el caso de Hardjo además de ser una causa importante de aborto este serovar produce infertilidad, lo cual a veces es más difícil de ver por el productor generando una importante pérdida económica.

VI.-CONCLUSIONES

Luego de abordar la bibliografía y de recopilar datos de Laboratorio Santa Rosa se puede concluir que en la Provincia de La Pampa, no hay una relación directa entre las precipitaciones y la ocurrencia de casos de leptospirosis. Pero si existe una alta proporción de fetos positivos.

Se pudo determinar que las serovariedades de mayor prevalencia según la técnica de MAT correspondieron a los serovares Wolffi y Hardjo (aunque no se realizó aislamiento en cultivo).

La mayoría de los fetos abortados solo presentaron resultados positivos a leptospirosis como único agente.

En cuanto al diagnóstico serológico, es importante realizar 2 estudios separados por 15-20 días (seroconversión) y del 10% del rodeo, ya que de lo contrario en muchos casos es imposible definir el diagnóstico, salvo que los títulos de anticuerpos sean realmente elevados como para definir el diagnóstico.

Aún dando el feto positivo a la IFD, la madre o compañeras pueden tener títulos bajos ya que depende del momento de infección.

Es importante resaltar, que cada caso debe ser analizado individualmente y bajo el contexto propio del rodeo en cuestión ya que hay varias variables como vacunación, cantidad de fetos abortados, animales sangrados (abortados o no) que pueden ayudar a definir el diagnóstico.

Como última apreciación se puede considerar que en el 2016, se diagnosticó una alta proporción de fetos con leptospirosis (9 de 57 fetos analizados), por lo que se debería recomendar a los veterinarios de la zona realizar estudios serológicos de los rodeos para evitar pérdidas económicas a causa de abortos indicando como medida preventiva, la vacunación en aquellos casos donde la leptospirosis es un problema.

VII.- BIBLIOGRAFÍA

- 1- Alonso Andicoberry C, García-Peña FJ, Ortega-Mora LM. Epidemiología diagnóstico y control de la leptospira bovina 2001. Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Dpto. de Bacteriología, Laboratorio Central de Veterinaria de Algete. Madrid.
- 2- Aba L. Leptospirosis en bovinos en Argentina, los aislamientos de los casos clínicos corresponden al serovar Pomona. Periódico Motivar. 2014. N° 142.
- 3-Ben Adler. Leptospira and Leptospirosis. 2015 Vol 387 – 288 páginas - Editorial: Springer.
- 4-Blood D; Henderson J.- "Medicina Veterinaria".- 6ta. Edición.- México.- Editorial Interamericana, S.A. 1986; 740-750.
- 5-Brihuega B. Laboratorio de leptospirosis, Instituto de Patobiología. INTA Castelar http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet_inf_tripod/lepto/leptovb.htm.
- 6-Cedola. M.T. Estudio de mecanismos de la inmunidad innata en la patogénesis de la Leptospirosis. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencia Exactas, departamento de Ciencia Biológicas, Universidad Nacional de La Plata. 2014.
- 7-Doménech A, Gibello A, Collado V.M, Porrás R, Blanco M. El sistema inmune innato II. La primera respuesta frente a la infección. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias 2008. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense, 28040 Madrid – España.
- 8-Erreis C, Albarracin F. Prevalencia de Leptospirosis en el ganado bovino en la Hoya de Loja. Universidad Nacional de Loja, area agropecuaria y de recursos naturales renovables. 2011. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Loja, Ecuador. 105 páginas
- 9-Feula P. Descripción de leptospirosis en rodeos de cría y discusión de un caso sospechoso de leptospirosis. Tesina de grado. Facultad de Veterinaria. Tandil. 2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

- 10- Fouts DE, Matthias MA, Adhikarla H, Adler B, Amorim-Santos L, Berg DE, Bulach D, Buschiazzi A, Chang YF, Galloway RL, Haake DA, et al. What Makes a Bacterial Species Pathogenic :Comparative Genomic Analysis of the Genus Leptospira. PLoS Negl Trop Dis. 2016;10:e0004403. doi: 10.1371/journal.pntd.0004403
- 11- Gerrit Hans-Dieter, Matthaeus. Enfermedades de los órganos urinarios. Medicina Interna y Cirugía del Bovino. Editorial Intermédica, 4º edición. Buenos Aires, Argentina. 2005. vol.2. p.643-645.
- 12- Kahn CM. Leptospirosis. Trastornos generalizados. En Manual Merck de veterinaria. 6º edición. Barcelona. España, 2007. Tomo 1. p. 513-515
- 13- Loffler SG, Pavan ME, Vanasco B, Samartino L, Suarez O, Auteri C, Romero G, Brihuega B. Genotypes of pathogenic Leptospira spp isolated from rodents in Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014.109(2):163-7.
- 14- Moral M y col. Dirección de Epidemiología, Ministerio Salud de la Nación. Enfermedades infecciosas. Leptospirosis. Guia para el equipo de salud. 2014. pag 5
- 15- Morrell E. Caracterización diagnóstica de las causas infecciosas del aborto bovino. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata. 2010
- 16- Ochoa J, Sánchez, A. Ruiz. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. 2000. p 325 – 331.
- 17- Odriozola E. Grupo de Sanidad Animal, Leptospirosis, Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. INTA. 2001. www.produccion-animal.com.ar.
- 18- Rivera H G y Zúñiga. A. B. Etiología del aborto bovino. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. 2004. www.produccion-animal.com.ar.
- 19- Rodríguez Sánchez. Leptospirosis bovina, diagnóstico, tratamiento y control CEDIVEP S.R.L. 2013.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO

20- Stanchi N.- Leptospiras. Microbiología Veterinaria. Argentina, Editorial Intermédica. 2010. p 320- 325.

21- Yam-Puc J.C, García-Marín L y Sánchez-Torres L.E, Trampas extracelulares de neutrófilos (NET), consecuencia de un suicidio celular. Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F.; Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. Gaceta Médica de México. 2012.

22- <http://ri.ues.edu.sv/1523/1/13100373.pdf>

23- <http://aplicaciones-policia.lapampa.gov.ar/lluvias/lluvias.htm>

24-

http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/1588/Documento_completo_en_baja_resoluci%C3%B3n.pdf?sequence=25

VIII.- ANEXO

Tabla N°1. REGISTROS DE LLUVIA ANUALES EN SANTA ROSA (PROVINCIA DE LA PAMPA)

| AÑO | PRECIPITACIONES (mm) |
|------|----------------------|
| 2005 | 457,7 |
| 2006 | 540,1 |
| 2007 | 670,6 |
| 2008 | 560,5 |
| 2009 | 392,8 |
| 2010 | 712,5 |
| 2011 | 708 |
| 2012 | 858,1 |
| 2013 | 532,9 |
| 2014 | 918,3 |
| 2015 | 663,25 |

Tabla N°2. CASOS POSITIVOS A LEPTOSPIRA Y OTRAS CAUSAS DE ABORTO

| AÑO | CASOS POSITIVOS | SEROLOGIA FETO | HISOPATOLOGIA | IFD | OTRAS CAUSA ABORTO |
|------|-----------------|----------------|---------------|-----|---|
| 2005 | 13 | 2 | | 11 | 5 (Neospora 1, Brucella 3, Campylobacter 1) |
| 2006 | 3 | | 3 | | |
| 2007 | 2 | | | 2 | 1(Neospora1) |
| 2008 | 3 | 1 | | 2 | |

| | | | | | |
|-------|----|---|---|----|---------------------|
| 2009 | 0 | | | | |
| 2010 | 1 | | 1 | | |
| 2011 | 3 | | | 3 | |
| 2012 | 5 | | 2 | 3 | |
| 2013 | 5 | | | 5 | |
| 2014 | 5 | 1 | 1 | 3 | 1 (Campylobacter 1) |
| 2015 | 2 | | | 2 | |
| TOTAL | 42 | 4 | 7 | 31 | |

Tabla N°3. SEROLOGIA DE MADRES Y COMPAÑERAS DE FETOS POSITIVOS A LEPTOSPIRA

| TITULO | CASTELLONIS | POMONA | CANICOLA | GRIPPOTHP- HOSA | WOLFFI | ICTEROHAE- MORRHAGIAE | TARASSO- VI | HARDJO |
|----------|-------------|--------|----------|--------------------|--------|--------------------------|----------------|--------|
| NEGATIVO | 56 | 50 | 69 | 65 | 35 | 64 | 68 | 38 |
| 1/200 | 13 | 2 | | 2 | 16 | 4 | 1 | 19 |
| 1/400 | | 3 | | 2 | 9 | | | 8 |
| 1/800 | | 5 | | | 7 | | | 3 |
| 1/1600 | | 5 | | | 2 | 1 | | 1 |
| 1/3200 | | 3 | | | | | | |
| 1/6400 | | 1 | | | | | | |