

## UTILIDAD DEL SERODIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN EQUINOS APARENTEMENTE SANOS

SCHMELING, M. F.<sup>1</sup>; ARN, E.<sup>2</sup>; DE MARCO, P. L.<sup>3</sup> & VANASCO, N. B.<sup>1,4</sup>

### RESUMEN

La mayoría de las infecciones por leptospiras en equinos son inaparentes no se reconoce la fase aguda febril sino la secuela de la enfermedad, la uveítis recurrente, pudiendo ésta conducir a la ceguera. El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad del serodiagnóstico de leptospirosis en equinos aparentemente sanos. A cada uno de los 61 animales incluidos en el estudio se les realizó microaglutinación (MAT), oftalmoscopia y completó una ficha clínico-epidemiológica. La seroprevalencia hallada fue del 62,3% (38/61). El serogrupo más reaccionante y con mayores títulos fue Pomona seguido de Sejroe e Icterohaemorrhagiae. Equinos con  $\geq 4$  años presentaron prevalencias de infección superiores que aquellos con  $< 4$  años ( $p=0,0064$ ). La seropositividad fue mayor en animales con lesiones oculares que en aquellos sin lesiones ( $p=0,046$ ). La serología, además de ser útil para conocer la prevalencia de infección, podría emplearse para detectar precozmente enfermedad ocular crónica en equinos aparentemente sanos.

*Palabras clave:* leptospirosis, serodiagnóstico, equinos, uveítis.

### SUMMARY

#### Leptospiral serodiagnosis Utility in apparently healthy horses

Most leptospiral infections in horses are unapparent, causing chronic illness and recurrent uveitis rather than the acute illness and fever. The objective of this study was to assess the usefulness of leptospiral serodiagnosis in apparently healthy horses. Serum samples from 61 animals were examined by means of microagglutination test (MAT), ophthalmoscopy and clinical-epidemiological history. The seroprevalence obtained was 62,3% (38/61). Pomona was the most reacting serogroup followed by Sejroe and Icterohaemorrhagiae. Horses  $\geq 4$  years old had a higher serological prevalence than horses  $< 4$  years ( $p=0,0064$ ). Seropositivity was higher in animals showing ocular lesions than in horse with no lesions ( $p=0,046$ ). Further research is needed to assess the usefulness of serology to predict the blindness.

*Key words:* leptospirosis, serodiagnosis, equine, uveitis.

---

1-Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) "Dr. Emilio Coni". Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos G. Malbrán". Blas Parera 8260, Santa Fe.

3-Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL), Esperanza, Santa Fe.

4 -Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL), Santa Fe, Santa Fe.

Manuscrito recibido el 22 de septiembre de 2009 y aceptado para su publicación el 18 de noviembre de 2009.

## INTRODUCCION

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial (Acha & Szyfres, 1983). Su ocurrencia se ve favorecida por las condiciones ambientales en regiones de clima tropical o sub-tropical donde la elevada temperatura y los períodos del año con altos índices pluviométricos posibilitan la aparición de brotes epidémicos de carácter estacional (WHO, 2003; Heath & Johnson, 1994). Es una enfermedad re-emergente, que afecta tanto a los animales salvajes y domésticos como al hombre (Levett, 2001).

La leptospirosis es producida por espiroquetas del género *Leptospira*. La clasificación taxonómica actual se basa en las características genómicas de las leptospiras pero, por razones clínicas y epidemiológicas, se sigue utilizando la antigua clasificación basada en sus similitudes aglutinogénicas. Según esta última, en el género *Leptospira* se distinguen dos especies, *L. interrogans* (patógena) y *L. biflexa* (no patógena). Las leptospiras de cada especie se agrupan en serogrupos y el taxón básico de la clasificación es el serovar (Levett, 2001).

Es una infección que afecta más de 160 especies de animales salvajes y domésticos, que constituyen el reservorio y la posible fuente de infección para el hombre. Las especies más afectadas son los roedores y animales domésticos especialmente el perro, el ganado bovino, equino y porcino (Acha & Szyfres, 1983).

En equinos, la leptospirosis se manifiesta inicialmente con signos inespecíficos como fiebre, anorexia, decaimiento y debilidad muscular, que generalmente pasan desapercibidos, y en algunos casos pueden presentarse además ictericia y petequias en las mucosas. Ocasionalmente, puede producir abortos o nacimientos prematuros (Bernard *et al.*, 1991; Donahue *et al.*, 1993; Williams *et*

*al.*, 1994).

La leptospirosis y particularmente el serovar Pomona ha sido ampliamente citado como causa de uveítis recurrente u oftalmia periódica en el equino (Nick *et al.*, 2000). La uveítis recurrente del caballo es una enfermedad autoinmune órgano-específica, la cual cursaría mediante mecanismos de hipersensibilidad tipo II (Tizard, 1987; Halliwell, 1985). Los mecanismos de inducción de enfermedad autoinmune están basados en el mimetismo molecular entre leptospira, córnea y cristalino equino. Si bien las recidivas ocurren a intervalos irregulares de tiempo se presentan cada vez con mayor frecuencia y el daño tisular va aumentando con la repetición de los ataques (Parma, 1999). La uveítis ocurre meses o años luego de la infección pudiendo ser unilateral o bilateral (Nick, 2000). En la fase aguda de la infección pueden observarse fotofobia, lagrimeo y edema de la conjuntiva ocular. Este proceso lleva a una alteración de la composición del humor acuoso dificultando la nutrición de las estructuras oculares dejando secuelas tales como atrofia de iris, sinequias o adherencias en la pupila, entre iris y cristalino o entre el iris y córnea, dificultándose el drenaje de humor acuoso, opacidad de la cornea con disminución de agudeza visual, que llevan a la ceguera (Parma, 1999)

El diagnóstico de leptospirosis se basa generalmente en la detección de anticuerpos específicos por medio de pruebas serológicas, siendo la Aglutinación Microscópica con antígenos vivos (MAT) la técnica de referencia internacional para la confirmación de la enfermedad (Faine, 1982; WHO-ILS, 2003). Las técnicas serológicas, son las pruebas de laboratorio más utilizadas en leptospirosis, tanto en el diagnóstico como en la realización de estudios epidemiológicos, sin embargo, la interpretación de la serología es dificultosa, más aún si los

animales aún no presentan signos evidentes de la enfermedad.

El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad del serodiagnóstico en equinos aparentemente sanos.

## MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 61 equinos, pertenecientes al Liceo Militar "Gral. Belgrano," ubicado en la localidad de Recreo a quince kilómetros de la ciudad de Santa Fe. Ninguno de los animales presentaba signos de leptospirosis aguda al momento del estudio ni habían sido vacunados previamente. A cada animal se le obtuvo una muestra de sangre para los estudios serológicos y se le completó una ficha clínico-epidemiológica registrando: identificación del animal, sexo, edad, antecedentes de leptospirosis clínicos y/o de laboratorio y factores de riesgo epidemiológicos (actividad deportiva, contacto con otros animales y periodicidad de salidas fuera del predio del liceo). Luego a cada uno de ellos se les realizó estudio interior del ojo mediante oftalmoscopia directa a fin de medir las lesiones. La observación ocular se efectuó en un lugar oscuro y sin utilización de midriáticos, con un oftalmoscopio de marca RIESTER, de origen germano. Para el examen de pupila, cornea e iris, se utilizaron +15 a +20 dioptrías a una distancia de 60 cm; +8 y 30 cm para el cristalino y -3 a -5 y una distancia de 2,5 a 10 cm para el fondo de ojo.

La técnica utilizada para la detección de anticuerpos antileptospiras fue la MAT (Faine, 1982; WHO-ILS, 2003). Se emplearon como antígenos 8 serovares representativos de 7 serogrupos de *L. interrogans (sensu lato)*: Castellonis, Canicola, Grippotyphosa, Copenhageni, Pomona, Tarassovi, Sejroe (Hardjo y Wolffi). Para los sueros se utilizó

la dilución de corte de 1:100 recomendada por la AAVLD (1998). Se consideró serogrupo presuntivo infectante al de mayor título a la MAT. Para el análisis de asociaciones estadísticas se empleó el chi-cuadrado con la corrección de Yates, con un nivel de significancia del 95%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 61 muestras de suero estudiadas resultaron 38 positivas (62,3%). De las muestras positivas, 17 (44,7%) presentaron títulos  $\geq$  1:200 y 21 (55,3%) títulos de 1:100 con coaglutinación a 2 o más serovares. El serogrupo más reaccionante y con mayores títulos (1:800) fue Pomona (n=12) seguido de 1:400 para Sejroe, serovar Hardjo, (n= 3) y 1:200 para Icterohaemorrhagiae (n=1). Una muestra presentó coaglutinación a un título de 1:400 frente a Canicola e Icterohaemorrhagiae (Cuadro 1).

En nuestro país ya desde el año 1945 hay estudios que obtienen un 61% de serología positiva en los equinos estudiados predominando el serovar Pomona (Cacchione *et al.*, 1996). En estudios realizados desde 1959 a 1979, en 1.805 equinos provenientes de todo el país hallaron un 55% de seropositividad y prevaleciendo también el serovar Pomona, siendo la seroprevalencia hallada en la provincia de Santa Fe del 63,8% (Cacchione, 1980). Más recientemente, el informe presentado sobre leptospirosis animal en Argentina, sobre un total de 828 muestras de equinos, el 73% fue positivo y los serogrupos más hallados por orden de frecuencia fueron: Pomona, Icterohaemorrhagiae y Tarassovi (AVLDL, 2002). Por lo tanto, la prevalencia serológica hallada en este estudio (62,3%) es totalmente coincidente con los resultados hallados en estudios previos realizados en nuestro país desde 1945 y también el

Cuadro 1: Serogrupos reaccionantes y títulos hallados por Microaglutinación (MAT) en los 38 equinos seropositivos (Santa Fe, Argentina).

Serogrupos	Muestras reactivas (n=38)	Porcentajes	Título Máximo
Pomona	12	31,6%	1/800
Sejroe	3	7,9%	1/400
Icterohaemorrhagiae	1	2,6%	1/200
Coaglutinación Icterohaemorrhagiae-Canicola	1	2,6%	1/400
Coaglutinación (a < títulos)	21	55,3%	1/100

serogrupo o serovar más reaccionante que fue Pomona.

La prevalencia hallada en equinos con  $\geq 4$  años ( $n = 56$ ) fue significativamente superior ( $p=0,0064$ ) que la hallada en animales menores de 4 años ( $n = 5$ ).

Al examen oftalmológico resultaron 14 (23,1%) con algún tipo de lesión, 39 (63,9%) sin lesiones y 8 (13,1%) no pudieron estudiarse. Una alta proporción de animales seropositivos, no presentaban lesiones oculares (63,9%), posiblemente debido a la exposición a diferentes dosis, cepas y rutas de infección (Sillerud *et al.*, 1987); o simplemente por hallarse en el período entre la fase aguda febril y la uveítis. Sería conveniente realizar el seguimiento serológico y oftalmológico de estos caballos y tomar muestras pareadas con intervalos de tiempo de al menos diez días para una mejor interpretación de los resultados.

Las proporciones de positividad entre los animales con lesiones y sin lesiones

fueron de 92,9% (13/14) y 59,0% (23/39) respectivamente, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,046$ ). Las oftalmías periódicas del equino pueden ser producidas por otras causas como parásitos, neoplasias, traumas u otros agentes infecciosos (Nick, 2000). Sin embargo, la asociación entre seropositividad y presencia de lesiones oculares podrían indicar que la mayoría de estas lesiones podrían ser debidas a leptos-pirosis. Y por otro lado la alta proporción de animales seropositivos que no mostraron lesiones podría predecir posibles patologías oculares en el futuro.

No se halló diferencia estadísticamente significativa de seropositividad según sexo ni raza; tampoco se obtuvieron diferencias significativas ( $p=0,45$ ) de reactividad entre animales que salían para efectuar viajes, con mayores posibilidades de contactarse con otras fuentes de infección y los que permanecían dentro del área del liceo.

## CONCLUSION

La serología, además de ser una herramienta para conocer la prevalencia de infección transversal en equinos, podría ser de gran utilidad para detectar, de forma más precoz, la enfermedad ocular crónica en equinos aparentemente sanos. De este modo, se podrían seleccionar animales seropositivos y realizarles exámenes oculares periódicos, para instaurar a tiempo, el tratamiento adecuado. Sin embargo, estudios más profundos son necesarios para evaluar la utilidad de la serología para predecir el riesgo de ceguera.

## BIBLIOGRAFIA

- ACHA, P. & SZYFRES, B.** 1983. Leptospirosis. En: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. Publicación Científica N° 503. Washington DC. pp. 112.
- AAVLD (Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico)** 1998. XIIa Reunión Científico Técnica. Mar del Plata. pp. 116.
- AAVLD (Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico)** 2002. Informe sobre Leptospirosis en la República Argentina. Comisión Científica sobre leptospirosis. Serie Enfermedades Transmisibles. Ed. Fundación Mundo Sano. pp. 36.
- BERNARD, V. W.; BOLIN, C.; RIDDLE, T.; DURANDO, M.; SMITH, B. J; TRAMONTINI, R R.** 1991. Leptospiral abortion and leptospiruria in horses from the same farm. J. Vet. Diagn. Invest. 3 (2):148-151.
- CACCHIONE, R; CASCELLI, E. & SARAVI, M.** 1980. Difusión e importancia de Leptospirosis en animales y humanas en Argentina. Rev. Med. Vet. 61: 236-246.
- CACHIONE, R.; CASCELLI, E.; SARAVI, M. & MARTINEZ, E.** 1996. Estudio serológico y epizootológico en animales del ejército Argentino. Revista Militar de Veterinaria 23 (86): 95-98.
- DONAHUE, J. M.; SMITH, B. J. & REDMON, K. J.** 1993. Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 202(8): 1285-286.
- FAINE, S.** 1982. Guidelines for the control of leptospirosis. World Health Organization offset Publication 67, Geneva, Italy. pp. 161.
- HALLIWELL, R. E.; BRIM, T. A.; HINES, M. T.; WOLF, D. & WHITE, F. H.** 1985. Studies on equine recurrent uveitis. II: The role of infection with *Leptospira interrogans* serovar Pomona. Current Eye Res. 4 (10): 1033-1040.
- HEATH, S. E. & JOHNSON, R.** 1994. Leptospirosis. JAVMA 205: 1518-1523.
- LEVETT, P. N.** 2001. Leptospirosis. Rev. Clin. Microbiol. 14 (2): 296-326.
- NICK, A.; FAVER, R.; CRAWFORD, M.; RAN-CE, B.; MADIGAN, J. E. & WILLITS N.** 2000. Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous Humor of Horses with Naturally Acquired Recurrent Uveitis. J. Clin. Microbiol. 38 (7): 2731-2733.
- PARMA, A. E.** 1999. Una enfermedad órgano específica: Leptospirosis equina. Revista "Asociación Alergia, Asma e Inmunología". 1ª Edición Buenos Aires, Argentina.
- SILLERUD, L; BEY, R. E. & BALL, M.** 1987. Serologic correlation of suspected leptospira interrogans serovar Pomona induced uveitis in a group of horses J. Am. Vet. Med. Assoc. 191:1576-1578.
- TIZARD, I.** 1987. Veterinary Immunology: an introduction. Philadelphia, W.B. Saunders Co. Harcourt Brace Jovanovich Inc. 4 Ed. 1992, 445-446.
- WHO-ILS.** 2003. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control.

World Health Organization- International  
Leptospirosis Society. NLM classification:  
WC 420, Malta. pp. 109.

**WILLIAMS, D. M.; DONAHUE, J. M.;  
SMITH, B. J. & POONACHA K.B.** 1994.  
Serological and microbiological finding on  
3 farm with equine leptospiral abortions.  
*Equine. Vet. J.* 26 (2): 105-108.