

**ASOCIACIÓN ARGENTINA DE VETERINARIOS DE LABORATORIOS
DE DIAGNÓSTICO**

Fundada el 21 de noviembre de 1984

Personería Jurídica 439/96

Afiliada a la World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (WAVLD)

BOLETIN AAVLD

2009 Vol. N° 3

Publicación de la AAVLD

EDITORIAL

Con gran alegría hemos festejado los 25 Años de nuestra Asociación, el 18 de Septiembre, en la ciudad de Concordia, Provincia de Entre Ríos.

Con la participación de 30 colegas, asistentes y disertantes, se logró una interesante reunión, donde se expusieron diversos temas: Las palabras de bienvenida estuvieron a cargo de la Presidente: Dra. María Graciela Draghi y se leyeron todas las felicitaciones recibidas.

El Dr. Bernardo Carrillo, hizo la reseña sobre AAVLD, origen, objetivos y trayectoria, y los comentarios sobre la última reunión de la WALDV .

El Dr. Forchetti de la Universidad Nacional de Río Cuarto, contó la experiencia de tener como materia "Laboratorio", en la carrera de Veterinaria, lo mismo hizo el Dr. Jorge Romero, de la Universidad Nacional de La Plata.

La Dra. María Nelly Cajiao, Presentó a la Asociación Colombiana de Laboratorios e invitó a la Reunión de la WALDV, a realizarse en Colombia , en el 2011. Comentó el Programa de Especialización en Laboratorio Clínico Veterinario, en Colombia.

Luego compartimos una divertidísima cena con todo tipo de bailes. Para finalizar los ex presidentes, que estaban allí, apagaron las velitas del cumpleaños de la AAVLD. Aquí, algunas fotos para compartir los momentos.





TALLER DE LEPTOSPIROSIS

Estimados colegas, tengo el agrado de comunicarles que el día 4 de noviembre de este año la Comisión Científica de Leptospirosis de la AAVLD realizó el II TALLER INTEGRATIVO DE LEPTOSPIROSIS. El mismo se desarrolló en el auditorio de la Sociedad de Medicina Veterinaria, sito en Chile 1856 de la Ciudad de Buenos Aires. Participaron del mismo 120 asistentes, la mayoría de ellos veterinarios, pero también asistieron médicos, biólogos, bioquímicos, microbiólogos, técnicos y estudiantes. El panel de disertantes, de primer nivel, estuvo conformado por los miembros de la Comisión Científica, todos expertos en el tema del Taller, y profesionales invitados de reconocido renombre, como el Dr. Roberto Cacchione, Dr. Alfredo Seijo, Dra. María Graciela Draghi, Dra. Isabel Farace, Lic Héctor Coto, Dra. Viviana Vanasco y Dr. Carlos Rossetti.

Debo realizar una mención especial a la participación del Dr. Roberto Cacchione, quien en plena convalecencia de una internación en terapia intensiva, se convirtió con su presencia y con su disertación en un privilegio para muchos colegas muy jóvenes quienes no lo conocían personalmente y agradecieron a los organizadores del Taller la posibilidad que se les había brindado de conocer y escuchar a este "icono" en el estudio y diagnóstico de leptospirosis como es el Dr. Roberto Cacchione.

Las disertaciones se distribuyeron a lo largo de 10 horas en dos mesas por la mañana y dos mesas por la tarde, manteniendo la atención de los participantes hasta el final del evento ya al inicio de la

noche. Fue este un desafío para los integrantes de la Comisión Científica de leptospirosis, que nos ha dejado a todos una profunda satisfacción, desafío que no podría haberse logrado sin la colaboración de las autoridades de la AAVLD y de muchos colegas y amigos que nos brindaron una desinteresada colaboración. Esperamos mantener vivo el entusiasmo para seguir generando espacios de capacitación e información para los colegas de todo el país.

Atentamente.

Dra. Marta S. Tealdo

Coordinadora de la Comisión Científica de Leptospirosis de la AAVLD

Aquí incluimos dos de las presentaciones del taller:

DIAGNOSTICO DE LEPTOSPIROSIS POR LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Jessica Petrakovsky. jpetrako@senasa.gov.ar

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el diagnóstico de Leptospirosis se basa en la amplificación y detección de secuencias específicas de DNA de Leptospiras, lo cual demuestra en forma directa su presencia.

La técnica de PCR se puede aplicar a sangre, orina, líquido cefalorraquídeo y muestras de tejido (ante o post mortem), refrigeradas o congeladas.

En las muestras clínicas existen distintos componentes que pueden inhibir la reacción de PCR. Al emplear orina ácida se recomienda especialmente la neutralización de la muestra con PBS inmediatamente después de su recolección.

También se deben evitar las muestras muy contaminadas o tejidos autolíticos.

Básicamente para realizar la PCR se necesita extraer el ADN bacteriano de tejidos o fluidos corporales. El mismo se combina con los primers (secuencias cortas de ADN específicas para leptospira), una enzima ADN polimerasa termoestable y nucleótidos. Todo esto sujeto a ciclos de temperatura, amplifican un sector del ADN leptospiral.

Para la detección específica de leptospiras patógenas, Gravekamp y col. (1993) diseñaron dos pares de primers: G1 y G2 que amplifican una secuencia de 285 pb presente en todas las cepas de *Leptospira* patógenas exceptuando a *L. kirschneri*, esta última es identificada por el otro juego de primers, B 64 I y B 64 II, los cuales amplifican una secuencia de 563 pb.

El ADN amplificado puede detectarse en forma relativamente fácil, por tinción y utilización de marcadores de peso molecular, hibridación subsecuente o concomitante con sondas marcadas, etc.

Con el avance tecnológico de los termocicladores y los kits de extracción de ADN, la PCR constituye un método rápido para la detección temprana de la Leptospirosis

En la actualidad, se ha descrito un PCR cuantitativo en tiempo real, con alta sensibilidad, que permite detectar a la *Leptospira* distinguiendo entre especies patógenas y no patógenas en muestras clínicas y ambientales, permitiendo un diagnóstico rápido, que puede servir incluso cuando ya ha comenzado el tratamiento antibiótico

El aislamiento de la bacteria, el test de microaglutinación (MAT), requieren tiempo y en el primer caso, un amplio número de microorganismos presentes en la muestra.

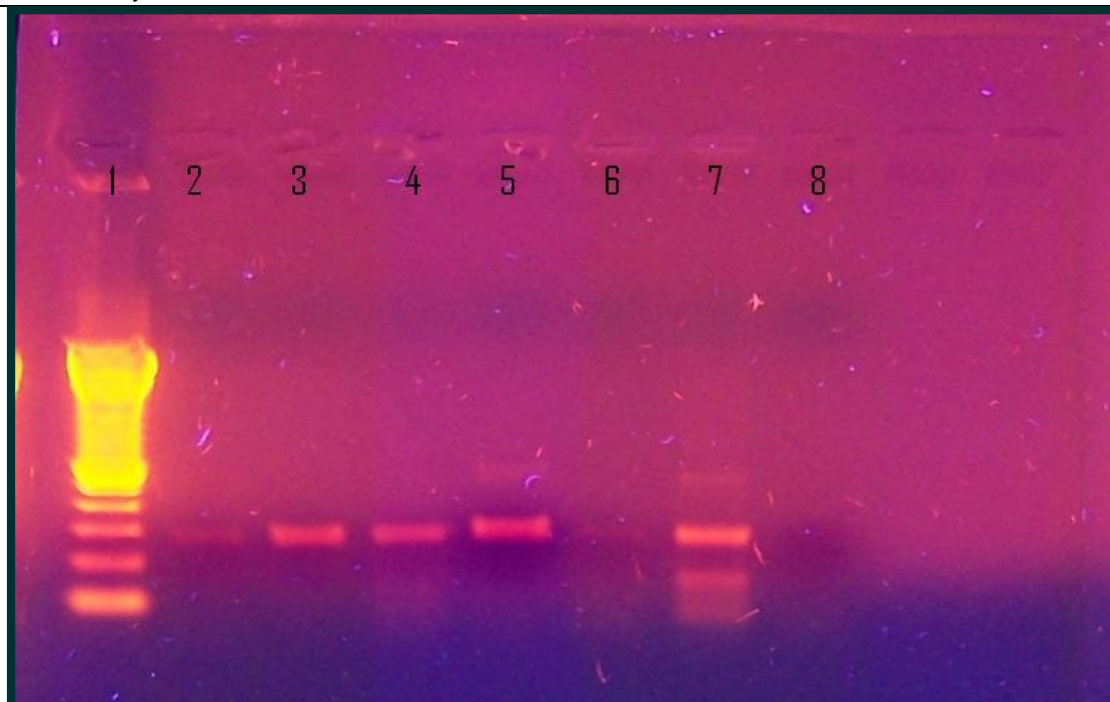
El diagnóstico basado en PCR posee varias ventajas como la rapidez, sensibilidad y especificidad

El principal cuidado que debemos tener es evitar la contaminación, que podría llevar a un falso positivo, por eso es recomendable realizar el proceso de extracción del ADN y la amplificación en ambientes separados.

Las principales limitaciones de la PCR como diagnóstico de rutina radican en la necesidad de equipamiento especial, el relativo alto costo de los reactivos y la ausencia de procedimientos estandarizados y automatizados que permitan procesar gran cantidad de muestras, especialmente en aquellos países más pobres donde la enfermedad es endémica

GEL DE AGAROSA REVELADO CON UV

Gel de agarosa revelado con UV. Calle 1: marcador de peso molecular, calle 8: Control negativo. Calles 2 a 7: se observa el producto de 285 pb perteneciente a muestras de distintos tejidos



LEPTOSPIROSIS HUMANA. FORMAS DE PRESENTACIÓN. SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA LEPTOSPIROSIS HUMANA EN ARGENTINA

Dr. Alfredo Seijo,

Méd. Infectólogo, Jefe Serv. de Zoonosis H. Muñiz (GCBA), Prof. Adj de Infectología, Univ. Favaloro. Director Asoc. Carrera de Infectología, Univ. Nac. del Nordeste.

La diversidad de reservorios, muchos de ellos de estrecho contacto con el hombre, hacen de la leptospirosis una de las zoonosis de mayor distribución mundial, pero paradójicamente no siempre sospechada en el momento del diagnóstico. Debido al carácter polisindromático, debe diferenciarse de las enfermedades infecciosas de curso agudo y de otras patologías de etiología no infecciosa. Su prevalencia real es desconocida. La subnotificación de casos es la suma de la baja percepción de la enfermedad tanto profesional como comunitaria, la falta de una oferta apropiada de diagnóstico microbiológico y la frecuencia de casos oligosintomáticos

Ecoepidemiología en Argentina:

Los dos reservorios urbanos más importantes son la rata (*Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*) y el perro. La infección en las ratas es asintomática con prevalencias para la Región Metropolitana de Buenos Aires del 13 al 50 %, tasas que se repiten en casi todas las ciudades donde se ha estudiado el problema. En el perro (infección sintomática) la seroprevalencia varía para la misma región entre 11 y 60%, según distintos estudios. Se dispone de vacuna para su control. En medios rurales o semiurbanizados los animales de cría (bovinos, porcinos, etc.) padecen la enfermedad y suelen ser portadores y eliminadores urinarios de leptospirosis por varios meses. Las tasas de infección varían entre regiones pudiendo ser tan altas como del 80%, dependiendo del manejo de los rodeos, condiciones ambientales, utilización de vacuna etc. Perros y ratas coexisten con los animales de cría en el modelo epidemiológico rural. Nichos ecológicos más cerrados que involucran reservorios silvestres (cuises, liebres, armadillos, comadrejas, etc.) mantienen cepas cuya virulencia puede ser decisiva en la producción de brotes rurales.

Cerrando el ciclo epidemiológico los factores ambientales y sociales son decisivos: vastos sectores de población viviendo en zonas de urbanización deficiente, donde además de la abundancia de roedores, perros e incluso otros reservorios como equinos, son frecuentes las inundaciones. A esto se suman los trabajos de riesgo: "cartoneros", recolectores de basura, obreros de la construcción y excavadores, operarios de frigoríficos, peones de campo, agricultores y profesiones como veterinarios, biólogos y personal de las fuerzas armadas. Es frecuente la enfermedad en actividades recreativas y deportes acuáticos y de "aventura". En el conurbano bonaerense, la inmersión en verano en aguas contaminadas ha producido brotes especialmente en personas jóvenes.

Situación actual:

Debido al período prolongado de lluvias durante el verano de 2007, se han producido dos brotes epidémicos y casos aislados y agrupados en un número mayor a la tendencia de los últimos años. Los brotes epidémicos corresponden a las provincias de Santa Fe y Entre Ríos. La ciudad de Santa Fe en 2003 tuvo una de las mayores inundaciones registradas. En esa oportunidad se registraron 419 casos confirmados con un total de 1287 sospechosos, superando los casos de hepatitis A, gastroenteritis e infecciones respiratorias que suelen ser los de mayor incidencia en las catástrofes hídricas. En 2007 la inundación afectó además de la ciudad a otros departamentos con una notificación de 257 casos sospechosos y 87 confirmados. Una diferencia importante entre ambos eventos fue la aparición de casos mortales en 2007. Entre Ríos registra un incremento de casos en los últimos años debido a una mejora en la vigilancia epidemiológica. Se denunciaron 53 casos sospechosos con 33 confirmados y es probable que se registrara mortalidad. En el primer cuatrimestre de 2007 el servicio de Zoonosis del Hospital FJ Muñiz confirmó 19 casos de leptospirosis correspondientes a distintos partidos del conurbano bonaerense y dos casos correspondientes a la ciudad de Buenos Aires, uno confirmado y otro con nexo epidemiológico. Se conocen casos probables (con relación epidemiológica) de evolución fatal. El mismo servicio denunció un incremento en las consultas por mordeduras de ratas provenientes tanto de zonas marginales como de buena urbanización. Recientemente ingresó a este hospital un enfermo derivado en avión sanitario desde La Pampa, provincia que hasta hace pocos años no tenía casos notificados.

Es llamativa la presentación clínica de la enfermedad. La totalidad de los casos mostró una evolución con severidad media a alta. En la fase prodrómica la consulta se debió a cuadros de gastroenteritis caracterizados por deposiciones líquidas además de los síntomas clásicos de hipertermia brusca, mialgias, cefalea y dolor abdominal. La frecuencia e intensidad de la gastroenteritis puede considerarse una variación en la presentación clínica de la enfermedad, hecho que fue observado también en Santa Fe. Continuando la fase prodrómica los enfermos presentaron en su mayoría, infiltrados pulmonares bilaterales basales, en algunos casos con hemorragia pulmonar masiva, que fue la causa de muerte. Al contrario de las observaciones clásicas de la enfermedad, la ictericia no ha sido frecuente. El autor tuvo la oportunidad de observar en Gualaguaychú (Entre Ríos) que la totalidad de los casos internados presentaron infiltrados pulmonares y ninguno ictericia, observación que hubiera sido inusitada en años anteriores.

Es importante considerar esta variabilidad clínica en el momento del diagnóstico diferencial. La enfermedad ya debe ser sospechada en la fase prodrómica ante un síndrome febril agudo sin foco en vías aéreas superiores (ahora con agregado de gastroenteritis) y con antecedentes de riesgo que surgen de una *completa anamnesis*. El diagnóstico de laboratorio se inicia con los parámetros bioquímicos (leucocitosis y neutrofilia, elevación de la velocidad de sedimentación eritrocitaria y frecuente trombopenia) alteración de las funciones renales y hepática según los casos y ante la persistencia de cefalea aún sin signos meníngeos debe realizarse punción lumbar. Paciente con taquipnea, aún con radiografía de tórax normal, debe ser internado o puesto en observación y repetir la radiografía a las pocas horas. La hemoptisis u otro sangrado deben considerarse signos de gravedad, aún cuando no sean abundantes. El diagnóstico específico se realiza mediante las pruebas serológicas, siendo la técnica de aglutinación

microscópica (MAT) con diez serovariedades, de referencia. Deben intentarse hemocultivos, urocultivos y cultivo de líquido cefalorraquídeo en medios especiales para leptospirosis, que si bien son tardíos para el diagnóstico asistencial son fundamentales para evaluar la epidemiología y clínica de una enfermedad que muestra patrones variables de presentación. Como la progresión a la hemorragia pulmonar seguida de distrés respiratorio y muerte puede ser rápida y no son demostrables los anticuerpos, disponemos de técnicas como PCR para el diagnóstico en distintos materiales clínicos incluidos los provenientes de autopsias.

Es factible la profilaxis con doxiciclina en personas con riesgo epidemiológico y en circunstancias que generalmente son urgencias epidemiológicas. Sin embargo, no es posible administrarla por períodos prolongados en aquellos que por sus actividades o su entorno ambiental tienen un riesgo permanente. En estos casos la vacuna humana es una alternativa aplicada con éxito por otros países desde hace varios años, y se presenta como una herramienta eficaz de prevención.

ACTUALIZACIÓN DE DATOS

Se reitera el pedido realizado en boletines anteriores de la actualización de datos, ya que los cambios en las direcciones de correo postal ó electrónico han hecho caótica la entrega del boletín. La idea de la CD es el envío del mismo, como así también, la información de interés que se quiera divulgar por vía electrónica a la mayoría de los colegas que puedan recibirlo, con el objeto de ahorrar costos y tiempos.

A los que no hayan actualizado sus datos se les solicita dirigirse a Secretaría de la AAVLD: bcetra@correo.inta.gov.ar / aavld@drwebsa.com.ar

PÁGINA WEB

Reiteramos la invitación a nuestros asociados para visitar la página web de la Asociación en www.aavld.org.ar y a enviar noticias o datos de interés para nuestra actividad.

Aquellos laboratorios o entidades interesados en colaborar con su soporte económico pueden colocar allí el logo con un link que conecte a la página web de la citada entidad.

Los interesados se pueden contactar con la Secretaría de la AAVLD, por mail a bcetra@correo.inta.gov.ar / aavld@drwebsa.com.ar

ACTIVIDADES DE LA COMISIÓN DIRECTIVA

La Comisión Directiva se reunió el 18 de Septiembre, en Concordia, previo a la Reunión de Festejo de los 25 Años.

Allí se comentó como se estaba organizando el taller de leptospirosis.

Se comenzó a diagramar la próxima reunión científico-técnica, a realizarse en 2010.

PAGO DE CUOTAS SOCIETARIAS

Se recuerda a los colegas el pago de la cuota anual de \$50. Aquellos que tengan dudas sobre su deuda pueden contactarse con la Secretaría.

Forma de pago:

- **Depósito** en cualquier sucursal de Banco Santander Río, a la Cuenta Corriente Institucional de la AAVLD N ° 152-0000 18630, remitiendo copia del comprobante por fax a los Nro, 03722 425540 dirigida a Esteban Bakos o los datos del depósito por correo electrónico a jrlabneachf@senasa.gov.ar o bcetra@correo.inta.gov.ar

- **Transferencia bancaria** a la misma cuenta cuyo Nro de CBU es 07201529 20000000186304, remitiendo copia del comprobante a nuestra Secretaría.

Por correo se le enviará el recibo correspondiente

PRÓXIMA REUNIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA !!!

La XVIII Reunión Científico-Técnica, se realizará los días 3, 4 y 5 de Noviembre de 2010, en Mercedes, Corrientes. En los próximos Boletines, se presentará el Programa, con los temas y Disertantes.

Esperamos contar con vuestra presencia, para compartir los trabajos de investigación , conferencias, posters, mesas redondas, paseos por la zona (laguna del Iberá, Piedra Itá Pucú, etc.), cenas y reencuentros.....