

LEPTOSPIROSI

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	Genere <i>Leptospira</i> , famiglia <i>Leptospiraceae</i> , phylum <i>Spirochaetae</i> .
-------------------	--

Sospetto clinico

Criteri clinici	Periodo di incubazione da 7 a 12 gg (estesa tra 3 e 30 gg) Qualsiasi persona che presenti: • Febbre Oppure • Brividi • Cefalea • Mialgia • Soffusione congiuntivale • Emorragie cutanee e mucose • Eruzione • Ittero • Miocardite • Meningite • Insufficienza renale • Sintomi respiratori quali emottisi
------------------------	--

Sospetto epidemiologico

Criteri epidemiologici	Almeno una delle tre seguenti correlazioni epidemiologiche: • trasmissione da animale a uomo • esposizione ambientale • esposizione a una fonte comune.
------------------------	--

Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.

2.1 Conferma di laboratorio

Tipo di campione: Sangue/siero

Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Per emocoltura: prelevare quantità sufficiente di sangue in provette con anticoagulante nei primi 10 giorni successivi all'insorgenza della malattia e prima dell'inizio di una terapia antibiotica • Per sierologia: Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportare in laboratorio a temperatura ambiente, in quanto le basse temperature compromettono la sopravvivenza delle leptospire patogene. • Processare nel più breve tempo possibile
Tipo di esame	• Emocoltura in terreni idonei • Esami sierologici: ELISA e Microagglutination test–MAT • Metodiche biologica molecolare

Tipo di campione: urina

Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Inoculare il campione in idoneo terreno di coltura entro 2 ore dal prelievo • Per isolamento: Effettuare il prelievo nelle prime 3 settimane successive all'insorgenza della malattia • Per biologia molecolare: prelevare almeno 10 ml di urina e conservare a temperatura di refrigerazione
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportare in laboratorio e processare nel più breve tempo possibile
Tipo di esame	• Isolamento in terreni idonei • Metodiche biologica molecolare • Immunofluorescenza diretta

Tipo di campione: liquido cefalo-rachidiano

Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevato per puntura lombare (PL) o rachicentesi nello spazio tra la 4^a e la 5^a vertebra lombare • Raccolto in provette sterili con tappo a vite e fondo conico e in provetta da emocoltura 1 ml • Diviso in 3 aliquote per ridurre la contaminazione di sangue proveniente dai tessuti perforati
-----------------------------	---

	• Per isolamento: Effettuare il prelievo nei primi 10 giorni successivi all'insorgenza della malattia e prima dell'inizio di una terapia antibiotica
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportato in laboratorio e processato nel più breve tempo possibile. I campioni possono essere refrigerati per non più di 72 ore, altrimenti congelati a -80°C.
Tipo di esame	• Isolamento in terreni idonei • Metodiche biologica molecolare
Criteri di laboratorio	Almeno uno dei quattro seguenti criteri: • Isolamento della <i>Leptospira interrogans</i> o qualsiasi altra <i>Leptospira</i> spp. patogena • Identificazione dell'acido nucleico della <i>Leptospira interrogans</i> o di qualsiasi altra <i>Leptospira</i> spp patogena in un campione clinico • Dimostrazione della presenza della <i>Leptospira interrogans</i> o di qualsiasi altra <i>Leptospira</i> spp. patogena in un campione clinico mediante immunofluorescenza • Risposta anticorpale specifica alla <i>Leptospira interrogans</i> o a qualsiasi altra <i>Leptospira</i> spp. patogena
Caso confermato: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio → NOTIFICA	

Leptospirosi – Specifiche tecniche

Esame culturale

Le Leptospire crescono in diversi terreni di coltura con una crescita relativamente lenta a temperatura ottimale di 28-30°C. La scelta del campione più idoneo dal quale effettuare l'isolamento dipende dalla fase della malattia.

Sangue

Deve essere analizzato nei primi 10 giorni dall'insorgere della malattia e prima dell'inizio di una terapia antibiotica. Poche gocce di sangue vengono inoculate in provette contenenti 5 ml di un terreno di coltura idoneo. Inoculi di maggiore quantità potrebbero inibire la crescita delle leptospire. L'incubazione dei terreni inoculati va effettuata a 30°C per periodi molto lunghi (fino a 4-6 mesi).

Liquido cefalo-rachidiano

Deve essere analizzato nei primi 10 giorni dall'insorgere della malattia e prima dell'inizio di una terapia antibiotica. L'isolamento viene effettuato inoculando 0.5 ml di liquido cefalo-rachidiano in provette contenenti 5 ml di terreno semi-solido.

Urine

Nella prima settimana seguente all'insorgenza della malattia, l'urina rappresenta il campione più idoneo per l'isolamento delle leptospire. Il prelievo deve essere effettuato nel rispetto delle norme di asepsi evitando di raccogliere il primo getto di urina. L'urina deve essere inoculata in apposito terreno colturale possibilmente entro due ore dal prelievo. Una goccia di urina non diluita viene inoculata in 5 ml di terreno colturale.

Esame culturale

I test sierologici dovrebbero essere effettuati su due/tre campioni prelevati a distanza di circa 10 giorni l'uno dall'altro, non prima di 8-10 giorni dalla comparsa dei sintomi.

Microscopic agglutination test (MAT)

Rappresenta il gold standard per la diagnosi di leptospirosi, permette l'identificazione degli anticorpi IgM e IgG e del loro titolo. Il metodo consiste nel mescolare il siero test con una sospensione di leptospire rappresentativa dei principali sierogruppi. Il risultato del test viene letto mediante osservazione microscopica in campo oscuro. La diagnosi viene confermata se tra la prima e la seconda determinazione il titolo anticorpale risulta aumentato di almeno 4 volte. La metodica prevede una fase di screening per valutare il sierogruppo e una fase quantitativa per determinare il titolo anticorpale di ciascun antigene risultato positivo.

ELISA

Le metodiche immunoenzimatiche sono sempre più utilizzate per la diagnosi di

leptospirosi; nella fase acuta sono più sensibili del MAT e consentono di avere la diagnosi anche dopo soli 6-8 giorno dall'insorgenza dei sintomi. Il metodo risulta inoltre più semplice del MAT. Tuttavia il test si negativizza più velocemente.

Metodiche biomolecolari

Le metodiche biomolecolari permettono l'amplificazione del DNA di leptospira in campioni biologici, quali sangue, urina, liquido cefalo-rachidiano.

Immunofluorescenza

L'immunofluorescenza diretta viene utilizzata per visualizzare le leptospire su strisci di sedimento urinario. Pur essendo metodiche con una più alta sensibilità nella rilevazione delle spirochete rispetto alla microscopia in campo oscuro, questi test non sono in grado di distinguere i diversi sierotipi di leptospira, né riescono a distinguere i microrganismi vivi da quelli morti. Inoltre, la possibilità di rilevare l'infezione dipende da qual è la fase di eliminazione attiva del microrganismo al momento della raccolta del campione.



Il materiale documentale del Progetto Zodiac, diffuso da SanitàPubblica Veterinaria, è coperto da Licenza Creative Commons Attribuzione 4.0 Internazionale. [Based on a work at <http://spvet.it/zodiac.html>]