

Estudios sobre leptospiras X.

Primer aislamiento de dos cepas de "Leptospira suis" de origen humano (dos casos de enfermedad de Weil).

por Enrique Savino y Eduardo Rennella

En este relato hacemos referencia al hallazgo y estudio de dos cepas de *Leptospira suis*, aisladas, por primera vez, de sendos casos de enfermedad de Weil.

I. ANTECEDENTES

La *Leptospira suis* fué aislada (Savino y Rennella, 1944, de riñones de cerdos provenientes de diferentes regiones de la República Argentina. La citada *Leptospira* también infecta a los animales del ganado vacuno y caballar (Savino y Rennella, 1944).

Savino y Rennella (1944), también demostraron que la *Leptospira suis*, es agente etiológico de enfermedad de Weil, en la República Argentina.

II. MATERIAL Y MÉTODO

1. *Material*: Suero sanguíneo y orina de enfermo.
2. *Método*: a) *Investigación de leptospirolisinas*. La determinación de leptospirolisinas en el suero sanguíneo se realizó según la técnica ya descrita (Savino y Rennella, 1943). Con ese propósito empleamos las especies siguientes: *Leptospira icterohaemorrhagiae* (cepa RGA), *Leptospira bonariensis* (cepa 47), *Leptospira canicola* (cepa P60), *Leptospira suis* (cepa 34) y *Leptospira hyos* (cepa 300).
b). *Investigación de "Leptospira" en orina*: El procedimiento consiste en recoger la orina en un frasco estéril e inmediatamente se le agrega un volumen igual de nuestro medio nutritivo para *Leptospira* (Savino y Rennella, 1942). La orina, así diluída se centrifuga 1 hora a 5000 r.p.m., a 10. C., o de lo contrario, a temperatura ambiente.

El precipitado obtenido por centrifugación se suspende en 3 ó 4 ml. del citado medio nutritivo para la *Leptospira*, se examina al fondo oscuro y finalmente se inocula por vía intraperitoneal al *Cricetus auratus* de dos meses y al cavia de 4 semanas.

Los animales inoculados son examinados de acuerdo a la técnica descrita en un trabajo anterior (Savino y Rennella, 1943).

c). *Estudio de los caracteres suerológicos de las cepas aisladas*: La constitución antigénica de las dos cepas de *Leptospira* aisladas la estudiamos mediante el empleo, de sus correspondientes sueros inmunes de conejo y de las cinco especies de *Leptospira* citadas en el párrafo 2, también con sus respectivos sueros inmunes. Con las siete cepas de *Leptospira*, anteriormente mencionadas y con los respectivos sueros inmunes realizamos los correspondientes ensayos de leptospirolisis.

III. RESULTADOS

I. *Leptospirolisinas del suero sanguíneo de los enfermos*. En la tabla 1, indicamos los resultados de la leptospirolisis, obtenidos en diferentes muestras de sueros sanguíneos, pertenecientes a los dos casos de enfermedad de Weil.

TABLA 1
RESULTADOS DE LA LEPTOSPIROLISIS

ENFERMO	Días transcurridos, desde la iniciación de la enfermedad	TITULO DE LEPTOSPIROLISIS	
		<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	<i>Leptospira suis</i>
C. C. (1er. caso) ..	8 días	0(*)	1/250
> > (> >) ..	13 >	0	1/6.250
> > (> >) ..	43 >	0	1/20.000
P. G. (2.º caso) .	17 >	1/2.500	1/5.000
> > (> >) ..	22 >	1/2.500	1/5.000
> > (> >) ..	65 >	1/1.250	1/12.500

A los datos indicados en la tabla 1, debemos agregar que, en todos los casos, la leptospirolisis fué negativa para las especies siguientes: *Leptospira bonariensis*, *Leptospira canicola* y *Leptospira hyos*.

(*) El signo 0 indica que el título es inferior a 1/50.

De la tabla I deducimos que el suero sanguíneo de los dos enfermos contenía leptospirolisinas para la *Leptospira suis*. Sin embargo, el suero sanguíneo del 2º caso lisaba también a la *Leptospira icterohæmorrhagicæ*, hallazgo explicable, si se tiene en cuenta la constitución antigénica que poseen las dos citadas especies de *Leptospira* (Savino y Rennella, 1945).

2. Resultados de la investigación de "*Leptospira*" en orina: A). Observación al fondo oscuro: La observación al fondo oscuro de la suspensión del precipitado de orina, fué negativo en el primer caso. En cambio, en la orina del segundo enfermo, el fondo oscuro permitió la observación de algunos microorganismos análogos a la *Leptospira*.

B). Inoculación de la orina al "*Cricetus auratus*" y al cavia: a). Resultados obtenidos con la orina del primer caso: En esta investigación empleamos 100 ml. de orina, de pH 6,0, recogida a los 13 días de enfermedad. La suspensión del precipitado urinario, obtenido por centrifugación a 10º C., fué inoculada al *Cricetus auratus* y al cavia.

La temperatura rectal diaria del *Cricetus auratus* osciló entre 37º8 y 38º C. Sin embargo, al 9º día de inoculado la temperatura descendió a 37º2 C. Entonces, el roedor fué sacrificado y el examen al fondo oscuro del hígado y riñón, evidenció la presencia de *Leptospira* en las mencionadas vísceras. Además, por punción con pipeta Pasteur, sembramos material de hígado, riñón, médula ósea y sangre de corazón, en el ya citado medio nutritivo. Finalmente, la suspensión del tejido hepático y renal fué inoculada, por vía intraperitoneal, a un *Cricetus auratus* de 2 meses y a dos cavias de 4 semanas. Los animales inoculados fueron estudiados siguiendo las indicaciones citadas y las vísceras del segundo *Cricetus auratus*, al igual que las del primero, fué nuevamente inoculada al *Cricetus auratus* y al cavia. Así, repetimos este procedimiento varias veces.

Los resultados de las inoculaciones realizadas, pueden resumirse en las conclusiones siguientes: 1) en los *Cricetus auratus* no hemos registrado ningún aumento significativo de la temperatura rectal. Sin embargo, los cavias inoculados, con las vísceras de los *Cricetus auratus*, tuvieron 40º C., a 41º4 C., en el 5º A 7º día de inoculación; 2) ninguno de los *Cricetus auratus*, sacrificados con gas de alumbrado, presentaron hemorragia nasal. En cambio, el citado fenómeno se manifestó, con gran frecuencia, en el cavia; 3) el examen al fondo oscuro, siempre fué francamente positivo, para la *Leptospira*, en los *Cricetus auratus* y generalmente negativo en los cavias; 4) los cultivos de material de hígado, riñón, médula ósea y sangre de corazón, fueron positivos para la *Leptospira*, en los *Cricetus auratus* y en los cavias.

Finalmente, diremos que el cavia inoculado con la parte restante de la suspensión del precipitado de la orina del primer enfermo, mu-

rió a las 72 horas y las investigaciones realizadas fueron negativas a la *Leptospira*.

Las investigaciones mencionadas, permitieron aislar de la orina del enfermo C. C., una cepa de *Leptospira* que hemos denominado 190.

b). *Resultados obtenidos con la orina del segundo caso*: Del enfermo P. G. recogimos 200 ml. de orina, a los 22 días de enfermedad. El pH de la orina era 6,4; fué centrifugada a temperatura ambiente y el precipitado fué inoculado a 2 *Cricetus auratus* y a 2 cavias.

Ninguno de los animales presentaron aumento de la temperatura rectal diaria.

Los dos *Cricetus auratus* murieron al 7º día de inoculados y en ambos casos, el examen al fondo oscuro reveló abundante cantidad de *Leptospira*, en hígado y riñón. Además, la siembra de material de hígado, riñón, médula ósea y sangre de corazón, fué positivo para la *Leptospira*, permitiendo el aislamiento de una cepa que hemos denominado 55.

De los cavias inoculados, uno murió al 5º día y el otro fué sacrificado al 8º día de la inoculación. En ambos casos, todas las investigaciones realizadas fueron negativas a la *Leptospira*.

Por tanto, la investigación de *Leptospira* en la orina del enfermo P. G., demostró que el *Cricetus auratus* es más sensible que el cavia, a la infección por *Leptospira*.

C). *Caracteres antigénicos de las dos cepas de "Leptospira" aisladas (cepa 190 y 55)*: Estas investigaciones fueron realizadas de acuerdo a la técnica descrita en el párrafo II. Los resultados de los citados estudios, permitieron identificar a las dos cepas aisladas, con la *Leptospira suis*.

IV. COMENTARIO

Los estudios realizados permiten sostener que el *Cricetus auratus* es más sensible que el cavia a la infección experimental por *Leptospira suis*. Por tanto, para el aislamiento de *Leptospira suis*, es conveniente el empleo de *Cricetus auratus* de 2 meses.

Las dos cepas de *Leptospira* aisladas, pertenecían a sendos casos de enfermedad de Weil, que se presentaron en obreros de frigoríficos.

El primer caso fué atendido por el Dr. Fernando Pozzo. Se trataba de un hombre de 34 años, que hacía 5 meses trabajaba en el frigorífico Anglo y extirpaba las pezuñas de los cerdos. Enfermó el 1º de junio de 1945, con alta temperatura, cefalea intensa, dolores articulares y óseos. A los pocos días de iniciada la enfermedad presentó inyección conjuntival e ictericia de regular intensidad. La enfermedad hizo crisis a la semana de su iniciación.

El segundo caso era una persona de 22 años y hacía 4 meses trabajaba en el frigorífico Wilson. Su tarea consistía en ojalar las patas de los cerdos, para colocar en él los ganchos para colgar los citados animales. Enfermó el 5 de octubre de 1945. El Dr. Jorge Sacón le prestó asistencia médica. La afección se caracterizó por iniciación brusca, decaimiento, escalofríos, fiebre alta, dolores óseos y musculares que aunque generalizados, eran más intensos en las piernas. Al 6º día presentó ictericia franca y a los 15 días tuvo un cuadro de confusión mental que duró dos días. Luego entró en convalecencia.

Los dos casos de leptospirosis huamana que relatamos demuestran que ésta puede presentarse como enfermedad profesional entre los obreros de frigoríficos y corrobora lo que hemos sostenido en trabajos anteriores (Savino y Rennella, 1944 y 1945).

V. CONCLUSIONES

1. Por primera vez se aísla dos cepas de *Leptospira suis* de origen humano.
2. El *Cricetus auratus* es más sensible que el cavia a la infección experimental por *Leptospira suis*.
3. La leptospirosis es una enfermedad profesional de los obreros de frigoríficos.

Al terminar debemos expresar nuestro agradecimiento a los Dres. Fernando Pozzo y Jorge Sacón por la eficaz y gentil colaboración prestada en la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. SAVINO E. y RENNELLA E. — El cultivo de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* Inada é Ido 1915. I) Condiciones y factores que rigen su desarrollo *in vitro*. Método para la cuenta de leptospiros. II) Nuevo medio nutritivo. *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"*, 1942, **11** (1), 5, 18 y *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 1942, **18** (3), 170, 185.
2. SAVINO E. y RENNELLA E. — Estudios sobre leptospiros. I) Método para la determinación de leptospirodisinas. *Rev. Soc. Arg. Biol.* 1943, **19** (3), 261-263 y *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"*, 1944, **12** (2), 179-181.
3. SAVINO E. y RENNELLA E. — Estudios sobre leptospiros. VI) *Leptospira suis* (n. sp.?) y *Leptospira hyos* (n. sp.?) aislada en cerdos de la República Argentina. *Día Méd.*, 1944, **16** (43), 1295-1296, y *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"* (en prensa).
4. SAVINO E. y RENNELLA E. — Estudios sobre leptospiros. VII) *Leptospiras* en cerdos de la República Argentina. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 1944, **20** (6), 351-357 y *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"* (en prensa).

5. SAVINO E. y RENNELLA E. — Estudios sobre leptospiros. VIII) *Leptospira* en animales vacunos, equinos y lanares de la República Argentina. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 1944, **20** (6), 358-363 y *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"* (en prensa).
6. SAVINO E. y RENNELLA E. — Estudios sobre leptospiros. IX) *Leptospira suis* agente de enfermedad de Weil en la República Argentina. *Día Méd.* 1944, **16** (45), 1349-1351 y *Rev. Inst. Bact. "Dr. Carlos G. Malbrán"* (en prensa).
7. SAVINO E. y RENNELLA E. — *Leptospira* y leptospirosis en la República Argentina, 1944. "El Ateneo", Buenos Aires.
8. SAVINO E. y RENNELLA E. — Bacteriología y epidemiología de la enfermedad de Weil. *Rev. Asoc. Méd. Argentina*, 1945, **59** (563), 892-897 y *Día Méd.*, 1945, **17** (35), 955-961.