

Estudios sobre leptospiras

V. - Primer aislamiento en la República Argentina de dos cepas de *Leptospira bonariensis*, de origen humano (dos casos de enfermedad de Weil) (*)

E. SAVINO y E. RENNELLA

En un trabajo anterior (Savino y Rennella, 1943 *b* y *d*) estudian las leptospiras de las ratas grises de la ciudad de Buenos Aires y temporariamente la consideran como una nueva especie que denominan *Leptospira bonariensis*.

En esta comunicación se exponen las investigaciones realizadas con el material de origen humano de dos casos de enfermedad de Weil y el consiguiente aislamiento de dos cepas de *Leptospira bonariensis*. Los dos pacientes fueron estudiados clínicamente por el Dr. Humberto R. Rugiero, a quien agradecemos la gentileza de haber enviado el material necesario para realizar estas investigaciones.

I. — ANTECEDENTES

Grapiole, Fossati y Palazzo (1921), escriben en la Argentina un caso fatal de leptospirosis humana y lo confirman por el examen microscópico del hígado del cadáver.

Fabini y Estrella (1938), relatan en el Uruguay un enfermo por leptospiras y aíslan, de la sangre circulante del paciente, el agente etiológico de la afección.

Talice y Bloise (1943), publican, también en el Uruguay, otro caso humano de leptospirosis y de la orina del niño aíslan una cepa de leptospira.

Savino y Rennella (1943 *b*), estudian las dos cepas de leptospiras aisladas por Fabini y Estrella (1938) y por Talice y Bloise (1943) e identifican ambas especies con la *Leptospira bonariensis*.

Presentado para publicar el 10 de diciembre de 1943.

II. — MATERIAL Y MÉTODO

1. *Material*. — Suero sanguíneo y orina de los enfermos Rafael Gar. (primer caso) y Hugo Gal. (segundo caso).

2. *Investigación de leptospirolisinas*. — La determinación de leptospirolisinas en el suero sanguíneo fué realizada de acuerdo a la técnica descrita anteriormente (Savino y Rennella, 1943 a) y mediante el empleo de las especies siguientes: *Leptospira bonariensis*, *Leptospira icterohaemorrhagiae* y una cepa aislada en los perros de la ciudad de Buenos Aires, que por sus caracteres biológicos corresponde a la *Leptospira canicola* (Savino y Rennella, 1943 c).

3. *Investigación de leptospiros en la orina*. — El método consiste en la recolección de orina neutra o alcalina (pH 7.0-7.6), lo que se consigue dándole a ingerir al enfermo bicarbonato de sodio el día anterior a la toma de la muestra.

La orina recientemente emitida, es centrifugada en vasos de 100 ml de capacidad, a 10°C, durante 1 hora a 5.000 r. p. m. El líquido sobrenadante es eliminado y el precipitado suspendido en 5 ml del medio nutritivo para las leptospiros (Savino y Rennella, 1942). La suspensión del precipitado de orina es inoculado a dos caviás, por vía intraperitoneal, recibiendo cada uno de ellos 2.5 ml de la citada suspensión.

A los caviás inoculados se les registra, una vez por día, la temperatura rectal. Cuando, de los dos animales en estudio, uno de ellos presenta una temperatura superior a 40°C — o al 7° u 8° día de observación en caso que el animal no presente dicha elevación térmica— es sacrificado por medio del gas de alumbrado. Muerto el animal se anotan las observaciones siguientes: 1° presencia de hemorragia nasal; 2° color de la piel y de las paredes abdominales recubiertas por el peritoneo parietal; 3° investigación de leptospiros en hígado y riñón por medio del fondo oscuro (Mason, 1938) y 4° finalmente, con una pipeta Pasteur se recoge material por punción del hígado, riñón, corazón y médula ósea y se siembra en el medio nutritivo ya descrito (Savino y Rennella, 1942). Al mismo tiempo, dos caviás son inoculados con la suspensión del tejido renal y hepático y estos animales se siguen observando en la misma forma que los dos caviás iniciales.

El cavia restante de la primera serie —aquel no sacrificado— queda en observación durante 3 semanas. Si el animal muere espontáneamente dentro de ese lapso se lo estudia en la misma forma arriba indicada.

Los cultivos son estudiados por medio del fondo oscuro después de 10 a 20 días de incubación a 29-30°C.

4. *Caracteres antigénicos de las cepas aisladas.* — Los caracteres antigénicos de las leptospiras aisladas de los dos casos humanos, se estudiaron mediante el contraste de los correspondientes antisueros de conejo (Savino y Rennella, 1943 *a* y *b*), con las tres especies de leptospiras citadas en el segundo párrafo de este trabajo.

III. — RESULTADOS

1. *Leptospirólisis del suero sanguíneo de los enfermos.* — En la tabla 1 están consignados los títulos de leptospirólisis, en las diferentes muestras de sangre, de los dos pacientes de enfermedad de Weil.

TABLE I

Enfermo	Fecha	Día de enfermedad	Título de leptospirólisis		
			<i>L. bonariensis</i>	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>
R. G. (1er. caso) .	29- IX-43	5°	Negativo(*)	Negativo	Negativo
» » (» ») .	6- X-43	12°	1/800	»	»
» » (» ») .	27- X-43	33°	1/2.000	»	»
» » (» ») .	25- XI-43	62°	1/12.500	»	»
H. G. (2º caso) ...	27- X-43	11°	Negativo	Negativo	Negativo
» » (» ») ...	2- XI-43	17°	1/200	»	»
» » (» ») ...	13- XI-43	28°	1/200	»	»
» » (» ») ...	2-XII-43	47°	1/800	»	»

(*) Indica que el título es inferior a 1/50.

Los resultados de la tabla 1 son interesantes, puesto que en los dos casos la primer prueba de leptospirólisis fué negativa al 5º y 11º día de enfermedad respectivamente, para hacerse luego positiva.

2. *Inoculación de la orina al cavia.* — Los resultados de la investigación de las diferentes muestras de orina de los enfermos están indicadas en la tabla 2.

Los cavia que fueron positivos a la prueba biológica de la leptospira presentaron hemorragia nasal al ser sacrificados, temperatura entre 40°1-40°6C del 6º al 9º día de inoculación, ictericia y muerte de los animales, en hipotermia, en el 7º al 12º día de la

prueba. La ictericia en algunos casos apareció ya en la primera inoculación del precipitado de orina y en otros en el 4º pasaje al cavia.

TABLA II

Enfermo	Fecha	Día de enfermedad	Volumen de orina empleada	Resultado de la inoculación al cavia
R. G. (1er. caso)	2- X-43	8º	60 ml	Positivo
» » (» »)	11- X-43	17º	160 »	»
H. G. (2º caso)	6-XI-43	21º	300 ml	Positivo
» » (» »)	8-XI-43	23º	150 »	»
» » (» »)	13-XI-43	28º	160 »	Negativo

El examen al fondo oscuro del hígado y riñón de los cavia fue positivo en muchos casos, así como también fueron positivos los cultivos de sangre cardíaca, hígado, riñón y médula ósea.

3. *Estudio suerológico de las dos cepas aisladas.*—Las dos cepas aisladas —denominadas H448 y H634— corresponden respectivamente al primer y segundo caso de enfermedad de Weil referidos en esta nota. Los resultados de los ensayos relacionados con la constitución antigénica están expresados en la tabla 3.

Por tanto, las pruebas de leptospirosis nos llevan a identificar las dos cepas de leptospirosis, aisladas de los dos casos humanos de enfermedad de Weil, con la *Leptospira bonariensis*.

IV. — RESUMEN

En la orina de dos pacientes de enfermedad de Weil se han aislado dos cepas de leptospirosis que por las pruebas biológicas y suerológicas fueron clasificadas como *Leptospira bonariensis*. Además, los ensayos de leptospirosis, realizados con el suero sanguíneo de los enfermos, corroboraron que la infección era debida a la *Leptospira bonariensis*.

También debe agregarse —por datos que gentilmente nos fueron suministrados por el Dr. H. R. Rugiero— que el primer enfermo era una persona empleada en la Municipalidad de San Martín (provincia de Buenos Aires), parte de cuyas tareas estaba dedicada a la limpieza de zanjas de desagüe de aguas servidas. El segundo caso, de enfermedad de Weil, era un hombre que un día se dedicó a matar ratas en el fondo de su casa y poco tiempo después enfer-

mó de leptospirosis. En los dos casos la infección leptospirósica tuvo las características de la enfermedad de Weil.

TABLA III

Suero inmune	Cepas o especies ensayadas en la leptospirolisis	Título de la leptospirolisis
H 448	H 448	1/100.000
»	H 634	1/100.000
»	<i>L. bonariensis</i>	1/100.000
»	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	Negativo (*)
»	<i>L. canicola</i> (?)	1/100
<i>L. bonariensis</i>	H 448	1/100.000
» »	H 634	1/100.000
» »	<i>L. bonariensis</i>	1/100.000
» »	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	Negativo
» »	<i>L. canicola</i> (?)	1/100
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	H 448	Negativo
» »	H 634	»
» »	<i>L. bonariensis</i>	»
» »	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	1/100.000
» »	<i>L. canicola</i> (?)	Negativo
<i>L. canicola</i> (?)	H 448	1/100
» »	H 634	1/100
» »	<i>L. bonariensis</i>	1/100
» »	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	Negativo
» »	<i>L. canicola</i> (?)	1/100.000

(*) Indica que el título es inferior a 1/100.

V. — CONCLUSIONES

1. — Por primera vez en la R. A. se han aislado cepas de leptospiras de origen humano.

2. — Las cepas de leptospiras aisladas de la orina de los dos enfermos, de acuerdo a los caracteres biológicos y antigénicos, fueron clasificadas como *Leptospira bonariensis*.

3. — Las leptospirolisinas, contenidas en el suero sanguíneo de los dos pacientes, correspondían a la de la *Leptospira bonariensis*.

VI. — BIBLIOGRAFÍA

1. GRAPIOLO, F.; FOSSATI, V., y PALAZZO, R. 1921. — *Sobre un caso de espiroquetosis ictero-hemorrágica*. *Rev. Sud. Amer. End. Imm. Quím.* **4**: 411-427.
2. FABINI, C., y ESTRELLA, J. C. 1938. — *Estudio clínico y bacteriológico del primer caso de espiroquetosis ictero-hemorrágica descrito en el Uruguay*. *Arch. Uruguayos Med. Cir. Exp.* **13** (5): 537-561.
3. MASON, W. N. M. 1938. — *The incidence of leptospiral infection in rats in Liverpool*. *Journ. Path. Bact.* **46**: 631-634.
4. SAVINO, E., y RENNELLA, E. 1942. — *El cultivo de la Leptospira icterohaemorrhagiae Inada e Ido, 1915. I. Condiciones y factores que rigen su desarrollo « in vitro »*. *Método para la cuenta de leptospiaras. II. Nuevo medio de cultivo*. *Rev. Inst. Bact. « Dr. Carlos G. Malbrán »* **11** (1): 5-18, y *Rev. Soc. Argentina de Biol.* **18** (3): 170-185.
5. SAVINO, E., y RENNELLA, E. 1943. — *Estudios sobre leptospiaras. I. Método para la determinación de leptospirolisinas*. *Rev. Inst. Bact. « Dr. Carlos G. Malbrán »* (en prensa), y *Rev. Soc. Argentina Biol.* **18** (3): 261-263.
6. SAVINO, E., y RENNELLA, E. 1943. b. — *Estudios sobre leptospiaras. II. Leptospira bonariensis (n. sp. ?) aislada en las ratas grises de la ciudad de Buenos Aires*. *Rev. Inst. Bact. « Dr. Carlos G. Malbrán »* (en prensa) y *Rev. Soc. Argentina Biol.* **18** (3): 264-270.
7. SAVINO, E., y RENNELLA, E. 1943. c. — *Estudios sobre leptospiaras. III. Presencia de leptospiaras en los perros de la ciudad de Buenos Aires*. *Rev. Inst. Bact. « Dr. Carlos G. Malbrán »* (en prensa), y *Rev. Soc. Argentina Biol.* (en prensa).
8. SAVINO, E., y RENNELLA, E. 1943. d. — *Estudios sobre leptospiaras. IV. Diagnóstico de leptospirosis en la rata gris*. *Rev. Inst. Bact. « Dr. Carlos G. Malbrán »* (en prensa).
9. TALICE, R. V., y BLOISE, N. L. 1943. — *Primer caso en el Uruguay de ictericia epidémica leptospirósica en el niño*. *Arch. Ped. Uruguay* **14** (4): 209-213.