

ROL DE LAS LEPTOSPIRAS INTERMEDIAS EN ANIMALES Y MEDIO AMBIENTE

ROLE OF INTERMEDIATE LEPTOSPIRES IN ANIMALS AND THE ENVIRONMENT

Investigadores USAL:

Brihuega, Bibiana (bibiana.brihuega@usal.edu.ar); Samartino, Luis

Investigador Externo:

Grune, Sylvia¹

Alumnos practicantes USAL:

Repetto, Agustina; Sbrocco Pérez, Federico

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

Palabras clave: Leptospirosis; Zoonosis; Intermedias.

Keywords: *Leptospirosis; Zoonoses; Intermediates.*

Resumen

La leptospirosis es una enfermedad infecto-contagiosa, aguda y febril causada por una bacteria perteneciente al género *Leptospira* spp. que afecta a los animales silvestres y domésticos, los cuales actúan como fuente de infección para el hombre. En Argentina, es una enfermedad endémica con brotes epidémicos. El ciclo epidemiológico de esta zoonosis es complejo, ya que interactúan varias especies que conviven en biocenosis, tanto animales silvestres como domésticos, siendo el hombre hospedador accidental. Las leptospirosis intermedias pertenecen a un grupo transicional entre las especies patógenas y saprófitas que afianza la denominación de leptospirosis intermedias a este grupo tan particular y de características únicas. Se encuentran más relacionadas con especies patógenas que con las especies saprófitas de este género. Han sido aisladas de casos humanos con cuadros febriles sin diagnósticos determinantes y de casos fatales recientemente, en algunos países. Las leptospirosis antes se encontraban taxonómicamente clasificadas en patógenas y no patógenas. Con estudios filogenéticos se observaron tres clusters: patógenas, intermedias y no patógenas. En la actualidad hay 9 especies patógenas, 5 intermedias y 7 no patógenas. La patogenicidad de las especies intermedias, nuevo grupo de leptospirosis, sigue en debate.

En Argentina, hasta ahora no se habían investigado las leptospirosis intermedias. Podrían jugar un rol importante en casos clínicos de animales de producción sin un diagnóstico de confirmación o estar relacionadas con casos leves de leptospirosis. Los factores de virulencia de las leptospirosis pueden ser específicos, exclusivos de cada grupo, patógenas e intermedias, esto explicaría el polimorfismo de su presentación clínica. En este estudio se trabajó con muestras animales y ambientales para investigar la presencia de cepas de leptospirosis intermedias, por primera vez en nuestro país. Se realizó un

diagnóstico de la situación epidemiológica de este grupo particular de leptospiras, utilizando técnicas bacteriológicas, serológicas y moleculares. Se procesaron 256 muestras animales, 198 bovinas, 58 porcinas, 41 ambientales (agua) de las siguientes zonas: 9 del lago Campus Pilar Universidad del Salvador; 8 del dique Luján; 8 del lago Nordelta, Pilar; 6 de Zárate (2 Zárate Club, 2 Zárate Parque y 2 Zárate Costa); 10 del partido de Hurlingham (5 arroyo Ñandú, 5 río Reconquista), con el objetivo de detectar leptospiras intermedias a través del aislamiento y/o la detección por técnicas moleculares. Del total de muestras procesadas, se lograron obtener 3 cultivos positivos, y se logró aislar por primera vez *Leptospira meyeri*. Por otro lado, no se logró detectar positividad en muestras animales. Para poder caracterizar molecularmente las cepas de leptospiras intermedias aisladas durante este estudio, se diseñaron *primers* específicos para la detección de leptospiras intermedias.

A partir de los cultivos positivos, se procedió a la extracción de ADN genómico utilizando la resina Chelex-100; y se hizo PCR 16S ARNr para poder secuenciar las muestras, empleando *primers* Bak2F y Bak2R. Los perfiles dieron compatible con el grupo intermedias y las muestras fueron enviadas a secuenciar para confirmar la especie. Para la identificación, se utilizó el programa informático Blast de alineamiento de secuencias capaz de comparar una secuencia problema contra una gran cantidad de secuencias. Es la primera vez que se detectan leptospiras intermedias en nuestro país. El estudio de estas leptospiras podría explicar los casos subclínicos y los casos que no llegan a un diagnóstico de confirmación, dado que las herramientas utilizadas hasta el momento no las detectaban. Podemos concluir que existen en Argentina cepas de leptospiras intermedias en el ambiente y aún no se han detectado en poblaciones animales.

Abstract

Leptospirosis is an infectious-contagious, acute and febrile disease caused by a bacterium belonging to the genus Leptospira spp. that affects wild and domestic animals, which act as a source of infection for man. In Argentina, it is an endemic disease with epidemic outbreaks. The epidemiological cycle of this zoonosis is complex, since several species that coexist in biocenosis interact, both wild and domestic animals, man being the accidental host. The epidemiological cycle of this zoonosis is complex, since several species that coexist in biocenosis interact, both wild and domestic animals, man being the accidental host. Intermediate leptospire belong to a transitional group between pathogenic and saprophytic species and the denomination of intermediate leptospire strengthens this very particular group with unique characteristics. They are more related to pathogenic species than to the saprophytic species of this genus. They have been isolated from human cases with febrile symptoms without determining diagnoses and from fatal cases recently in some countries. Leptospire were previously taxonomically classified as pathogenic and non-pathogenic. With phylogenetic studies, three clusters were observed: pathogenic, intermediate and non-pathogenic. There are currently 9 pathogenic species, 5 intermediate and 7 non-pathogenic. The pathogenicity of the intermediate species, a new group of leptospire, is still under debate.

Until now, intermediate leptospire have not been investigated in Argentina. They could play an important role in clinical cases of production animals without a confirmatory diagnosis or be related to mild cases of leptospirosis. The virulence factors of leptospire can be specific, exclusive of each group, pathogenic and intermediate, this would explain the polymorphism of its clinical presentation.

In this study, animal and environmental samples were used to investigate the presence of intermediate leptospira strains for the first time in Argentina. A diagnosis of the epidemiological situation of this particular group of leptospire was made using bacteriological, serological and molecular techniques. 256 animal samples were processed, 198 bovine, 58 porcine, 41 environmental (water) from the areas: 9 Lake Campus Pilar Universidad del Salvador; 8 Dique Luján, 8 Lago

Nordelta, Pilar, 6 Zarate (2 Zarate Club, 2 Zarate Parque and 2 Zarate Costa); 10 in Hurlingham district, (5 Arroyo Ñandú, 5 Río Reconquista) with the aim to detect intermediate leptospires, through isolation and / or detection by molecular techniques. From the total of the processed samples, it was possible to obtain 3 positive cultures. Leptospira meyeri was isolated for the first time. It was not possible to detect positivity in animal samples. In order to be able to molecularly characterize the intermediate leptospira strains isolated during this study, specific primers were designed for the detection of intermediate leptospires. From the positive cultures, the genomic DNA was extracted using the Chelex-100 resin; and 16S rRNA PCR was done to be able to sequence the samples, using Bak2F and Bak2R primers.

The profiles were compatible with the intermediate group, the samples were sent to be sequenced to confirm species. Sequence alignment software Blast capable of comparing a problem sequence against a large number of sequences was used for identification. It is the first time that intermediate leptospires have been detected in our country. The study of these leptospires could explain the subclinical cases and the cases that do not reach a confirmatory diagnosis, since the tools used so far did not detect them. We can conclude that there are intermediate strains of leptospires in the environment in Argentina and they have not yet been detected in animal populations.