

# AISLAMIENTO DE *LEPTOSPIRA* FORT-BRAGG DE UNA RATA DE BARBADOS <sup>1</sup>

Donald M. Myers <sup>2</sup> y C. June Jones <sup>3</sup>

*A partir de tejido renal de una rata (Rattus rattus) de Barbados, se aisló una cepa de Leptospira la que se demostró pertenecía al serotipo fort-bragg del grupo Autumnalis. Este es el primer informe que se conoce sobre aislamiento de dicho serotipo en una especie animal.*

## Introducción

La *Leptospira fort-bragg*, serotipo del grupo *Autumnalis*, se aisló por primera vez en 1952 a partir de material recogido en Carolina del Norte, E.U.A., entre 1942 y 1944, durante los brotes de una enfermedad humana denominada "fiebre de Fort Bragg" (1). Los esfuerzos posteriores realizados en la zona para identificar el reservorio animal de este serotipo resultaron infructuosos (2). El segundo brote humano conocido de leptospirosis causado por el serotipo *fort-bragg* ocurrió en Oregón, y es el tema de un informe reciente de Fraser *et al.* (3). En esta ocasión los animales silvestres capturados en la región del brote tampoco permitieron determinar el huésped-reservorio de estas infecciones. Hasta el presente no se había aislado el serotipo *fort-bragg* de ninguna especie animal; se desconoce su modo de propagación al hombre y no se había notificado ningún aislamiento del serotipo fuera de Estados Unidos.

En 1970 y 1971 se registró en Barbados una incidencia elevada de leptospirosis humana. Se notificaron 88 casos clínicos entre personas hospitalizadas durante este período, 25 de los cuales (28.4%) resultaron mortales (4). Como consecuencia de estas infecciones el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de Barbados, en cola-

boración con el Centro Panamericano de Zoonosis de Buenos Aires, Argentina, llevó a cabo encuestas serológicas para determinar la prevalencia de leptospirosis en los animales domésticos y silvestres de la isla. Las encuestas revelaron que un porcentaje elevado de sueros de animales, principalmente bovinos, contenía aglutininas leptospirales para uno o más serotipos patógenos, de los que se usaron como antígenos en la prueba de aglutinación microscópica (AM). Ocurrieron frecuentes reacciones antígeno-anticuerpo con los serotipos *morris* (cepa Morres), *autumnalis* (cepa Akiyami A) y *orleans* (cepa LSU 2580), del grupo *Autumnalis*, que se emplearon como antígenos. Más del 50% de 667 sueros bovinos recogidos durante 1971 y 1972 reaccionaron a una dilución de 1:100 o superior, con títulos en la AM que llegaron hasta 1:12,800.

Posteriormente, según informa Jones (4), se aislaron 12 cepas de *Leptospira* de tejido renal de 80 roedores capturados en Barbados, que se clasificaron en forma provisoria como sigue: seis del grupo *Ictero-haemorrhagiae*, tres del grupo *Ballum*, dos del grupo *Canicola* y una del grupo *Autumnalis*. Esta comunicación se refiere al aislamiento de esta última cepa del grupo *Autumnalis*, de una rata (*Rattus rattus*), e identificada como serotipo *fort-bragg*.

## Métodos y resultados

La rata fue capturada viva en la plantación Sandford de la parroquia de St. Philip,

<sup>1</sup> Publicado en inglés en el *Bulletin of the Pan American Health Organization*, Vol. IX, No. 3, págs. 208-211 (1975).

<sup>2</sup> Unidad de Leptospirosis, Centro Panamericano de Zoonosis, Organización Panamericana de la Salud, Casilla de Correo No. 3092, Correo Central, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup> Ministry of Agriculture, Science and Technology, P.O. Box 505, St. Michael, Barbados, W.I.

Barbados, en febrero de 1973, cuando se encontraba ganado lechero en la propiedad. La rata se sacrificó y se procedió a la necropsia. El examen microscópico en campo oscuro de orina obtenida mediante punción de la vejiga reveló la presencia de leptospiras. Se hizo siembra de tejido renal mediante la técnica de dilución descrita por Galton *et al.* (5), en tubos de cultivo que contenían 5.0 ml de medio semisólido de Fletcher (Difco), enriquecido con suero de conejo al 10%. Asimismo, para controlar la contaminación, en otra serie de tubos de cultivo inoculados, se incorporaron el análogo de pirimidina, 5-fluorouracil (Hoffmann-LaRoche, Inc.), a una concentración final de 0.2 mg/ml y actidiona a 1 mg/ml.

Los tubos inoculados se incubaron a 30°C y se examinaron semanalmente mediante la microscopia de campo oscuro para determinar la presencia de leptospiras. Al cabo de tres semanas de la inoculación, cuando se detectó la proliferación de leptospiras, se hicieron transferencias sucesivas en medios frescos hasta que la multiplicación de organismos resultó suficiente para adaptarlos al medio líquido de Stuart (Difco). No bien

el cultivo de la cepa aislada de leptospira en el medio de Stuart resultó satisfactorio para emplearlo como antígeno, se ensayó de nuevo la cepa aislada (de rata No. 119) con una serie de antisueros de conejo hiperinmunes a fin de determinar su grupo serológico. A base de las reacciones de aglutinación cruzada, frente a estos antisueros, que eran representativos de los 16 serogrupos patógenos de *Leptospira*, se determinó que la cepa aislada de la rata pertenecía al grupo Autumnalis.

Las inoculaciones experimentales, utilizando tres grupos de seis hamsters de 21 días de edad inoculados con 0.5 ml del cultivo por vía intraperitoneal, causaron la muerte de todos los animales en el término de 4 ó 5 días.

Se preparó en conejos antisuero específico contra la cepa aislada de la rata. Se emplearon como inóculos cultivos en medio semisólido de Fletcher, que fueron muertos por el calor al exponerlos durante 10 minutos a una temperatura de 56°C. Este antisuero se empleó después en las pruebas de aglutinación cruzada con los 13 miembros reconocidos del grupo Autumnalis. Además,

CUADRO 1—Resultados de las pruebas de aglutinación cruzada con la cepa aislada de *Leptospira* de la rata No. 119, los que indican su relación antigénica con los serotipos del grupo Autumnalis.

| Antisueros, enumerados<br>por serotipo y cepa<br>de referencia | Título de aglutinación <sup>a</sup><br>con el antígeno indicado |                                       | Título de aglutinación<br>del antisuero de la cepa<br>aislada 119 frente a las<br>cepas de referencia |
|--|---|---------------------------------------|---|
|  | Antígeno<br>homólogo  | Antígeno<br>de la cepa<br>aislada 119 |   |
| <i>autumnalis</i> , Akiyami A                                  | 102,400   | 51,200                                | 25,600  |
| <i>rachmati</i> , Rachmat                                      | 204,800   | 12,800                                | 800   |
| <i>fort-bragg</i> , Fort Bragg                                 | 102,400   | 51,200                                | 51,200  |
| <i>sumatvana</i> , Sapulette                                   | 3,200   | 6,400                                 | 1,600   |
| <i>bulgarica</i> , Nikolaevo                                   | 204,800   | 102,400                               | 12,800  |
| <i>bangkinang</i> , Bangkinang 1                               | 102,400   | 25,600                                | 12,800  |
| <i>morris</i> , Morres   | 25,600  | 51,200                                | 25,600  |
| <i>sentot</i> , Sentot   | 51,200  | 6,400                                 | 800   |
| <i>louisiana</i> , LSU 1945                                    | 51,200  | 100                                   | 200   |
| <i>orleans</i> , LSU 2580                                      | 25,600  | 3,200                                 | 1,600   |
| <i>djasiman</i> , Djasiman                                     | 25,600  | 800                                   | —   |
| <i>gurungi</i> , Gurung  | 102,400   | 200                                   | —   |
| <i>erinacei-auriti</i> , Erinaceus<br>auritus 670              | 102,400   | 12,800                                | 25,600  |

<sup>a</sup> Recíproco de la dilución más alta que indica una aglutinación de 50% o más.

— Indica menos del 50% de aglutinación a una dilución sérica de 1:100.

para la identificación definitiva se sometió el antisuero a la prueba de aglutinación cruzada-absorción según Kmety *et al.* (6).

En el cuadro 1 se presentan las reacciones de aglutinación cruzada obtenidas entre antígenos y antisueros de la cepa aislada de la rata No. 119 y los miembros individuales del grupo. Al comparar la cepa aislada de la rata con serotipos seleccionados del grupo *Autumnalis* en pruebas recíprocas de aglutinación-absorción, se observó que era serológicamente homólogo del serotipo *fort-bragg*, a base de los criterios taxonómicos actuales (cuadro 2). Los hallazgos de absorción cruzada no recíproca con las otras cepas del grupo *Autumnalis* no contradicen esta clasificación. Se sabe que entre las leptospiras ocurren interrelaciones similares,

razón por la cual se ha suprimido la designación de "biotipo incompleto".

Mediante estudios serológicos se trató de relacionar este aislamiento de *fort-bragg* de una rata con la incidencia elevada de aglutininas *Autumnalis* en el suero de bovinos de Barbados. En estas pruebas se absorbieron con el cultivo de la cepa aislada de la rata No. 119 dos sueros bovinos seleccionados al azar que mostraban títulos de AM de 1:3,200 y 1:6,400 al antígeno de la cepa *fort-bragg* de referencia. Pruebas repetidas de AM practicadas con los sueros absorbidos mostraron que se habían eliminado todas las aglutininas para el cultivo absorbente y el serotipo *fort-bragg*, así como la reactividad cruzada para los serotipos *autumnalis*, *morris* y *orleans*. Estos resultados sugieren,

CUADRO 2—Resultados de las pruebas de aglutinación cruzada-absorción con la cepa aislada de *Leptospira* de la rata No. 119 y serotipos seleccionados del grupo *Autumnalis*.

| Antisueros   |  | Título de aglutinación <sup>a</sup> con el antígeno indicado |                         |                                 |                         |
|--|--|--|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|
|  |  | Antígeno homólogo  |                         | Antígeno del cultivo absorbente |                         |
| Serotipos  | Absorbido con  | Antes de la absorción  | Después de la absorción | Antes de la absorción           | Después de la absorción |
| <i>autumnalis</i> (Akiyami A)                          | 119  | 51,200   | 12,000                  | 51,200                          | 400                     |
| <i>rachmati</i> (Rachmat)                              | 119  | 51,200   | 12,800                  | 12,800                          | 100                     |
| <i>fort-bragg</i> (Fort Bragg)                         | 119  | 51,200   | 400                     | 51,200                          | 100                     |
| <i>sumatrana</i> (Sapulette)                           | 119  | 5,200  | —                       | 6,400                           | 200                     |
| <i>bulgarica</i> (Nikolaev)                            | 119  | 102,400  | 3,200                   | 102,400                         | 800                     |
| <i>bangkinang</i> (Bangkinang 1)                       | 119  | 51,200   | 12,800                  | 25,600                          | 400                     |
| <i>morris</i> (Morres)                                 | 119  | 25,600   | 6,400                   | 51,200                          | 100                     |
| <i>erinacei-auriti</i> ( <i>Erinaceus auritus</i> 670) | 119  | 51,200   | 6,400                   | 12,800                          | —                       |
| 119  | <i>autumnalis</i> (Akiyami A)                          | 51,200   | 1,600                   | 25,600                          | 800                     |
| 119  | <i>rachmati</i> (Rachmat)                              | 51,200   | 51,200                  | 800                             | 800                     |
| 119  | <i>fort-bragg</i> (Fort Bragg)                         | 51,200   | 800                     | 51,200                          | 1,600                   |
| 119  | <i>sumatrana</i> (Sapulette)                           | 51,200   | 51,200                  | 1,600                           | —                       |
| 119  | <i>bulgarica</i> (Nikolaev)                            | 51,200   | 6,400                   | 12,800                          | —                       |
| 119  | <i>bangkinang</i> (Bangkinang 1)                       | 51,200   | 3,200                   | 12,800                          | 200                     |
| 119  | <i>morris</i> (Morres)                                 | 51,200   | 12,800                  | 25,600                          | 200                     |
| 119  | <i>erinacei-auriti</i> ( <i>Erinaceus auritus</i> 670) | 51,200   | 25,600                  | 25,600                          | 400                     |

<sup>a</sup> Recíproco de la dilución más alta que indica una aglutinación de 50% o más.

— Indica menos del 50% de aglutinación a una dilución sérica de 1:100.

con muchas probabilidades, que en la infección bovina de Barbados interviene el serotipo *fort-bragg*.

Para poder establecer el papel que desempeña el serotipo *fort-bragg* en la epidemiología de la leptospirosis en Barbados es necesario continuar las investigaciones. Puesto que aún no se ha identificado el serotipo de *Leptospira* causante de defunciones humanas en ese país, y cabe la posibilidad de que el causante sea el serotipo *fort-bragg*, se justifica el máximo empeño en lograr el aislamiento mediante cultivos de leptospiras de pacientes hospitalizados.

#### Resumen

Se aisló *Leptospira fort-bragg* de tejido renal de una rata (*Rattus rattus*) capturada en una plantación de la parroquia de St. Philip, Barbados. Este es el primer aislamiento notificado de este serotipo del grupo Autumnalis fuera de Estados Unidos y el primer aislamiento de una especie animal. Se presentan datos serológicos que indican que este serotipo puede ser la causa de las infecciones de leptospiras en el ganado bovino de Barbados. □

#### REFERENCIAS

- (1) Gochenour, W. S., J. E. Smadel, E. B. Jackson, et al. Leptospiral etiology of Fort Bragg fever. *Public Health Rep* 67:811-814, 1952.
- (2) Galton, M. M., N. Hirschberg, R. W. Menges, et al. An investigation of possible wild animal hosts of leptospirae in the area of the "Fort Bragg fever" outbreaks. *Am J Public Health* 49:1343-1348, 1959.
- (3) Fraser, D. W., J. W. Glosser, D. P. Francis, et al. Leptospirosis caused by serotype *fort-bragg*: A suburban outbreak. *Ann Intern Med* 79:786-789, 1973.
- (4) Jones, C. J. Preliminary report on the isolation of twelve *Leptospira* serotypes in Barbados. *West Indian Med J* 65:65-68, 1974.
- (5) Galton, M. M., R. W. Menges, E. B. Shotts, et al. *Leptospirosis: Epidemiology, Clinical Manifestations in Man and Animals, and Methods in Laboratory Diagnosis*. U.S. Public Health Service, Washington, D.C., 1962 (U.S.P.H.S. Publication No. 951.)
- (6) Kmety, E., M. M. Galton y C. R. Sulzer. Further standardization of the agglutinin-absorption test in the serology of leptospirae. *Bull WHO* 42:733-738, 1970.

#### *Leptospira fort-bragg* isolated from a rat in Barbados (Summary)

*Leptospira fort-bragg* was isolated from the kidney tissue of a rat (*Rattus rattus*) trapped on a plantation in St. Philip Parish, Barbados. This constitutes the first reported isolation of this Autumnalis group serotype outside of the

United States and its first known isolation from an animal species. Serologic evidence is presented which indicates that this serotype may be the cause of leptospiral infections in Barbadian cattle.

#### Isolamento de *Leptospira fort-bragg* de um rato em Barbados (Resumo)

Isolou-se *Leptospira fort-bragg* do tecido renal de um rato (*Rattus rattus*) capturado numa plantação da Paróquia de St. Philip, em Barbados. Trata-se do primeiro isolamento notificado desse serótipo do grupo Autumnalis

fora dos Estados Unidos e do primeiro isolamento de uma espécie animal. Apresentam-se dados serológicos que indicam que esse serótipo talvez seja a causa de infecções de *leptospirae* no rebanho bovino de Barbados.

#### Isolement de *Leptospira fort-bragg* chez un rat de la Barbade (Résumé)

*Leptospira fort-bragg* a été isolé sur le tissu rénal d'un rat (*Rattus rattus*) qui avait été capturé dans une plantation de la paroisse St. Philip (Barbade). C'est le premier cas notifié d'isolement de ce sérotype du groupe Autumnalis en dehors des Etats-Unis et son

premier isolement connu chez une espèce animale. Les données sérologiques présentées montrent que ce sérotype pourrait être la cause des infections leptospirales dont souffre le bétail bovin de la Barbade.