

AISLAMIENTO DEL SEROTIPO HARDJO Y OTRAS LEPTOSPIRAS DE ARMADILLOS DE ARGENTINA¹

Donald M. Myers,² Alberto Cuba Caparo² y Jaime Payán Moreno³

De 89 armadillos (Chaetophractus villosus) de Argentina se aislaron 13 cepas patógenas de Leptospira interrogans y dos cepas saprofíticas de Leptospira biflexa. Por primera vez se informa del aislamiento e identificación del serotipo hardjo en esta especie animal. Los estudios serológicos, histopatológicos y de cultivos efectuados en el curso de esta investigación indican que el armadillo es un importante huésped-reservorio de leptospiaras.

Introducción

La difundida infección por leptospiaras en la fauna silvestre es una fuente importante de leptospirosis en los animales domésticos y el hombre. La importancia epidemiológica de estos huéspedes portadores se deriva de su capacidad para contaminar el medio ambiente con orina que contiene un gran número de organismos infecciosos. Al respecto, la constante mutación de las condiciones ecológicas han hecho necesario buscar nuevos huéspedes-reservorios para un número siem-

pre creciente de los conocidos serotipos patógenos de *Leptospira interrogans*.

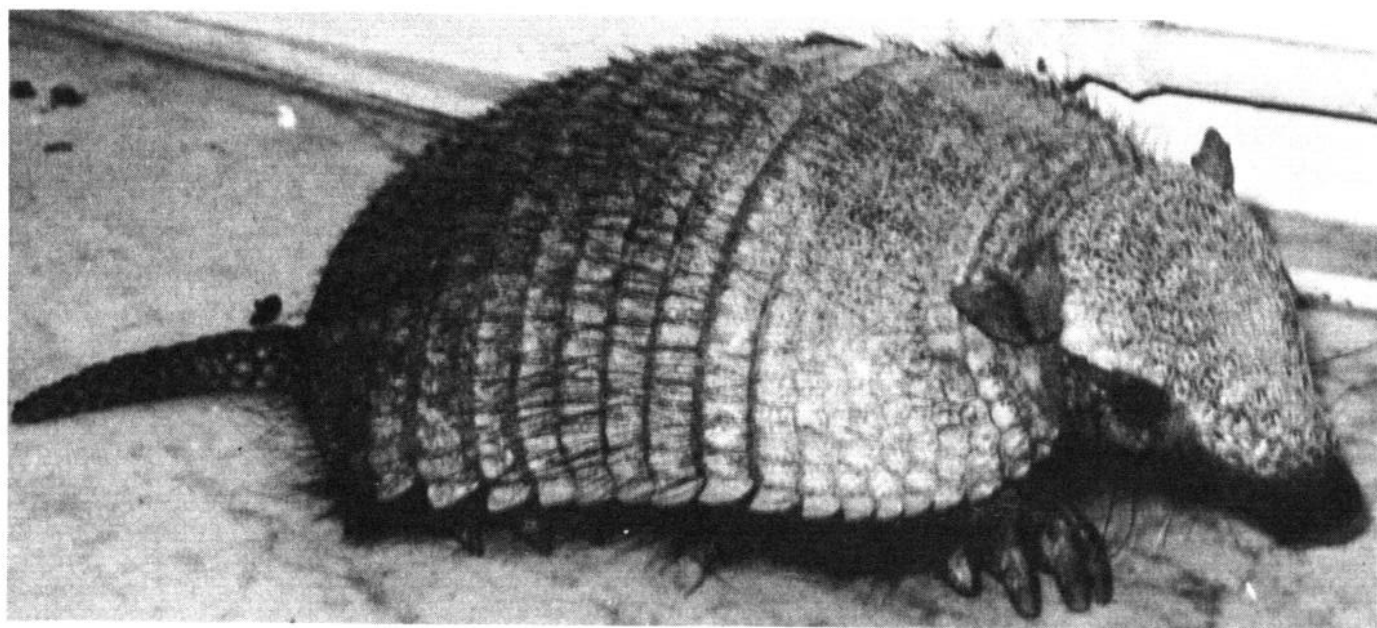
En Argentina abunda el armadillo *Chaetophractus villosus* (véase fotografía). Las tierras de pastoreo del país, que constituyen su habitat, se usan extensivamente para la cría de bovinos. Cacchione *et al.* (1) demostraron por primera vez, a través del aislamiento de una cepa de *canicola*, el probable papel del armadillo como reservorio natural posible de leptospiaras. Posteriormente, Szyfres *et al.* (2) informaron sobre el aislamiento e identificación en armadillos de dos serotipos (*paidjan* y *argentinensis*) del serogrupo *Bataviae*; uno de esos serotipos (*paidjan*) se identificó también en una vaca.

En un estudio más reciente en armadillos realizado por Carillo *et al.* (3) se obtuvieron

¹ Se publica en el *Bulletin of the Pan American Health Organization*, Vol. XI, No. 1, (1977).

² Unidades de Leptospirosis y Patología, Centro Panamericano de Zoonosis, Organización Panamericana de la Salud, Casilla 3092, Correo Central, Buenos Aires, Argentina.

³ Instituto Colombiano de Agricultura y Ganadería, Cali, Colombia.



El armadillo *Chaetophractus villosus*.

24 aislamientos leptospirales de 438 animales capturados. Todos estos aislamientos correspondieron a los serotipos *argentiniensis*, *paidjan* o *bataviae* del grupo *Bataviae*. Sin embargo, el examen de los sueros de los armadillos demostró que sus anticuerpos predominantes eran específicos frente al serogrupo *Hebdomadis* antígenicamente definido. En estudios serológicos conexos en bovinos de Argentina, se ha hallado también aglutininas predominantes para el grupo *Hebdomadis* (4); en estos últimos estudios no se efectuaron aislamientos en cultivos. Mediante técnicas de cultivo perfeccionadas, en un estudio posterior realizado en bovinos de Argentina por Myers y Jelambi (5) se aislaron de riñones bovinos seis cepas de serotipo *hardjo* del grupo *Hebdomadis*. Estos hallazgos sugirieron la posibilidad de que el armadillo fuera un reservorio o huésped conservador de infecciones bovinas.

El presente estudio tuvo por objeto examinar armadillos capturados en explotaciones ganaderas seleccionadas y utilizar técnicas adecuadas de cultivo para aislar todos los serotipos de leptospirosis, incluido el serotipo *hardjo*. Asimismo, se realizaron estudios histopatológicos en aquellos armadillos de los cuales se obtuvieron aislados a fin de determinar mejor si el armadillo es un importante reservorio natural crónico de leptospirosis o solo un huésped accidental.

Materiales y métodos

Los 89 armadillos examinados en este estudio fueron capturados a mano en cuatro establecimientos ganaderos de la zona central de la Provincia de Buenos Aires (Partido de Azul). Se los capturó en 13 grupos de 6 a 10 animales cada uno, de marzo a julio de 1975.

Para las pruebas serológicas se tomaron muestras de sangre de cada animal por punción cardíaca. Los animales fueron sacrificados con éter, para hacerles la autopsia. De cada animal se extrajo asépticamente un riñón entero; una parte de este órgano se usó para el aislamiento de leptospirosis por cultivo

y el resto se fijó con formalina neutral al 10% y se incluyó en parafina. Las secciones histológicas se colorearon empleando los métodos corrientes de coloración y la técnica de nitrato de plata de Warthin-Starry (6) para investigar la presencia de leptospirosis.

Pruebas serológicas

En el examen de los sueros se utilizó la prueba de aglutinación microscópica (AM) descrita por Galton et al. (7). Los antígenos que se utilizaron en esta prueba eran serotipos vivos de *Leptospira interrogans*, cultivados en medio líquido de Stuart (Difco) que contenía suero combinado de conejo normal al 10%. Las cepas utilizadas fueron las siguientes: *pomona* cepa Pomona, *australis* cepa Ballico, *ballum* cepa Castellon 3, *grippityphosa* cepa Moskva V, *tarassovi* cepa Perepelicin, *hebdomadis* cepa Hebdomadis, *bataviae* cepa Van Tienen, *canicola* cepa Hond Utrecht IV, *hardjo* cepa Hardjoprajitno, *wolffi* cepa 3705, *paidjan* cepa Paidjan, *argentiniensis* cepa LT 1019, *pyrogenes* cepa Salinem, *icterohaemorrhagiae* cepa RGA, *sejroe* cepa M 84 y *autumnalis* cepa Akiyami A. Los sueros se diluyeron con solución salina de Sorensen amortiguada con fosfato (pH 7.2) a fin de obtener diluciones finales de suero de 1:50 y 1:100. Los sueros que mostraron una aglutinación de 50% o más con la dilución de 1:100 se probaron nuevamente a fin de determinar sus títulos extremos, utilizando para ello diluciones seriadas de razón dos. En todas las pruebas de AM se usaron volúmenes iguales (0.2 ml) de suspensión antigénica estandarizada y suero diluido y las lecturas se efectuaron a las dos horas de incubación a temperatura ambiente.

En este estudio los títulos de sueros superiores o iguales a 1:50 se consideraron seropositivos. Aunque los títulos de sueros inferiores a 1:100 no se consideran ordinariamente seropositivos, los hallazgos de títulos negativos en la AM en algunos animales con aislamiento positivo de leptospira justificaron que se consideraran seropositivos los sueros de títulos más bajos.

Procedimientos de cultivo

En los ensayos de aislamiento en cultivos se trituró tejido renal y se lo suspendió en nueve partes de solución salina estéril amortiguada con fosfato (pH 7.2). Seguidamente se prepararon diluciones de razón diez de las suspensiones tisulares en solución salina estéril amortiguada y se usó 0.5 ml de cada dilución de 10^{-2} a 10^{-4} para inocular tubos duplicados a los que se había agregado 5.0 ml de medio semisólido de Fletcher (con suero combinado de conejo al 10%). De manera análoga, se usaron las mismas diluciones de tejido renal para inocular tubos duplicados que contenían 5.0 ml de medio de polisorbato 80 de albúmina de bovino (AB-P80)—un medio que utiliza la fracción V de albúmina de bovino (Pentex) preparado de acuerdo con la descripción de Johnson *et al.* (8, 9). A los fines de control de la contaminación se prepararon otros juegos de cultivos mediante la exposición de una dilución salina a la 10^{-2} de tejido renal a la acción combinada de neomicina y furazolidona (en una concentración final de 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cada una) durante un lapso de una hora antes del cultivo (10), luego de lo cual se prepararon diluciones a la 10^{-3} y 10^{-4} en solución salina libre de antibactericos. Una parte (0.5 ml) de cada dilución se añadió entonces a los dos tubos de Fletcher y a los dos tubos de medios semisólidos AB-P80.

Los cultivos se incubaron a 30°C y se examinaron semanalmente durante ocho semanas mediante la microscopia de campo oscuro con el fin de determinar la presencia de leptospiros. Cuando se observó la proliferación se hicieron transferencias sucesivas en medios semisólidos hasta que la proliferación de organismos resultó suficientemente abundante como para adaptarlos a medios líquidos. Se realizaron subcultivos ulteriores en medios líquidos de Stuart o AB-P80 hasta que se obtuvo una proliferación suficiente como para emplearla como antígeno. Estos aislamientos leptospirales se ensayaron luego frente a una serie de antisueros preparados de conejo hiperinmunes a serotipos *Leptospira*

patógenos y saprofiticos a fin de determinar los serogrupos de los aislamientos. Se prepararon antisueros específicos para cada aislamiento de acuerdo con los métodos de Galton *et al.* (7) y se efectuó la identificación definitiva de cepas representativas usando las técnicas de aglutinación-absorción cruzadas de Kmety *et al.* (11).

Resultados

El examen serológico de sueros de 89 armadillos demostró que 42 (47.1%) tenían títulos de anticuerpos de por lo menos 1:50. Treinta y uno de estos sueros de reacción positiva (34.8% de todos los sueros recolectados) demostraron, en la AM, títulos que variaban entre 1:100 y 1:12,800 frente a uno o más de los 16 antígenos leptospirales selectivos. En el cuadro 1 se indican las 42 reacciones positivas y las aglutininas leptospirales predominantes implicadas. Tal como se indica, las reacciones más frecuentes se produjeron frente a serotipos de los grupos Hebdomadis y Bataviae que, en conjunto, representaron el 78.6% de los animales serológicamente positivos.

Se aislaron leptospiros del tejido renal de 15 armadillos (16.8% de los examinados). Las características de aglutinación cruzada recíproca frente a antisueros de los distintos serogrupos leptospirales demostraron que tres de los aislamientos pertenecían al grupo Canicola. En las pruebas de aglutinación-absorción cruzadas se comprobó que estas cepas eran serológicamente homólogas al serotipo *canicola*. Nueve de los otros aislamientos se identificaron como miembros del grupo Bataviae, y sus características similares de reacción cruzada con cepas-tipo demostró que eran antigénicamente idénticos a los serotipos *paidjan*, *argentiniensis* o *bataviae*.

Se comprobó que otro aislamiento (del armadillo No. 72) pertenecía al serogrupo Hebdomadis. Con este aislamiento se efectuaron los ensayos recíprocos de aglutinación-absorción frente a varios serotipos del grupo

CUADRO 1—Prevalencia de seroaglutininas leptospirales predominantes en 89 armadillos capturados en cuatro explotaciones ganaderas de Argentina.

Antígeno	Distribución de títulos ^a					Total de sueros positivos	
	1:50	1:200	1:800	1:3,200	1:12,800	No.	%
	a 1:100	a 1:400	a 1:1,600	a 1:6,400	o más		
Grupo Hebdomadis ^b	14	4	1			19	21.3
Grupo Bataviae ^c	2	3	4	4	1	14	15.7
Serotipo <i>canicola</i>	1		1			2	2.2
Serotipo <i>pomona</i>	1					1	1.1
Otros ^d	6					6	6.7
Total	24	7	6	4	1	42	47.1

^a Recíproco de la dilución más alta que indica una aglutinación de 50% o más.^b Antígenos del grupo Hebdomadis: *hardjo*, *wolffi*, *sejroe* y *hebdomadis*.^c Antígenos del grupo Bataviae: *argentiniensis*, *paidjan* y *bataviae*.^d Reacciones múltiples a dos o más antígenos con la misma titulación.

Hebdomadis que mostraron intensa actividad de aglutinina. Los resultados de estas pruebas se presentan en el cuadro 2. De acuerdo con los criterios taxonómicos actuales que limitan los títulos residuales a 10% o menos de los títulos homólogos previos a la absorción, las pruebas demuestran que este aisla-

miento es serológicamente homólogo al serotipo *hardjo*.

Los dos aislamientos restantes no reaccionaron con ninguno de los antisueros leptospirales y mostraron características compatibles con las cepas saprofíticas de la especie *Leptospira biflexa*.

CUADRO 2—Resultados de las pruebas de aglutinación-absorción cruzadas con aislamiento de *Leptospira* del armadillo No. 72 y serotipos seleccionados del grupo Hebdomadis.

Antisueros		Título de aglutinación ^a con el antígeno indicado			
		Antígeno homólogo		Antígeno del cultivo absorbente	
Serotipos	Absorbidos con	Antes de la absorción	Después de la absorción	Antes de la absorción	Después de la absorción
<i>hardjo</i> (Hardjoprajitno)	72	51,200	1,600	12,800	100
<i>wolffi</i> (3705)	72	51,200	25,600	25,600	200
<i>sejroe</i> (M 84)	72	25,600	25,600	6,400	—
<i>balcanica</i> (1627 Burgas)	72	12,800	3,200	12,800	200
<i>polonica</i> (493 Poland)	72	12,800	6,400	12,800	100
<i>trinidad</i> (LT 1098)	72	25,600	6,400	25,600	200
<i>gorgas</i> (LT 829)	72	12,800	6,400	12,800	100
72 <i>hardjo</i> (Hardjoprajitno)		12,800	400	12,800	—
72 <i>wolffi</i> (3705)		12,800	3,200	6,400	200
72 <i>sejroe</i> (M 84)		12,800	6,400	1,600	400
72 <i>balcanica</i> (1627 Burgas)		12,800	1,600	3,200	—
72 <i>polonica</i> (493 Poland)		12,800	3,200	6,400	100
72 <i>trinidad</i> (LT 1098)		12,800	800	3,200	—
72 <i>gorgas</i> (LT 829)		12,800	6,400	3,200	—

^a 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.

De los 13 animales de los que se aislaron serotipos patógenos *L. interrogans*, en 12 se observaron aglutininas del serogrupo homólogo correspondiente con títulos en la AM de hasta 1:12,800 (cuadro 3).

Hallazgos necroscópicos

El examen macroscópico de los riñones, corazón, bazo y músculos estriados de todos los animales sometidos a autopsia no puso de manifiesto alteraciones patológicas significativas. En dos armadillos de los cuales se aislaron leptospiros se encontró hepatomegalia y marcada metamorfosis grasa. En algunos animales se observó formaciones de 1 a 3 mm de diámetro en los pulmones. Mediante examen microscópico se determinó que estos últimos hallazgos incidentales correspondían a nematodos no identificados.

El examen histopatológico de los riñones de 11 de los 13 armadillos en los que se aislaron leptospiros patógenas reveló alteraciones que permitieron hacer el diagnóstico de nefritis intersticial. Esta alteración no se observó en los dos animales en los que se aislaron cepas de *Leptospira biflexa*. Las lesiones observadas en estos dos animales

eran escasas y consistían en cilindros hialinos en los túbulos colectores y depósitos limitados de material positivo a la coloración PAS (coloración de ácido periódico de Schiff) alrededor de los capilares glomerulares.

El diagnóstico de nefritis intersticial se hizo por la presencia de infiltración linfocitaria inflamatoria, cuya intensidad varió de leve a grave (figura 1). En todos los animales esta lesión fue acompañada de depósitos de material positivo a la coloración PAS en torno de los capilares glomerulares y era más pronunciada en los alrededores de los túbulos contorneados. En los animales en los que la infiltración inflamatoria era más intensa, estos depósitos formaban capas gruesas a nivel de la hoja parietal de la cápsula de Bowman y de los túbulos contorneados. La nefritis intersticial fue intensa en dos animales, moderada en cinco y solo leve en otros cuatro.

La técnica de Warthin-Starry puso de manifiesto la presencia de leptospiros en cuatro de los 13 animales con cultivos positivos en los que se hizo examen histológico. Dos de estos, de los cuales se habían aislado cepas del grupo *Bataviae*, mostraron abundantes leptospiros (figura 2). De los otros dos

CUADRO 3—Títulos de aglutinación microscópica obtenidos con sueros positivos (de 13 armadillos con leptospiros patógenas) cuando se ensayaron frente a varios serotipos *Leptospira interrogans*.

Antígeno	Títulos ^a obtenidos con sueros de cada animal, por número de animal ^b												
	1	2	4	58	60	62	64	65	72	73	74	77	81
<i>canicola</i>	—	—	800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
<i>ballum</i>	—	—	50	—	—	100	—	—	—	—	—	—	—
<i>pyrogenes</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	50
<i>bataviae</i>	1,600	—	—	—	—	400	—	3,200	—	—	3,200	100	—
<i>paidjan</i>	1,600	—	—	—	—	—	—	—	50	—	100	1,600	—
<i>argentiniensis</i>	3,200	—	—	6,400	400	6,400	200	12,800	1,600	1,600	6,400	800	—
<i>hardjo</i>	50	200	50	50	—	100	—	—	100	—	—	—	400
<i>wolffi</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	400
<i>sejroe</i>	—	—	—	—	—	100	—	—	50	—	—	—	400
<i>hebdomadis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	50	—	—	—	100
<i>tarassovi</i>	—	—	—	—	—	50	—	200	—	—	50	—	—

^a Títulos expresados como dilución sérica recíproca frente al antígeno.

^b Animales con cepas del grupo *Canicola*: 2, 4, 81; con cepas del grupo *Bataviae*: 1, 58, 60, 62, 64, 65, 73, 74, 77; y con cepa *hardjo* del grupo *Hebdomadis*: 72. No se incluyen datos de dos animales serológicamente negativos con cepas de *L. biflexa*. No se produjeron reacciones con los siguientes antígenos *L. interrogans*: *autumnalis*, *grippotyphosa*, *pomona*, *australis* e *icterohaemorrhagiae*.

FIGURA 1—Corte de un riñón de armadillo que muestra un marcado espesamiento de la cápsula de Bowman (a la derecha) e infiltración intersticial linfóide (a la izquierda). Técnica de hematoxilina y eosina. Ampliación x 400.

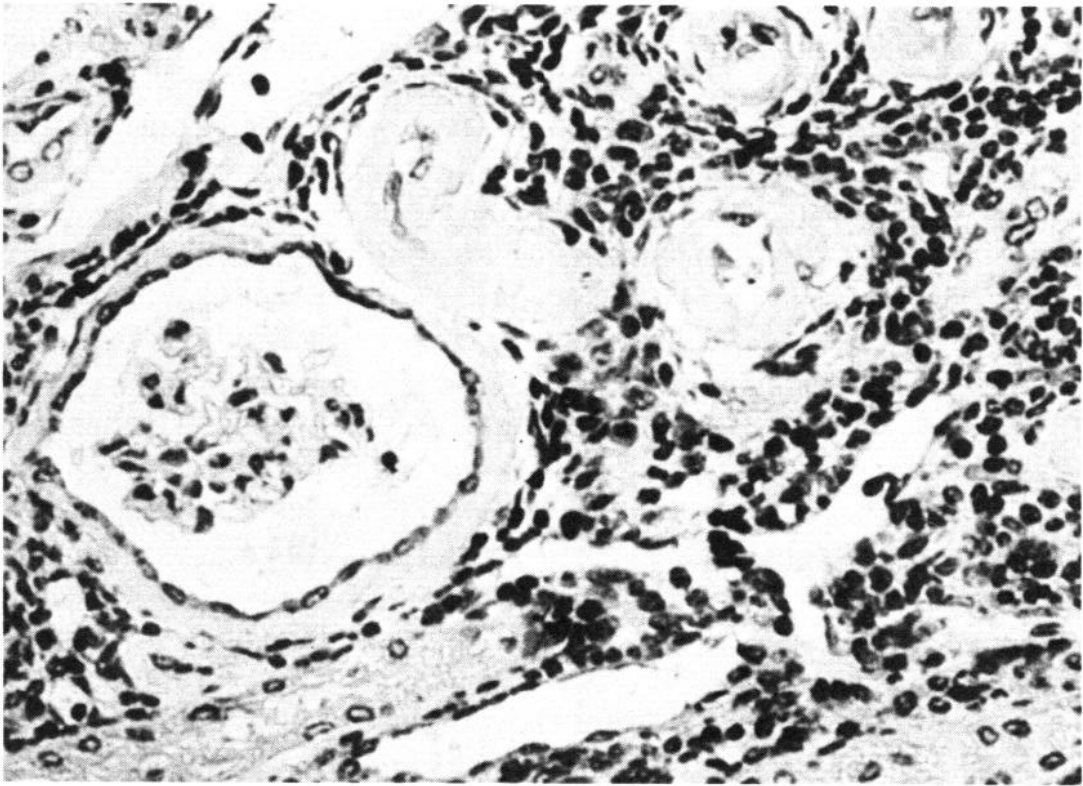
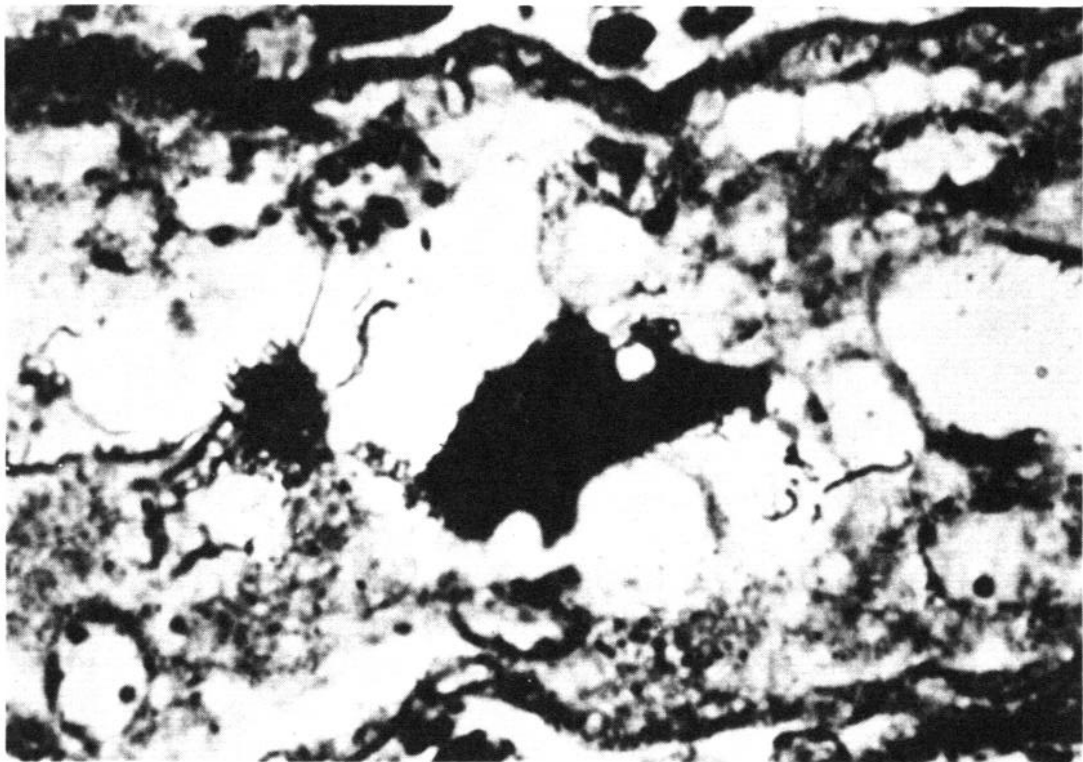


FIGURA 2—Tejido renal de armadillo tratado con coloración por la técnica de tinción de plata de Warthin-Starry; se ve una abundancia de leptospiras dentro de un túbulo convoluto. Ampliación x 1200.



riñones con coloración positiva, uno correspondió al armadillo en el cual se aisló el serotipo *hardjo* y el otro a uno de los animales en los que se aisló *Leptospira biflexa*.

En los 60 riñones de armadillos con cultivos negativos de leptospiras no se observó ninguna evidencia de nefritis intersticial. Sin embargo, en algunos de estos animales se observaron lesiones de menor significación patológica. Estas lesiones consistían principalmente en la presencia de formaciones hialinas y pequeñas áreas de infiltración polimorfonuclear debajo del epitelio de la pelvis renal.

No se observaron diferencias histopatológicas en relación con el peso, el sexo o la cepa leptospiral infectiva de los animales.

Discusión

Los hallazgos en este estudio proporcionan una evidencia adicional en el sentido de que un elevado porcentaje de armadillos en Argentina está infectado con serotipos leptospirales múltiples. Se observó que un total de 16.8% de los animales examinados tenía leptospiras en sus riñones. Aproximadamente el 47% de los sueros de los animales capturados mostró aglutininas leptospirales—predominantes frente a serotipos de los serogrupos Hebdomadis, Bataviae, Canicola y Pomona. Este último porcentaje se basó en el criterio de los autores de que una aglutinación de 50% a un título de 1:50 o más constituía una reacción positiva. Al respecto, cabe señalar que los porcentajes serológicos solos no siempre son indicadores válidos para determinar la prevalencia de infecciones en la fauna silvestre. Por ejemplo, cuando son sometidos a la prueba de AM, los sueros de algunos animales pueden tener resultados negativos para el mismo serotipo con el que en realidad están infectados los animales.

La comprobación de la existencia de un elevado porcentaje de armadillos con aglutininas del serogrupo Hebdomadis en este estudio, similar a los hallazgos notificados por Carillo *et al.* (3), fue interesante debido a

la estrecha relación ecológica de serogrupos entre armadillos y bovinos. En los bovinos de Argentina los porcentajes de reacciones frente a los antígenos del grupo Hebdomadis se consideran elevados; al respecto se hicieron seis aislamientos de serotipo *hardjo* de riñones bovinos (5). En el presente estudio, mediante el uso de métodos de cultivo más perfectos, se aisló el serotipo *hardjo* de un armadillo capturado en una explotación ganadera. Aunque no se puede en este momento evaluar su importancia epidemiológica en relación con la leptospirosis bovina, este aislamiento único es, con todo, el primer aislamiento conocido de *hardjo* en esta especie animal y la identifica como un huésped susceptible a las infecciones por este serotipo.

No se sabe qué significación debe atribuirse al aislamiento de dos cepas leptospirales aparentemente saprofiticas en tejido renal de armadillos con características comparables a *Leptospira biflexa*. Su aparición como posibles contaminantes es improbable por cuanto los riñones fueron extraídos asépticamente de los animales inmediatamente antes del cultivo y el medio de proliferación AB-P80 en el que se multiplicaron había sido con agua destilada y en autoclave. Además, se observaron leptospiras en cortes renales de uno de los dos animales mediante la técnica de nitrato de plata de Warthin-Starry. Leptospiras similares habían sido aisladas en ranas por Diesch *et al.* (12) y por Myers (13) en riñones de equinos aparentemente normales.

El examen histopatológico de los riñones de 13 de los armadillos con cultivos positivos puso en evidencia lesiones renales que iban de leves a graves en 11 de los animales. El aspecto histopatológico de los dos armadillos en los que se aislaron cepas de *Leptospira biflexa* era normal. No se observaron diferencias patológicas marcadas entre los armadillos infectados con cepas del grupo Bataviae, los infectados con cepas del grupo Canicola y el único animal infectado con el serotipo *hardjo*. Las lesiones más significativas—en orden de intensidad y frecuencia—fueron las siguien-

tes: nefritis intersticial crónica, engrosamiento de la cápsula de Bowman, de los capilares glomerulares y de los túbulos renales por la presencia de material hialino PAS positivo. La nefritis intersticial fue intensa en dos de los armadillos examinados con cultivos positivos, moderada en otros cinco y apenas leve en los cuatro restantes.

De acuerdo con Turner (14) y Smith et al. (15) un huésped-portador apto es aquel que abunda, se infecta con facilidad, excreta leptospiros y, sin embargo, permanece sin estar afectado relativamente por la infección. En este sentido, la eficiencia de un portador se puede estimar midiendo la relación entre la tasa del aislamiento en cultivo y la tasa de serología positiva. Si la tasa de serología es muy superior a la tasa de aislamientos en cultivos, se considera que las infecciones no son persistentes y las leptospiros no se excretan durante largos períodos de tiempo. Con este criterio, los hallazgos histopatológicos combinados de nefritis crónica de este estudio y las elevadas tasas de infección basadas tanto en la serología como en los aislamientos en cultivos sugieren que el armadillo constituye un importante huésped-reservorio natural de leptospiros patógenas.

Resumen

En 89 armadillos (*ChaetophRACTUS villosus*) de Argentina se realizó un examen serológico, bacteriológico e histopatológico para deter-

minar la presencia de leptospiros. El 47% de las muestras de suero dio resultados positivos a la prueba de aglutinación microscópica. Las reacciones de aglutinación predominantes correspondieron a los serogrupos Hebdomadis y Bataviae.

De tejido renal se obtuvieron, en total, 15 aislamientos de *Leptospira* (16.8% de los animales examinados). Nueve de estos aislamientos se identificaron como serotipos *argentiniensis*, *paidjan* o *bataviae* del grupo Bataviae. Se comprobó que otros tres aislamientos pertenecían al serotipo *canicola*, grupo Canicola; otros dos eran cepas de *Leptospira biflexa*, y el último aislamiento se clasificó como serotipo *hardjo* del grupo Hebdomadis. Este último hallazgo representa el primer aislamiento de serotipo *hardjo* de esta especie animal.

El examen histopatológico de los riñones de 11 de los animales en los que se aislaron leptospiros patógenas permitió realizar un diagnóstico de nefritis intersticial. Esta nefritis intersticial presentaba el cuadro característico de infiltración linfocítica que pareció intenso en dos animales, moderado en otros cinco y apenas leve en los cuatro restantes.

Estas comprobaciones histopatológicas de nefritis crónica, combinadas con las elevadas tasas de serología positivas y las tasas de aislamientos en cultivos, sugieren que el armadillo constituye un importante reservorio-huésped de leptospiros patógenas. □

REFERENCIAS

- (1) Cacchione, R. A., E. S. Cascelli., E. S. Martínez y J. M. Zuberbuhler. Leptospirosis en animales silvestres: Aislamiento de una cepa de *Leptospira canicola* de un peludo (*ChaetophRACTUS villosus*). *Revista de Investigaciones Agropecuarias* (Buenos Aires) 3:51-55, 1966.
- (2) Szyfres, B., C. R. Sulzer y M. M. Galton. A new leptospiral serotype in the Bataviae serogroup from Argentina. *Trop Geogr Med* 19:344-346, 1967.
- (3) Carillo, C. G., D. M. Myers y B. Szyfres. Bataviae group leptospirae isolated from armadillos in Argentina. *Trop Geogr Med* 24:377-381, 1972.
- (4) Cacchione, R. A. Estado actual de la leptospirosis animal en la República Argentina. *Revista de la Asociación Médica Argentina* 77:33-39, 1963.
- (5) Myers, D. M. y F. Jelambi. Isolation and identification of *Leptospira hardjo* from cattle in Argentina. *Trop Geogr Med* 27:63-70, 1975.
- (6) Sanders, B. J. Animal histology techniques. En: E. C. Melby y N. H. Altman (ed.) *Handbook of Laboratory Science*, CRG Press, Cleveland, Ohio, Pág. 787, 1974.
- (7) Galton, M. M., R. W. Menges, E. B. Shotts, A. J. Nahmias y C. W. Heath. *Leptospirosis*:

- Epidemiology, Clinical Manifestations in Man and Animals, and Methods in Laboratory Diagnosis*. U.S. Public Health Service, Publication No. 951, Washington, 1962.
- (8) Johnson, R. C., y V. G. Harris. Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospires. I. Growth at low temperatures. *J Bacteriol* 94:27-31, 1967.
 - (9) Johnson, R. C., J. Walby, R. A. Henry y N. E. Auran. Cultivation of parasitic leptospires: Effect of pyruvate. *Appl Microbiol* 26:118-119, 1973.
 - (10) Myers, D. M. Efficacy of combined furazolidone and neomycin in the control of contamination in *Leptospira* cultures. *Antimicrob Agents Chemother* 7:666-671, 1975.
 - (11) Kmety, E., M. M. Galton y C. R. Sulzer. Further standardization of the agglutinin-absorption test in the serology of leptospires. *Bull WHO* 42:733-738, 1970.
 - (12) Diesch, S. L., W. F. McCulloch, J. L. Braun y H. C. Ellinghausen. Leptospires isolated from a frog. *Nature* 209:939-940, 1966.
 - (13) Myers, D. M. Serological studies and isolations of serotype *hardjo* and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. *J Clin Microbiol* 3:548-555, 1976.
 - (14) Turner, L. H. Leptospirosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 61:842-855, 1967.
 - (15) Smith C. E. G., L. H. Turner, J. L. Harrison y J. C. Broom. Animal leptospirosis in Malaya. I. Methods, zoogeographical background, and broad analysis of results. *Bull WHO* 24:5-21, 1961.

Isolation of serotype *hardjo* and other leptospirae from armadillos in Argentina (Summary)

A serologic, bacteriologic, and histopathologic examination for leptospires was carried out on 89 armadillos (*ChaetophRACTUS villosus*) from Argentina. Forty-seven per cent of the serum samples yielded positive results when tested by microscopic-agglutination. Predominant agglutination reactions were to the Hebdomadis and Bataviae serogroups.

A total of 15 *Leptospira* isolations (from 16.8 per cent of the animals tested) were obtained from kidney tissue. Nine of the isolates were identified as belonging to the Bataviae group serotypes *argentiniensis*, *paidjan*, or *bataviae*; three other isolates proved to be the Canicola group serotype *canicola*; two others were *Leptospira biflexa* strains; and the last isolate was found to be sero-

type *hardjo* of the Hebdomadis group. The latter finding represents the first isolation of serotype *hardjo* from this animal species.

Histopathologic examination of kidneys from 11 of the animals yielding pathogenic leptospires permitted a diagnosis of interstitial nephritis. This interstitial nephritis, presenting the characteristic picture of lymphoid infiltration, appeared intense in two animals, moderate in five others, and only slight in the remaining four.

These histopathologic findings of chronic nephritis, combined with the high positive serologic and cultural isolation rates, suggest that the armadillo is an important natural reservoir-host for pathogenic leptospirae.

O isolamento do sorótipo *hardjo* e outras leptospiaras de tatus na Argentina (Resumo)

Na Argentina, 89 tatus (*ChaetophRACTUS villosus*) foram submetidos a exame sorológico, bacteriológico e histopatológico para determinar a presença de leptospiaras. Das amostras de soro, 47% deram resultado positivo à prova de aglutinação microscópica. As reações de aglutinação predominantes corresponderam aos serogrupos Hebdomadis e Bataviae.

De tecido renal foram obtidos 15 isolamentos de *Leptospira* (16,8% dos animais examinados). Nove desses isolamentos foram identificados como sorótipos *argentiniensis*, *paidjan* ou *bataviae* do grupo

Bataviae. Constatou-se que três outros isolamentos pertenciam ao sorótipo *canicola* do grupo Canicola; dois outros eram cepas de *Leptospira biflexa*; o último isolamento foi classificado como sorótipo *hardjo* do grupo Hebdomadis. Este representa o primeiro isolamento de sorótipo *hardjo* dessa espécie animal.

O exame histopatológico dos rins de 11 dos animais em que foram isoladas leptospiaras patogênicas permitiu chegar a um diagnóstico de nefrite intersticial. O mal apresentava o quadro característico de infiltração linfóide, que pareceu

intensa em dois animais, moderada em outros cinco e apenas leve nos quatro restantes.

Combinadas com as elevadas taxas de serologia positivas e com as taxas de isolamentos em cul-

turas, sugerem essas constatações histopatológicas de nefrite aguda que o tatu é um importante reservatório de leptospirosas patogênicas.

Isolement du sérotype *hardjo* et autres leptospiroses sur des armadillos en Argentine (Résumé)

Une étude sérologique, bactériologique et histopathologique de 89 armadillos (*ChaetophRACTUS villosus*) en Argentine a été faite pour déterminer la présence de leptospiroses. Quarante-sept pour cent des échantillons de sérum ont donné des résultats positifs lorsqu'ils ont été soumis à l'épreuve de l'agglutination microscopique. Les principales réactions d'agglutination ont eu lieu dans les sérogroupes Hebdomadis et Bataviae.

Au total, 15 isollements de *Leptospira* (soit 16,8% des animaux examinés) ont été obtenus sur des tissus rénaux. Neuf d'entre eux ont été identifiés comme appartenant au groupe Bataviae des sérotypes *argentiniensis*, *paidjan* ou *bataviae*; trois autres appartenaient au groupe Canicola du sérotype *canicola*; deux autres étaient des souches de *Leptospira biflexa*; et le dernier a été identifié

comme étant le sérotype *hardjo* du groupe Hebdomadis. Cette dernière découverte représente le premier isolement du sérotype *hardjo* sur cette espèce d'animal.

L'examen histopathologique des reins de 11 des animaux sur lesquels ont été isolés des leptospires pathogènes a permis de faire un diagnostic de néphrite interstielle. Cette néphrite présentait le tableau caractéristique d'une infiltration lymphoïde qui paraissait sévère chez deux animaux, modérée chez cinq autres et très légère à peine chez les quatre derniers.

Ces résultats histopathologiques de néphrite chronique, conjugués à des taux élevés de serologie positive et d'isollements en culture, semblent indiquer que l'armadillo est un important réservoir-hôte de leptospires pathogènes.