

# LEPTOSPIROSIS BOVINA

Por el Dr. LUIS ECHENIQUE<sup>1</sup> y el Bach. NENUFAR SOSA DE CARUSO<sup>2</sup>

Instituto de Industria Animal

Estudiando en el Instituto, problemas relacionados con sus cometidos docentes y de investigación, hemos tenido oportunidad de aislar gérmenes espiroquetales, del ternero y del cobayo.

El espiroquete encontrado en un absceso retrofaríngeo del cobayo será motivo de una comunicación posterior, siendo la presente nota dedicada al espiroquete aislado del bovino. Los gérmenes espiralados merecieron especial atención desde el siglo pasado, por parte de destacados investigadores, entre los que se destacó Noguchi cuya base de clasificación efectuada en el año 1915, sirve hoy de norma y es adelantada por Bergey's (2) con ligera modificación.

Entre los gérmenes espiralados, Noguchi estudió profundamente uno de sus géneros que a nosotros nos interesa particularmente en esta nota: el género **Leptospira**.

Según C. M. Barzizza y A. Manso Soto (1), está formado por especies patógenas y saprofitas, cuyos elementos miden 7 micrones a 14 micrones de longitud, presentando numerosas espiras toscas y terminando sus extremidades en forma de gancho. Son lisadas por las sales biliares al 10% pero resisten a la saponina en igual concentración. La especie típica es la *Leptospira ictero hemorragide*. Noguchi al estudiar la fiebre amarilla, encontró una *Leptospira* y creyó que era el agente causal de la enfermedad, sin embargo, los hechos comprobaron que la *Leptospira* en-

---

1) Jefe del Laboratorio de Microbiología Industrial del Instituto de Industria Animal.

2) Auxiliar Ayudante de Profesor del mismo Instituto.

contrada por él o sea la ictero-hemorrhagide, era el agente de la enfermedad de Weil.

Sanarelli (3) en uno de sus trabajos, dice que al morir Noguchi en 1928 todavía estaba convencido de que la *Leptospira* causaba la fiebre amarilla lo que tendería a demostrar que los conocimientos sólidamente adquiridos en leptospirosis, son relativamente recientes.

P. Rossi y Mme. Kolochine (4) al estudiar las leptospirosis de los grandes animales domésticos dice: "la leptospirosis del hombre es conocida desde hace muchos años, mientras que la de bovinos, cerdos, equinos, es recientemente conocida".

Schmitt Georges (5) en "Contribución al estudio de las leptospirosis animales", alude a la leptospirosis del caballo, en el año 1930 y a la de la oveja, cabra y lechones en 1933. Después al tratar la leptospirosis bovina se refiere al trabajo de Zemo-Koww en 1935 que culmina 5 años más tarde al aislar la *leptospira ictero-hemoglobinuræ*. El mismo concepto expone el Prof. Darío Pellegrini (8), cuando dice que en Estados Unidos y Australia se ha difundido la leptospirosis bovina en los diez últimos años. Además de estos países ha sido constatada en Rusia, Israel, Inglaterra, Algeria, Tunisia y Argentina. Según Rossi y Kolochine (4), no ha sido aislada en Francia, el agente causal, pero Schmitt Georges (5) señala que Dardillat en 1947 describe una enfermedad de los terneros cuya sintomatología se aproxima a la de la ictero-hemoglobinuræ infecciosa, sin aportar sin embargo, más que pruebas serológicas.

En Argentina, Quevedo, Savino y Renella (6) hace algunos años y recientemente Bernardo Epstein (7) comprueban y describen esta enfermedad del ganado. En el Uruguay no tenemos conocimiento de su comprobación hasta ahora, pero señalamos el hecho de que el Dr. Antonio Cassamagnaghi, ex-director del Instituto de Bacteriología de la Facultad, dió a publicidad la microfotografía de un frotis de sangre de bovina, en la que se destacaba netamente la presencia de un germen espiralado.

## MATERIAL Y METODO

### Aislamiento realizado por nosotros.

En el mes de Diciembre de 1957, el Dr. Héctor Arévalo nos envía desde Rosario, Departamento de Colonia un hueso de ternero de veinte días de edad. Sorprende la coloración intensamente amarilla, tinte icterico de la superficie de este hueso, incluyendo restos de tejido conjuntivo, tendones y ligamentos. El tinte icterico tomaba un aspecto uniforme.

Se siembra la médula ósea en varios tubos de Tarozzi, caldo y gelosa simples y se llevan a 37° en estufa. Hasta varios días después los medios sembrados se mantienen sin cultivar. Hacia los ocho días de la siembra, mientras los medios en gelosa y caldo simples se mantienen negativos, se nota en algunos tubos de Tarozzi, una leve opalescencia sin desprendimiento de gas.

Los frotis de tubos de Tarozzi revelan un elemento que no toma el Gram, se tiñe con la fuscina y la forma es a veces paucilar o alargada, dejan la impresión de duda respecto de si puede tratarse o no, de un espiroquete. Se hacen frotis empleando el método de tinción, Fontana-Tribondeau por medio del cual se puede apreciar la forma claramente espiralada del germen que ha cultivado en los tubos de Tarozzi. Se sigue la observación hasta los 15 días en que se comprueba la negatividad en gelosa y caldo simples y la cultura pura en Tarozzi.

### **Repicados.**

Las culturas del Tarozzi original se repican a Tarozzi, gelosa y caldo simples, resultando negativos. Se repiten los ensayos de repicados del Tarozzi original a tubos de Tarozzi recién preparados, resultando igualmente negativos.

### **Medios de cultivo.**

El medio de cultivo empleado inicialmente por nosotros al hacer las siembras de médula ósea es el Tarozzi preparado del siguiente modo: en un tubo de ensayo de veinte centímetros de altura por dos centímetros de diámetro, ponemos dos o tres trocitos de hígado fresco de bovino hasta una altura de 4 a 5 cmts. agregamos caldo simple con Ph 7.2 a 7.4 y llevamos al autoclave a 120° durante veinte minutos. Se prueba su esterilidad antes del uso. Tomando en cuenta el hecho de que la cepa de *Leptospira* bovina sólo cultivaba una vez en el medio Tarozzi, buscamos los medios aconsejados por quienes como Noguchi tuvieron éxito en la cultura del *treponema-palidum* primero, y de *leptospira* después. Este sabio empleó el suero de conejo diluído, en el que ponía un trozo de riñón fresco y estéril, con excelente resultado y posteriormente otros investigadores han empleado suero de bovino, equino, etc., tratando de favorecer el crecimiento del germen. Barzizza (1) ya mencionado, dice que Noguchi tuvo los mejores resultados, utilizando sangre citratada de animales infectados, que sembraba en suero de conejo mezclado con solución Ringer y plasma citratado de conejo, todo bajo una capa de vaselina.

Nosotros utilizamos el siguiente medio: Caldo Difco cuyo Ph fué llevado a 7.5, se puso bajo capa de vaselina, luego se esterilizó. En el momento del empleo, se agregaron  $3\frac{1}{4}$  de c.c. de suero de conejo inactivo por cada 8 ó 9 c.c. (ocho ó nueve centímetros cúbicos) de medio. La cepa de Leptospira fué repicada exitosamente del Tarozzi original a este medio, a la vez que el repicado a otro Tarozzi era negativo.

La microfotografía N° 1, muestra las leptospiras de cultivo.

Algunos autores creen que el suero de conejo tiene un factor de crecimiento de la leptospira y llegan a emplearlo solamente en dilución en agua de canilla como es el medio de Uhlenhuth.

### **Inoculación de lauchas.**

La médula ósea del ternero fué triturada y emulsionada con suero fisiológico en un mortero. De esta emulsión se inoculan a dos lauchas por vía subcutánea, con medio centímetro cúbico. Varios días después se nota gran excitación, sobre todo en una de las lauchas, que se manifiesta por un ruido persistente con los dientes. Se hace un frotis de orina a los quince días de la inoculación, encontrándose gran cantidad de leptospira, como lo muestra la microfotografía N° 2. A los veinticinco días muere esta laucha presentando un cuadro congestivo generalizado, hipertrofia ganglionar, pero sin ofrecer tinte icterico. La leptospira se encuentra en los frotis hechos.

La otra laucha inoculada presenta una gran similitud con la primera. La presencia de leptospira en la orina va aumentando hasta que alrededor de los dos y medio meses empieza a decrecer hasta que a la semana siguiente sólo se encuentran dos elementos y después desaparece totalmente ante exámenes repetidos y comprobados. A la vez se nota hipertrofia de los ganglios precurales.

A los tres y medio meses, se sacrifica esta laucha, presentando a la autopsia un tinte sub-ictérico en el lado interno de la piel; ganglios precurales hipertrofiados. Bazo aumentado de volumen, con un puntillado blanco amarillento. Este puntillado está presente también en el riñón. En los frotis se ve un diplococo Gram-positivo. Como en los casos citados por Sanarelli (3), aquí existiría un germen que complica el cuadro. Se hacen siembras de hígado y riñón en caldo-suero de conejo bajo capa de vaselina. En este medio crece la leptospira junto al diplococo. Con un triturado de órganos (riñón, hígado) en suero fisiológico se inoculan dos lauchas por vía subcutánea, con  $\frac{1}{2}$  c.c.

Se controla la eliminación de leptospira por la orina, haciendo frotis diariamente, que se tiñen por el método Fontana-Tribondeau. Los frotis son negativos durante los primeros días pero a los 8 días aparecen por centenares, con todas sus características morfológicas y tintoriales, como se aprecia en la foto N° 3. En las dos lauchas se observó la misma evolución.

### PRESENTACION Y SINTOMAS EN EL BOVINO

Estudiando la leptospirosis de los animales domésticos, Rossi y Kolochine (4) presenta la leptospirosis bovina en dos formas, según opinión del Prof. Verge: la ictero-hemoglobinúrica y la forma inaparente. Se refieren después a los siguientes tipos de presentación:

1°) **Forma grave:** con fuerte ictericia, anemia, alta hipertermia, nefritis, leche roja, dando en dos a cinco días una gran mortalidad que afecta sobre todo a los terneros de dos a tres meses de edad.

2°) **Forma con fiebre:** orinas oscuras, leche coloreada de sangre; cura frecuentemente en dos a tres semanas.

3°) **Forma febril:** sin ictericias, ni nefritis, pero con disminución marcada de la secreción láctea; cura habitual.

4°) **Forma ligera:** con fiebre moderada y reducción pasajera de la secreción láctea.

También ha sido descripta en Tunisie por Mlle. Gordier (9), una forma cutánea, con aparición de edemas en la cara, oreja y sobre la mama. La piel se seca, se hace quebradiza y se parece a ciertas quemaduras, señalando además el aborto como una complicación frecuente.

En el caso de Rosario, dice el Dr. Arévalo que murieron animales en dos lecherías del mismo propietario, pero situadas en puntos diferentes y en un material anterior, correspondiente a la zona de Colonia Suiza murieron también varios terneros de una a dos semanas, después de una evolución rápida (unas 24 horas), con presentación de abatimiento, anorexia, hematuria e ictericia. Corresponde en consecuencia esta forma de leptospirosis, a la descripta por los autores mencionados en primer término.

### ANATOMIA PATOLOGICA

**Lesiones macroscópicas.** El cadáver puede presentar según Schmitt-Georges (5), ictericia intensa y ulceraciones cutáneas y mucosas. En la cavidad peritoneal, líquido rosado y a veces también en la cavidad torácica. Los músculos son pálidos y amari-

lentos, el hígado generalmente hipertrofiado, friable, color ocre amarillento. Vesícula biliar dilatada y con gran cantidad de bilis color verde oscuro, pardo o negruzca. Enteritis catarraí. Pulmones edematizados con hemorragias sub-pleurales. Riñones rodeados de una infiltración serosa, parénquima rojo oscuro y algunas veces con hemorragias puntiformes.

Vejiga con orina color rojo cereza o rojo oscuro. Bazo normal o ligeramente hipertrofiado, así como también los ganglios linfáticos, hipertrofiados.

Según Rossi - Kolochine - Erber (4), el color icterico sería amarillo naranja y no amarillo verdoso, como en la ictericia catarraí. La leche presenta color rojizo, característico.

En cuanto a la localización de la leptospira se reconoce que tiene predilección especialmente por el riñón, donde aparece netamente en los cortes histológicos y también el hígado y otros órganos con menos frecuencia.

En el caso que motiva esta nota, nos dice el Dr. Arévalo que ha notado ictericia, vasos con poca sangre, hidremia acentuada, vejiga con contenido sanguinolento, riñones turgentes, musculatura con aspecto de carne cocida, intestinos congestionados, con contenido rosado y líquido, bazo algo blando, exangüe, pulmón edematoso.

#### **Eliminación.**

Los bovinos infectados eliminan la leptospira por diferentes vías, como fecas y sudor, pero sobre todo por la orina y la leche, creando nuevos focos de contaminación. Por esta causa esta grave zoonosis repercute intensamente en la salud pública y la economía del país. Siendo trasmisible al hombre, deben tomarse las medidas adecuadas a su preservación y en cuanto a la propagación entre el ganado, el conocimiento de la evolución de la enfermedad puede ser factor muy eficiente que tienda a limitarla y evitarla. Las formas inaparentes señaladas por el Prof. Verge pueden despistarse si se tiene en cuenta el examen de la orina, de la leche, etc., los abortos en apariencia sin justificación etiológica; la disminución de la producción láctea, etc., pueden inducir a la búsqueda de la leptospira y como consecuencia a la determinación del rol patógeno que desempeña.

El hecho de haberse constatado en varios tambos, habla con elocuencia de las grandes pérdidas económicas que produce en el país y que anteriormente pudieron ser atribuidas a otros factores. La manipulación continuada por parte del personal, envases, sogas, terneros, bretes, etc., multiplica los focos infectados por la eliminación de los animales enfermos y crea posibilidades nuevas que conspiran contra la economía de la explotación.

### CONCLUSIONES

1º) En el presente trabajo se describe la presencia de *Leptospira* en los bovinos de tres tambos del Dpto. de Colonia.

2º) En la laucha se controla la eliminación de *Leptospira* por la orina hasta dos meses y medio, después de la inoculación de médula ósea de bovino.

3º) El medio de cultivo Tarozzi ha sido útil para la multiplicación en la primera siembra, pero no es apto para la multiplicación en los subcultivos o repiques. En cambio el suero de conejo, agregado al medio de cultivo, ya descripto, sí facilita la multiplicación de los repiques.

4º) La presencia de la Leptospirosis bovina en el país, plantea graves problemas para la salud humana y la economía del país.

### SUMMARY

1) In this paper, the presence is reported of *Leptospira* in the cattle on three dairy-farms in the Department of Colonia.

2) *Leptospira* are found in the urine of mice until two and a half months after inoculation with bone marrow of bovines.

3) Tarozzi's medium has proved useful for multiplication in primary cultures, but is not suitable for successive cultures. However, rabbit blood serum added to the medium mentioned facilitates multiplication of successive cultures.

4) The presence of bovine leptospirosis in the country signifies a serious menace to human health and to the economy of the nation.

### RESUME

1º On décrit dans le présent travail la présence de *Leptospires* chez les bovins de trois laiteries du Département de Colonia (Uruguay).

2º On contrôle chez la souris l'élimination du *Leptospire* par l'urine jusque deux mois et demi après l'inoculation de moelle osseuse des bovins.

3º Le milieu de culture de Tarozzi a été utile à la multiplication de la première culture, mais n'est pas apte à la multiplication dans les sous-cultures ou repiquages. Par contre, le sérum de lapin ajouté au milieu de culture mentionné, facilite la multiplication des repiquages.

4º La présence de *Leptospirosis* bovine dans le pays pose de graves problèmes pour la santé de la population et l'économie de la Nation.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1) BARZIZZA, C. M. y MANSO SOTO A. — *Microbiología*. Tomo 11. 7ª edición. Año 1956.
- 2) BERGEY'S. — *Manual of Determinative Bacteriology*. 6ª edition. (1948). Pág. 908-954. Juillet (1929).
- 3) SANARELLI, G. y PERGHER, G. — *Annales de L' Institute Pasteur*.
- 4) ROSSI, P. y KOLOCHINE ERBER. — *Bulletin de la Societé de Ciencias Veterinaires de Lyon*. Años (1952) - (1953).
- 5) SCHMITT GEORGES. — *Contribution a l'étude des leptospirosis animales*. Recueill de Medicine Veterinaire de l' Ecole D'Alfort. Pág. 1-50. (1950).
- 6) SAVINO, E. RENELLA, E. — *Rev. del Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos Malbran"*. (1945|48).
- 7) EPSTEIN, B. — *Leptospirosis bovina en la Argentina*. Patología y reproducción en hamster y cobayos. C. Vet. Vol. 11, Nº 6. Pág. 617-628. (1957)
- 8) PELLEGRINI, D. — *Leptospirosis degli animali domestici e loro importanza zoonosica ed economica*. Pág. 1009-10043. Noviembre 1954.
- 9) CORDIER, G. — *Leptospirosis bovina en Tuniese*. Recueill de Med. Vet. de l' Ecole D'Alfort, pág. 1-15 (1953).
- 10) GAYOT, G. — *Rev. Med. Vet.* pág. 415. (1955).



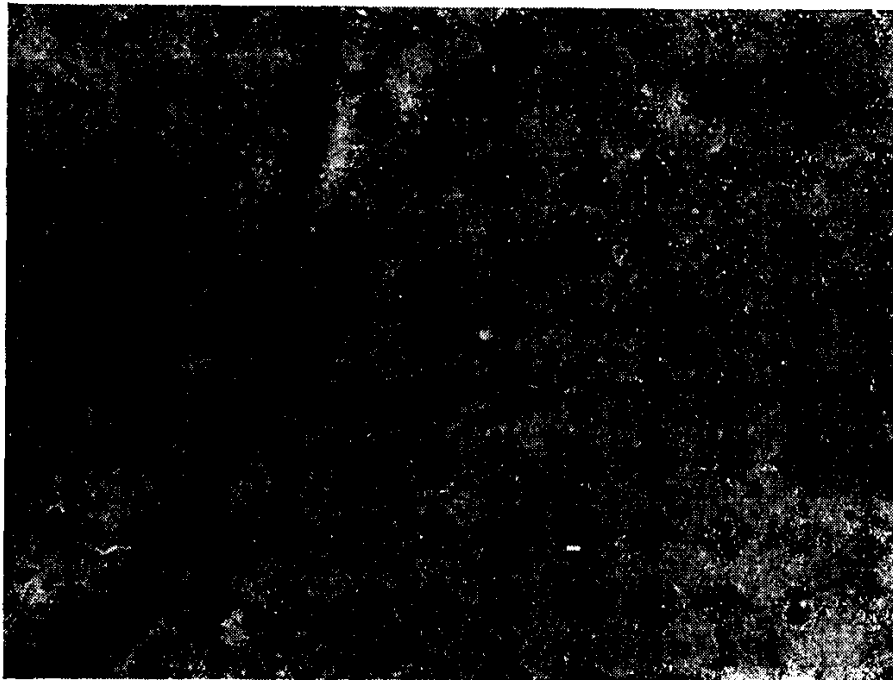


Foto N<sup>o</sup> 1. Leptospiras en medio con Caldo Simple, adicionado de suero de conejo inactivado.



Foto N<sup>o</sup> 2. Abundancia de leptospiras formando verdaderos ovillos, eliminadas por la orina de lauchas.



Foto N° 3. Leptospiras, eliminadas por la orina de iau-  
cha, donde se aprecian sus extremos afilados.

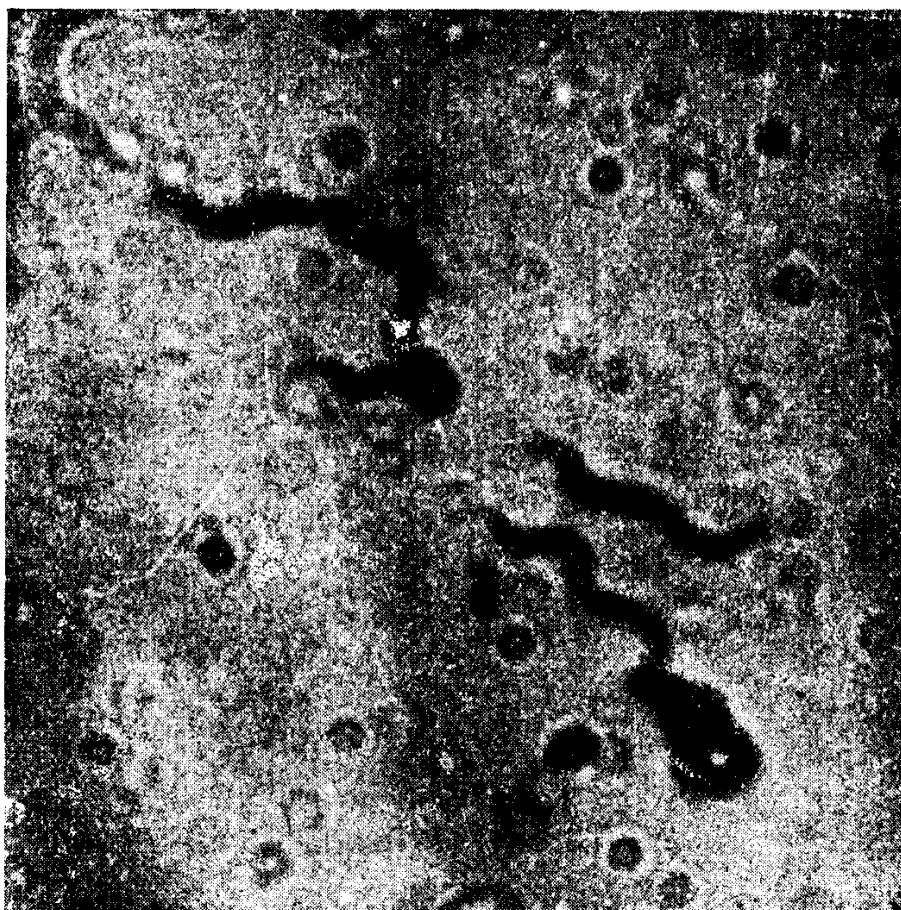


Foto N° 4. La foto anterior a mayor aumento.