

### AISLAMIENTOS HUMANOS Y AMBIENTALES DE LEPTOSPIRA EN URUGUAY

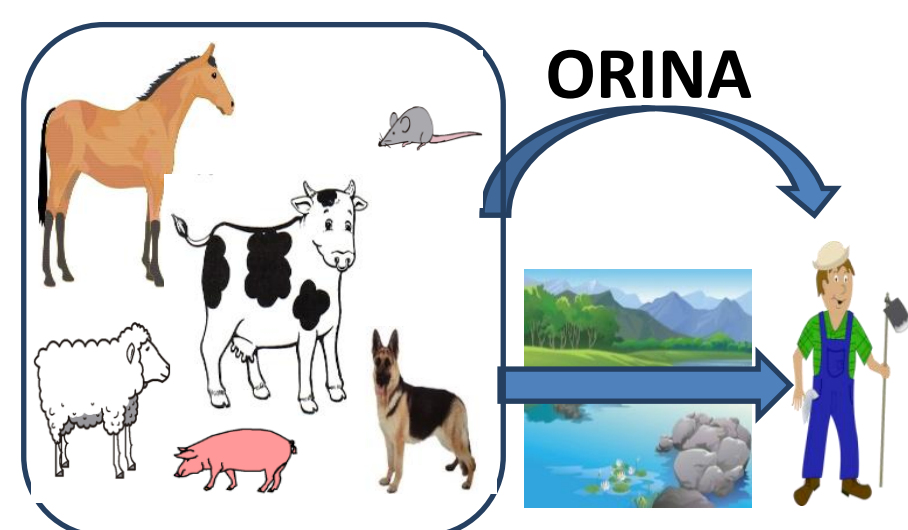
Meny P<sup>1</sup>, Quintero J<sup>1</sup>, Ifran S<sup>1</sup>, Trindade CNdR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Higiene, Facultad de Medicina <sup>2</sup>UdelaR, Uruguay. <sup>2</sup> Instituto Oswaldo Cruz, RJ, Brasil.

## Introducción

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica ampliamente extendida, con distribución mundial, causada por espiroquetas del género *Leptospira*. En Uruguay se estima que ocurren anualmente más de 500 casos humanos, principalmente infectados a partir del **reservorio bovino** y de otros animales de producción, en medio rural.

El diagnóstico se realiza habitualmente por métodos indirectos, y sólo recientemente por amplificación de ADN sobre muestras de sangre de los primeros días de enfermedad (1)

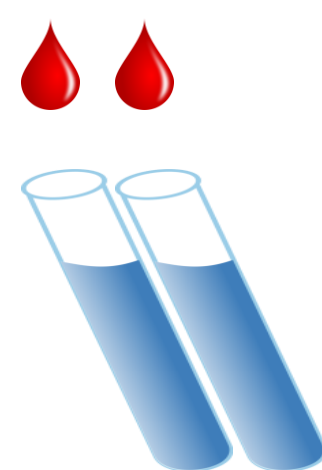


## Objetivos

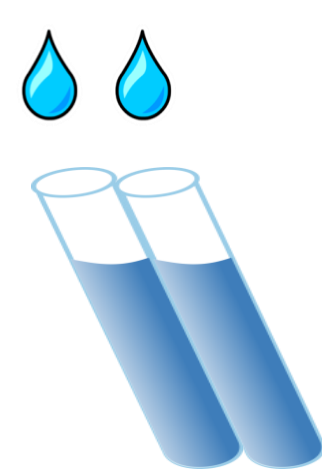
Aislar e identificar cepas humanas de *Leptospira* a partir de hemocultivos, y cepas del ambiente en que habita la población en riesgo

## Metodología

### Cultivos para aislamiento:

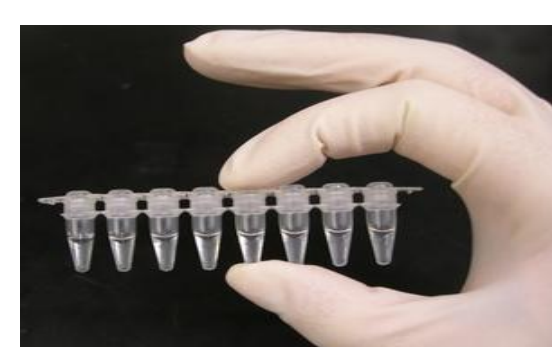


50 ul **SANGRE** de los primeros días de enfermedad con EDTA en medios EMJH y Fletcher



500ul de **AGUA AMBIENTAL** recogida en zonas de riesgo, filtrada por 0.22um y sembrada en medio EMJH y Fletcher

### PCR



Los cebadores utilizados amplifican secuencias del: gen *LipL32*, gen *16S ribosomal* y gen *23S*

**MLVA (2):** Se realizó en seis de los siete aislamientos humanos, obteniéndose un perfil VNTR para cada uno. Se utilizaron tres pares de cebadores para los loci VNTR 4, VNTR 7 y VNTR 10. Ellos permiten diferenciar entre cepas de *L. interrogans*, *L. borgpetersenii* y *L. kirschneri*.

**PFGE (3):** A dos aislamientos humanos se les aplicó esta técnica. Para la digestión se utilizó la enzima de restricción Not I.

También fueron tipificados por **MLST (4)** utilizando cebadores para los genes *housekeeping*: *glmU*, *pntA*, *pfkB*, *caiB*, *mreA*, *sucA* y *tpiA*.

## Resultados y Discusión

### ➤ AISLAMIENTOS HUMANOS

- Los siete aislamientos resultaron **positivos** para el gen *LipL32*, lo cual nos sugiere que son leptospiras patógenas.
- El AH1 fue identificado como perteneciente al serogrupo Pomona serovar Pomona (Lab. Ref. Queensland, Australia.)

Tabla. Perfil VNTR para los aislamientos humanos.

Aisla-miento	Número de copias para cada locus			Especie Serogrupo Serovar
	VNTR 4bis	VNTR 7bis	VNTR 10 bis	
AH2	5	0	10	<i>L.interrogans</i> Pomona Kennewiki
AH3	1	10	3	<i>L. interrogans</i> Canicola Canicola Canicola Portlandvere
AH4	3	2	11	<i>L. interrogans</i> Sejroe Wolffi/Sejroe Romanica
AH5	1	5	4	<i>L. kirschneri</i> (Australis Ramisi)

- El patrón obtenido con PFGE para AH2 coincidió con el patrón de referencia de la cepa serogrupo Pomona serovar Kennewiki y para AH3 con los serovares Portlandvere y Canicola (ambos serogrupo Canicola) no presentando ninguna diferencia entre ellos.

- Con MLST el ST de AH2 fue **140** y para el AH3 fue **37**. En la base de datos *PUBMLST Leptospira* el serogrupo Pomona serovar Pomona está incluido en este mismo ST. Mientras que para el ST 37 encontramos al serogrupo Canicola serovar Canicola.

### ➤ AISLAMIENTOS AMBIENTALES

De las 6 cepas ambientales, uno de ellos fue diferenciado del resto ya que no amplificó con 23S. Se secuenció el segmento amplificado 16S y resultó *Leptospira meyeri*. El resto de las cepas se han identificado como *Leptospira biflexa*

## Conclusión

En este período de seis años los hemocultivos realizados fueron aproximadamente 300, de los cuales siete de ellos fueron positivos por PCR 16S y/o PCR LipL32 y VNTR. Esto nos da un porcentaje de recuperación de un poco más de 2%. Los datos preliminares de este trabajo sugieren una diversidad de cepas circulantes, que importa relacionar con los aislamientos de origen animal, especialmente bovinos, para obtener información epidemiológica relevante en términos de prevención

## Bibliografía

1. González S, Varela G y col. J Infect Dev Ctries. 7: 941-945 (2013).
2. Salaün L, icardeau M y col. J Clin Microbiol. 44: 3954-3962 (2006)
3. Galloway RL, Levett PN. Am J TropMedHyg 78: 628-632 (2008)
4. Boonsilp S, Thaipadungpanits J y col. PLoS Negl Trop Dis 7(1): (e1954)