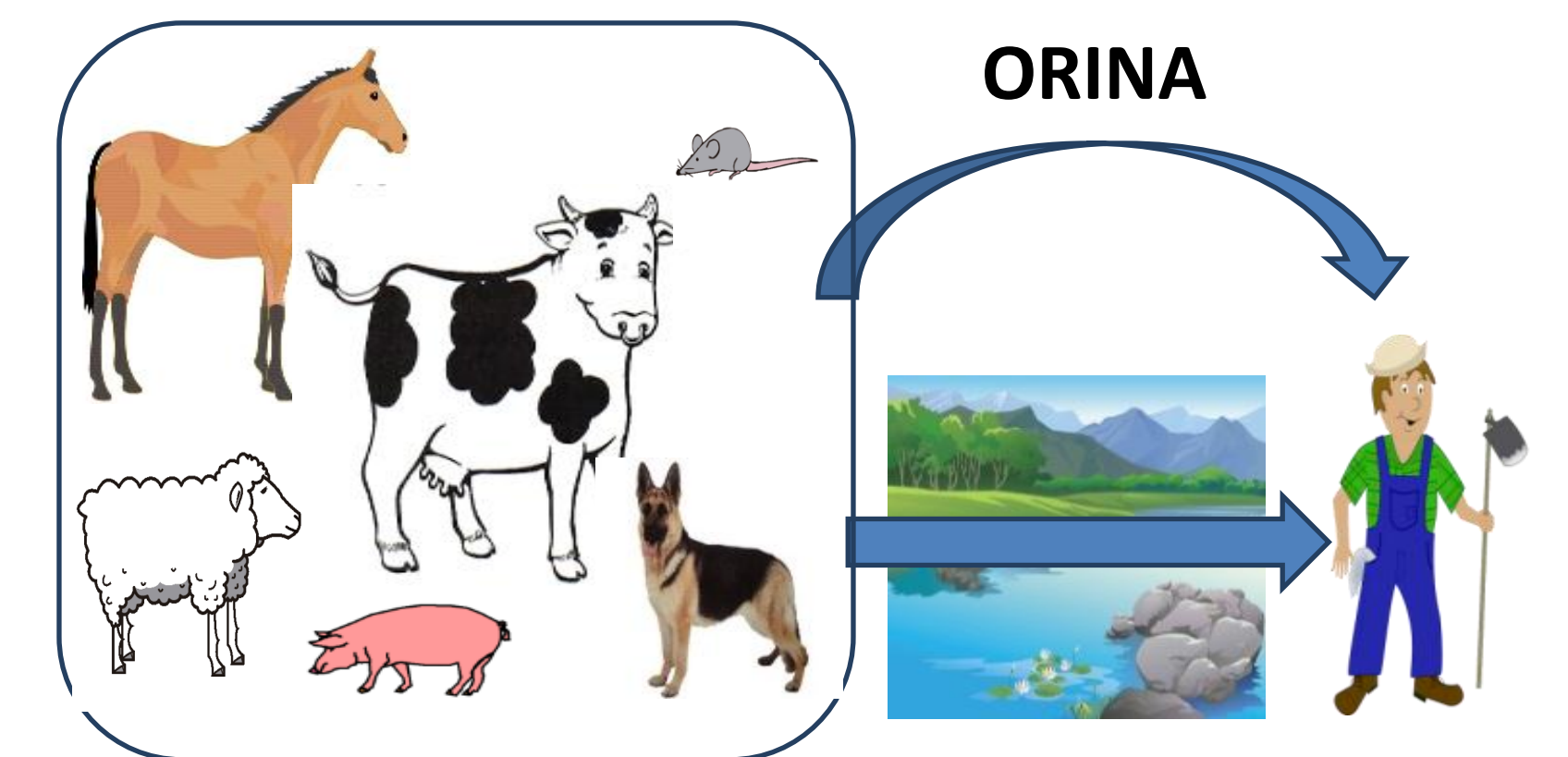


La leptospirosis es una enfermedad zoonótica ampliamente extendida, con distribución mundial, causada por espiroquetas del género *Leptospira*. En Uruguay se estima que ocurren anualmente más de 500 casos humanos, principalmente infectados a partir del **reservorio bovino** y de otros animales de producción,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

Los trabajadores rurales, en especial de tambos y predios ganaderos, son en Uruguay los más frecuentemente afectados. El diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad se realiza habitualmente con métodos indirectos que exploran la respuesta inmune específica.

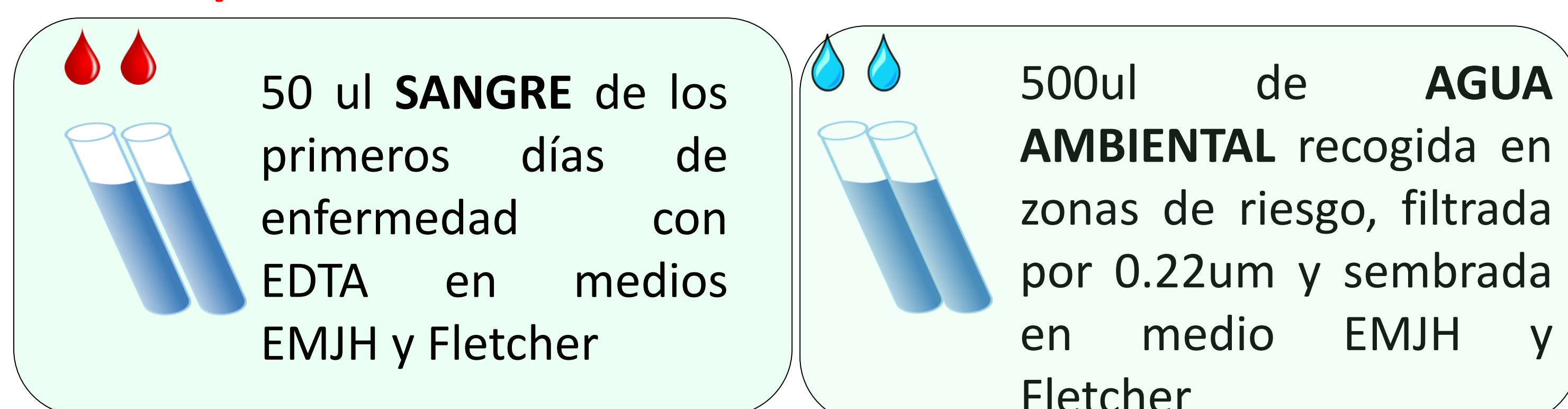


Objetivo

Realizar el aislamiento y caracterización de las cepas infectantes en casos de Leptospirosis humana, y cotejar los datos diagnósticos de laboratorio con los de su presentación clínico-epidemiológica.

Metodología

1. Cultivos para aislamiento: 2010-2016



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



3. **MLVA**: Se realizó en cinco 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 serovares de *L. interrogans*, *L. borgpetersenii* y *L. kirschneri*.

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

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

6. Se registraron los principales **datos clínicos** y epidemiológicos de cada caso, y los de **ambientes** de riesgo explorados, para relacionarlos con los hallazgos de laboratorio.

Resultados y Discusión

▪ **AISLAMIENTOS HUMANOS**. Fueron 8, **positivos** en PCR *16S* y para el gen *LipL32*, lo cual nos sugiere que son leptospirosis patógenas. Seis pudieron ser conservados para identificación.

• **AH1** fue identificado como perteneciente al serogrupo Pomona serovar Pomona (Lab. Ref. Queensland, Australia). La identidad de **AH2- AH6** se expone en la tabla y figura adjuntas.

• Con MLST el ST de **AH2** fue **140** y para el **AH3** fue **37**.

• Los pacientes con hemocultivo positivo compartían el perfil laboral de trabajadores rurales pero tenían edades mayores que la media de los infectados, cursaban enfermedad en general más severa y probablemente bacteriemias más intensas y por eso detectables.

Tabla. Perfil VNTR para los aislamientos humanos.

Aislamiento	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 Kennewicki
AH3	1	10	3	<i>L. interrogans</i> Canicola Canicola / Canicola Portlandvere
AH4	3	2	11	<i>L. interrogans</i> Sejroe Wolff/Sejroe Romanica
AH5	1	5	4	<i>L. kirschneri</i> (Australis Ramisi)
AH6	-	-	-	En estudio

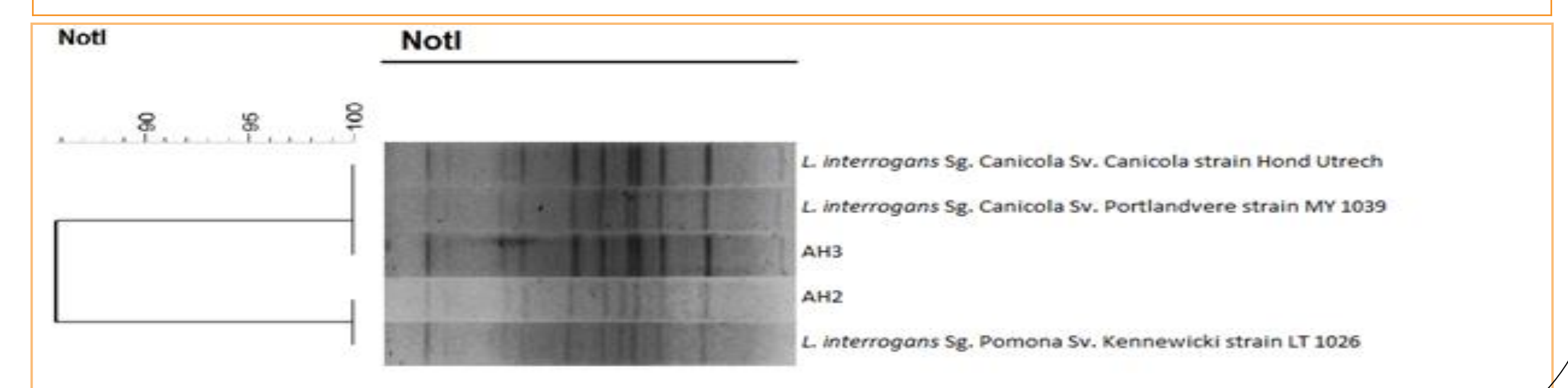


Figura. Imagen y el dendrograma de PFGE para AH2 y AH3

▪ AISLAMIENTOS AMBIENTALES

De las 7 cepas ambientales, cinco se han identificado como *Leptospira biflexa* amplificando el gen *23S*, y las otros dos fueron diferenciadas del resto ya que no amplificaron secuencias de este gen. Se secuenció el segmento amplificado *16S* para ambas cepas y resultaron *Leptospira meyeri* y *Leptonema illini*.

Conclusión

En este período de 2010-2016 los hemocultivos realizados fueron aproximadamente 320, de los cuales ocho de ellos fueron positivos por PCR *16S* y PCR *LipL32*. Esto nos da un porcentaje de recuperación de 2,5%. Los datos preliminares de identificación de cultivos que aquí presentamos son los primeros en el país. 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.