

## **ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS EXPERIMENTAL EN NUTRIAS (*Myocastor coypus*)**

**STANCHI N.O.\*; MARTINO P.E.\*\***

\* Cátedra de Microbiología. Facultad Ciencias Veterinarias.  
Universidad Nacional de La Plata  
C.C.296 (1900) La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA

\*\* Investigador Científico. Comisión Investigaciones Científicas.  
Provincia de Buenos Aires

**RESUMEN:** Se realizó un estudio serológico de la leptospirosis experimental en Nutrias con una cepa patógena de *Leptospira interrogans* sv *copenhageni*, Batan 14. Se realizaron sangrías parciales a los 6, 11, 20, 35, 49 y 65 días, momento en que fueron sacrificadas. El análisis mostró reactivo a *L. interrogans* sv *copenhageni* sólo a la dilución 1/100 por la técnica de Aglutinación Microscópica; mientras que para *L. biflexa* sv *patoc* los títulos llegaron hasta la dilución 1/512. Se observó en el 2,6% de los sueros la presencia de fenómeno de zona.

**Palabras clave:** Leptospirosis. Animales silvestres. Nutrias.

## **SEROLOGICAL STUDY OF EXPERIMENTAL LEPTOSPIROSIS IN NUTRIAS (*Myocastor coypus*)**

**ABSTRACT:** Serological study of experimental leptospirosis in Nutrias (*Myocastor coypus*) was carried out with a pathogenic strain of *L. interrogans* serovar *copenhageni*, Batan 14. Blood was obtained by cardiac puncture on 6, 11, 20, 35, 49 and 65 post-inoculation day. Serologic analysis shown reactivity results at low titers to *L. interrogans* serovar *copenhageni*, but against *L. biflexa* serovar *patoc* the titers was 1/512. Zone phenomena was present on 2,6% of the sera.

Autor para correspondencia: Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, CC 296 (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina. TEL: 54-221-4236663 ext.456  
FAX: 54-221-4257980 E-mail: [stanchi@fcv.unlp.edu.ar](mailto:stanchi@fcv.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis es una zoonosis producida por microorganismos pertenecientes al género *Leptospira*, los animales silvestres cumplen un importante papel en esta enfermedad al actuar como reservorios de la misma.

Las nutrias (*Myocastor coypus*) tanto como animal silvestre o criada con fines peleteros, han sido responsables de brotes de leptospirosis<sup>(3,4)</sup> y son consideradas de importancia en la diseminación de leptospiras<sup>(3,8,9,16,17,20,21,23,24)</sup>.

El fenómeno de zona que aparece en algunos sueros en la técnica de Aglutinación Microscópica para Leptospirosis (MAT), es generalmente aceptado en la literatura y varios autores lo citan como un posible hallazgo en esta enfermedad<sup>(2,5)</sup>, sin embargo es frecuente que no se tome en cuenta este fenómeno en los estudios epizootiológicos, especialmente con animales silvestres.

La presente comunicación tiene el objeto de presentar la observaciones serológicas producidas en la inoculación experimental de leptospiras en nutrias de criadero.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales:

Se utilizaron 13 nutrias machos, jóvenes, procedentes de criadero que fueron mantenidas en condiciones de bioterio por más de 7 meses, permaneciendo en estas condiciones durante el experimento, proporcionándose agua y alimento ad-libitum.

### Inoculación:

Las nutrias fueron inoculadas por vía intra-peritoneal con 1 ml de cultivo puro en activo crecimiento, de una cepa de *L.interrogans* sv *copenhageni*, Batan 14 desarrollada en medio Fletcher.

### Serología:

Tanto al momento de su entrada al bioterio como previo a la inoculación, se realizó la prueba de Aglutinación Microscópica de acuerdo a Faine<sup>(11)</sup>, con la finalidad de verificar la ausencia de aglutinación para las cepas representativas de 11 serogrupos de Leptospiras (*L.interrogans* serovares *autumnalis*, Akiyami A; *canicola*, Hond Utrech IV; *cynopteri*, 3522C; *gripotyphosa*, Moskva V; *hebdomadis*, Hebdomadis; *copenhageni*, Batan 14; *pomona*, Pomona; *pyrogenes*, Salinem; *Wolffi*, 3705; *tarassovi*, Perepelicin; y *L.biflexa* sv *patoc*, Patoc1).

Se efectuaron sangrías por punción cardíaca bajo anestesia con éter a los 6, 11, 20, 35, 49 y 65 días post inoculación, momento en que fueron sacrificados. Los sueros fueron congelados a -20 °C y posteriormente enfrentados con las mismas serovares arriba mencionadas, partiendo de la dilución 1/4; se diluyeron al doble hasta 1/512 tanto las no reactivas a bajas diluciones como las reactivas.

### Bacteriología:

Al sacrificio se tomaron inóculos de ambos riñones de las nutrias, los que fueron sembrados en medio de cultivo Fletcher y Ellinghausen modificado por Johnson y Harris (EMJH)<sup>(11)</sup>; los cultivos se mantuvieron por 60 días en estufa a 30 °C con observación semanal.

Tres nutrias no fueron inoculadas y se mantuvieron como testigos.

## RESULTADOS

Los resultados están representados en la tabla 1. Se observó reactividad serológica para las serovares *copenhageni* y *patoc*. Para el resto de las serovares los sueros fueron en todas las diluciones no reactivos.

Se observó en 2 sueros (2,6%) la presencia de fenómeno de zona para la sv *patoc* a los 65 días post-inoculación (p.i.), en las diluciones 1/4 y 1/8 en ambos casos, mientras que en el segundo de éstos, a la dilución 1/16 la aglutinación fue del 25% de las leptospiras, estos animales mostraron títulos finales de 1/512 en esas mismas muestras.

Las nutrias fueron sacrificadas en el momento de su última sangría (65 días p.i.) aislándose a partir de riñón leptospiras en 8 de ellas. Los animales testigos no mostraron reactividad serológica ni se aislaron leptospiras de sus riñones.

## DISCUSIÓN

Las nutrias respondieron ante la inoculación de leptospiras, mediante la elevación de los títulos de anticuerpos detectables por MAT para *L.biflexa* sv *patoc*; estos valores descendieron en varios animales para luego volver a elevarse, hecho similar con lo observado en humanos (S.Wanyangu, U.K., com. per.). Los niveles de anticuerpos detectables para la cepa inoculada, no superaron en ningún caso la dilución 1/8. Si bien no puede afirmarse que estos animales no hubieran estado en contacto con leptospiras previamente, por el tiempo transcurrido en condiciones de cautiverio sería permitido aceptar que la elevación de títulos séricos contra las serovares *patoc* y *copenhageni* respondió directamente a la inoculación de la cepa Batan 14.

El fenómeno de zona hallado en sueros de nutrias, supone el riesgo de perder algunos casos de positividad cuando se utiliza una prueba tamiz en bajas diluciones. Por otro lado, es factible hallar niveles de anticuerpos de 1/10 que representan contacto con estos microorganismos. Según Faine (Com.pers. Australia) en experimentos de campo sería fácil regular la dilución inicial debido a que el número de animales es frecuentemente grande. Sin embargo, esto sólo puede ser válido en estudios epizootiológicos; pero cuando se trata de pruebas con menor número de animales sería aceptable recurrir a dos diluciones por ejemplo 1/8 y 1/100.

Varios autores consideran la eficiencia de las

Tabla 1. Títulos de anticuerpos antileptospiras en suero y número de nutrias reaccionantes por MAT con *L. interrogans* sv *icterohaemorrhagiae* y *L. biflexa* sv *patoc*.

	06 días		11 días		20 días		35 días		49 días		65 días	
	ictero	patoc										
Neg	6	0	3	0	3	0	4	0	7	0	1	0
4	3	0	6	0	6	3	5	1	3	0	7	0
8	1	2	1	4	1	0	0	3	0	2	2	0
16	0	4	0	5	0	4	0	4	0	3	0	3
32	0	4	0	1	0	3	0	1	0	4	0	1
64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
128	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
256	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
512	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Total	10	10	9	9	10	10	9	9	10	10	10	10

cepas de la especie *biflexa* para diagnosticar la infección leptospiral<sup>(10,14,15,18)</sup>, mientras que otros no encuentran correlación entre ambas<sup>(1,7,13,22,23)</sup> dependiendo en parte de la especie animal estudiada y del método de diagnóstico empleado. La elevación de títulos para la serovar *patoc* fue observada en todos los animales, aunque a niveles bajos en donde el 50% de los mismos no superó la dilución 1/100 al cabo de 65 p.i.

Se desprende que para realizar investigaciones epizootológicas en nutrias, en forma similar a lo que ocurre en otros animales silvestres, debería partirse de diluciones inferiores a 1/100 en la prueba de MAT, debiéndose incluir *L. biflexa* sv *patoc* entre los antígenos utilizados.

## BIBLIOGRAFÍA

1.-ADDAMIANO L., BABUDIERI B., Water strains of *Leptospira* in the serodiagnosis of human Leptospirosis. Bull. WHO 39:925-934, 1968.

2.-ALSTON J.M., BROOM J.C, Leptospirosis in man and animals, E. & S. Livingstone. Edinburgh & London. 1958

3.-ANCHEZAR B., ILLIA R., VIVOLDI D., La nutria como fuente de infección en la enfermedad de Weil por *L. bonaerensis*. Arch. Salud Pública 19,9:5-6, 1963.

4.-ANCHEZAR B., VIVOLDI D., ILLIA R., Rev. Inst. Bact. Malbrán 14:114, 1949.

5.-AUSTONI L., Le Leptospirosis. Pag. 122, Padova, Italia, 1953.

6.-BABUDIERI B., Animal reservoir of Leptospire. Annals of New York Academy of Science 70:393-413, 1958.

7.-BATZA H.L., WEISS R., Evaluation of *Leptospira biflexa* serovar *patoc1* for serodiagnosis of Leptospirosis in animals. Tierärztliche Umschau 42:121-124, 1987.

8.-CACCHIONE R., CASCELLI E., BULGINI M., MARTINEZ E., Leptospirosis en animales silvestres. Estado actual de sus investigaciones. Aislamiento y clasificación de cepas Argentinas. Rev. Inv. Agrop. serie IV, 13:173-197, 1965.

9.-CACCHIONE R., CASCELLI E., BULGINI M., MARTINEZ E., Leptospirosis en animales silvestres de la Argentina. Estudio suerológico. Rev. Inv. Agrop. serie IV, 6:76-83, 1965.

10.-CALDAS E., SAMPAIO M., VIEGAS S., Investigaçao comparativa de estirpes apatogénicas para o diagnóstico sorológico de Leptospirose en animais. Nota Prévia. In Congresso Brasileiro de Med. Vet. 18 Balneário Camboriú Sc., p.56, 1982.

11.-FAINE S., Guidelines for the control of Leptospirosis. WHO publication n° 67, Geneva p. 171, 1982.

12.-FAINE S., CARTER J., Natural antibody in mammalian serum reacting with an antigen in some Leptospire. Jour. Bacteriol. 95,2:280-285, 1968.

13.-CIRIO J., MATHIAS L., Use of saprophytic leptospira strains in the serodiagnosis of experimental leptospirosis in guinea pigs (*Cavia* sp.) Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo 30,2:91-94, 1988.

14.-GIRIO R., YANAGUITAR., MATIAS L., Comparative study of four saprophytic leptospira strains as screening antigens in the serodiagnosis of Leptospirosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). Int. Jour. Zoon. 12:61-66, 1985.

15.-HAGIWARA M., SANTA ROSA O., PINTO A., Leptospirose canina experimental pelos serotipos *icterohaemorrhagiae* e *canicola*. Avaliação do emprego das amostras Patoc 1, Ruffino e Buenos Aires reações de soraglutinação e de fixação de complemento. Rev. Fac. Med. vet. Zoot. Univ. Sao Paulo 19:61-66, 1982.

16.-ROTH E., ADDAMS W., SANDFORD C., GREER B., NEWMAN M., MAYEUX P., LINDER D., Zoonoses research 2,1:13, 1963.

17.-ROTH E., ADDAMS W., SANDFORD C., GREER B., MAYEUX P., Public Health Report. 77,7:583-587, 1962.

18.-SANTA ROSA C., Estudo comparativo de algunas estirpes de *Leptospira* apatogénicas pra o diagnóstico da Leptospirosis animal. Sao Paulo, 1977. 31 p. (Tese de livre docencia. Fac. Med. Vet. Vet. e Zoot. Univ. de Sao Paulo).

19-STANCHI N., Leptospirosis en animales silvestres. Reproducción experimental de la enfermedad. Col.Vet. D.II., 30 p., 1985.

20-STANCHI N., MARTINO P., MARTINO J., CALVO J., Leptospirosis en animales silvestres y en animales de piel. Rev. Med. Vet. (Bs.As.) 68,2:80-85, 1987.

21-TWIGG G.I., CUERDEN C., Leptospirosis in wild British mammals. Jour. of Zool. 150:494-495, 1966.

22-VASCONCELLOS S., Diagnóstico da Leptospirose em suíno experimentalmente infectados com *Leptospira interrogans* serotipo *pomona*. Emprego da reação de soroaglutinação microscópica tendo como antígeno a *Leptospira biflexa* estirpe Buenos Aires. Sao Paulo, 1986 55 p. (Tese de Livre docencia. Fac. Med. Vet. e Zoot. Universidade de Sao Paulo).

23-WAITKINS S., WANYANGU S., PALMER M., The coypu as a rodent reservoir of *Leptospira* infection in Great Britain. J. Hyg. Camb. 85:409-417, 1985.

24-WANYANGU S., WAITKINS S., PALMER M., Isolation of Leptospire from one week dead coypu (*Myocastor coypus*, Molina). Int. Jour. Zoon. 13:236-240, 1986.