

## Infección aguda por *Leptospira interrogans* serovar kennewicki en corderos

Camila Hamond<sup>1,2</sup>, Caroline S. Silveira<sup>1</sup>, Florencia Buroni<sup>3</sup>, Alejandra Suanes<sup>4</sup>, Cecilia Nieves<sup>2,5</sup>, Ximena Salaberry<sup>4</sup>, Virginia Aráoz<sup>1</sup>, Ricardo A. Costa<sup>1</sup>, Rodolfo Rivero<sup>3</sup>, Federico Giannitti<sup>1,6\*</sup>, Leticia Zarantonelli<sup>2,5\*</sup>

<sup>1</sup>Plataforma de Salud Animal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Colonia, Uruguay.

\*Autor de correspondencia: fgiannitti@yahoo.com; <sup>2</sup>Unidad Mixta Pasteur + INIA (UMPI) Institut Pasteur de Montevideo INIA \*Autor de correspondencia: lzarantonelli@pasteur.edu.uy. <sup>3</sup>División Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino",

Laboratorio Regional Noroeste, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Paysandú, Uruguay. <sup>4</sup>Departamento de Bacteriología, División Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino", Sede Central, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Montevideo, Uruguay. <sup>5</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Estructural, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo 11400, Uruguay. <sup>6</sup>Departamento de Medicina de Población Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria,

Universidad de Minnesota, Saint Paul, MN, EE. UU.

### Resumen

La leptospirosis aguda es una enfermedad infrecuente en ovejas que puede causar ictericia, hemólisis, hemoglobinuria, necrosis hepática y nefritis. En la mayoría de los informes, los diagnósticos se han realizado mediante evidencia clínica, patológica o serológica sin aislamiento o identificación directa del agente. Aquí, informamos dos brotes de leptospirosis ovina con resultado fatal en corderos en Uruguay. La tasa de mortalidad en los rebaños afectados fue del 15% (9/60 corderos) y 5,5% (9/163 corderos). Las principales lesiones macroscópicas e histológicas fueron ictericia, hemoglobinuria, hepatitis necrosante y nefritis. *Leptospira interrogans* serovar Kennewicki fue aislada de diferentes animales en ambos predios. Se realizó la genotipificación mediante el gen *secY* a partir de muestras clínicas.

### Summary

Acute leptospirosis is an infrequent disease in sheep that can cause jaundice, hemolysis, hemoglobinuria, hepatic necrosis and nephritis. In most reports the diagnoses have been made by clinical, pathological or serological evidence without isolation or direct

identification of the agent. Here, we report two outbreaks of ovine leptospirosis with fatal outcome in suckling lambs in Uruguay. The mortality rate in the affected flocks was 15% (9/60 lambs) and 5.5% (9/163 lambs). Main gross and histologic lesions included jaundice, hemoglobinuria, necrotizing hepatitis and nephritis. *Leptospira interrogans* serovar Kennewicki was isolated from different animals of both flocks and *secY* genotyping was done from clinical samples.

### Introducción

La leptospirosis aguda es una enfermedad infrecuente en ovinos y en la mayoría de los casos el diagnóstico se ha realizado por evidencia clínica, patológica y/o serológica de infección, sin aislamiento y/o identificación del agente (Ellis, 2015). Existen sólo unos pocos casos de infección aguda descrita en la literatura donde observaron ictericia, pirexia y hemoglobinuria asociados con leptospirosis aguda (Singh y col. 1983; Vermut y col. 1994). Lesiones necrosantes en el hígado y/o lesiones inflamatorias en los riñones son las observaciones más comunes atribuidas a casos sospechosos de infección por *Leptospira* spp (Vermut y col. 1994). En algunos casos, se aisló dicha bacteria de riñones de animales afectados, pero no se llegó a la identificación serológica o molecular (McCaughan

y col. 1980; Vermut y col.1994). *Leptospira* spp. (serogrupo Grippothyphosa) se aisló del riñón de una oveja con anemia, hemoglobinuria e ictericia (Rafyi y Maghami, 1961). *L. interrogans* sv Hardjo, *L. noguchii* serogrupo Autumnalis y *L. borgpetersenii* sv Hardjo han sido aisladas de ovejas asintomáticas (Director y col. 2014). El objetivo de este trabajo es describir dos brotes de leptospirosis aguda en ovejas con hallazgos serológicos, patológicos, microbiológicos y moleculares.

## Materiales y Métodos

El cadáver de un cordero de 30 días de edad de un predio del departamento de Canelones fue sometido a necropsia. En base a la sospecha clínica y lesiones macroscópicas, se procesaron hígado y riñón para cultivo de *Leptospira* y PCR (Zarantonelli y col. 2018, *Plos Neg Dis*, manuscrito en revisión). El rebaño estaba compuesto por 80 ovejas Corriedale, dos carneros Poll Dorset y Milchschaf, y 60 corderos entre 20-30 días de edad. Antes del inicio del brote, hubo una inundación en el predio. El veterinario informó la muerte de nueve (15%) de corderos y el aborto en una oveja. El cordero presentó signos de debilidad e ictericia de las membranas mucosas; los otros casos se presentaron con signos clínicos similares durante un período de una semana. Dos corderos necropsiados presentaron ictericia severa y riñones de color oscuro. No se realizaron más estudios diagnósticos en estos casos. Se recogieron muestras de suero de cinco ovejas y quince corderos seleccionadas al azar. Se procesaron para aglutinación microscópica (MAT) (OIE, 2016) y también se recogieron muestras de orina de los mismos animales para cultivo de *Leptospira*, PCRLipL32 (Zarantonelli y col. 2018, *Plos Neg Dis*, manuscrito en revisión) y *secY* (Bourhy y col. 2013). El otro caso ocurrió en el departamento de Tacuarembó, donde se realizó la necropsia de un cordero de 30 días. El rebaño de ovejas estaba compuesto por 280 ovejas y 163 corderos. En el momento de la visita al predio, se informó la muerte de nueve (5,9%) corderos de 30 días con signos de debilidad e ictericia. Se observó un evento de inundación antes de la ocurrencia del brote. Además, había 500 reses, tres cerdos y un jabalí que ocasionalmente compartían el mismo pastizal. Se recogieron al azar el suero y la orina de cinco ovejas y cinco corderos y se procesaron como se describió anteriormente. La caracte-

rización de aislados fue hecha de acuerdo con Bourhy y col. 2013.

## Resultados y Discusión

Las principales lesiones macroscópicas e histológicas encontradas fueron ictericia, hemoglobinuria, hepatitis necrosante y nefritis. Estos hallazgos son similares a los descritos en casos agudos con diagnóstico presuntivo de leptospirosis (Rafyi y Maghami, 1961; McCaughan y col. 1980; Vermut y col. 1994). Se detectaron anticuerpos anti-*Leptospira*; en la Granja I, cinco muestras presentaron títulos entre 50 y 800 y en la Granja II, 3/10 sueros fueron positivos con títulos entre 50 y 3.200 contra el serogrupo Pomona. Los análisis de PCR detectaron ADN de *Leptospira* en seis y cuatro muestras de orinas de animales de los establecimientos I y II, respectivamente. Además, se detectó ADN de *Leptospira* spp. en muestras de riñón e hígado del cordero necropsiado en el establecimiento I. Los amplicones del gen *secY* de orina y riñón del mismo cordero, presentaron 100% de identidad con *Leptospira interrogans*. Se obtuvo un aislamiento de *Leptospira* sp. De la orina de un animal asintomático de cada predio. La caracterización de los aislamientos identificó *L. interrogans* sv Kennewicki (serogrupo Pomona). Serogrupo Pomona ha sido implicado en la enfermedad clínica en corderos (Leon-Vizcaino y col. 1987; Vermunt y col. 1994). En nuestro estudio, aislamos por primera vez dos cepas de *L. interrogans* sv Kennewicki de ovinos. Recientemente el serovar Kennewicki fue el serovar aislado con mayor frecuencia en bovinos en Uruguay (Zarantonelli y col. 2018, *Plos Neg Dis*, manuscrito en revisión). La presencia de *Leptospira* en la orina de corderos sanos demuestra que los animales portadores tienen un papel importante en la transmisión de la enfermedad. En nuestro estudio, los cultivos bacterianos de tejidos de cordero fueron negativos. Sin embargo, la presencia de ADN de *Leptospira* en los tejidos del cadáver del cordero de la Granja I fue confirmada por PCR. Además, las muestras de orina de animales del mismo predio fueron positivas por PCR y nos permitió confirmar el diagnóstico clínico y, correlacionar dicho diagnóstico con el aislamiento. La infección de los animales podría haber ocurrido a través del agua contaminada con orina de bovinos, cerdos y/o animales salvajes, que pueden ser huéspedes potenciales de este serotipo (Ellis, 2015; Za-

rantonelli y col. 2018, *Plos Neg Dis*, manuscrito en revisión). La aparición de dos brotes en un corto período de tiempo indica que la leptospirosis puede ser una enfermedad importante en ovejas. En los corderos, la mortalidad causada por leptospirosis aguda solo puede representar parte de un problema más amplio. Se identificaron animales sin ningún signo clínico de enfermedad que eliminan leptospiras en la orina y posiblemente actúen como portadores, con un impacto potencialmente significativo tanto en la salud animal como en salud pública. Dado que la producción ovina en Uruguay es una actividad social y económica importante, se deben realizar más estudios para mejorar nuestra comprensión del papel de las ovejas en la epidemiología de la leptospirosis.

## Bibliografía

- Bourhy, P., Herrmann Storck, C., Theodose, R., Olive, C., Nicolas, M., Hochedez, P., Lamaury, I., Zinini, F., Brémont, S., Landier, A., Cassadou, S., Rosine, J., & Picardeau, M. (2013). Serovar diversity of pathogenic *Leptospira* circulating in the French West Indies. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(3), e2114.
- Director, A., Penna, B., Hamond, C., Loureiro, A. P., Martins, G., Medeiros, M.A., & Lilenbaum, W. (2014). Isolation of *Leptospira interrogans* Hardjoprajtino from vaginal fluid of a clinically healthy ewe suggests potential for venereal transmission. *Journal of Medical Microbiology*, 63(9), 1234-1236.
- Ellis, W. A. (2015). Animal leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 99-137.
- Leon-Vizcaino, L., Hermoso de Mendoza, M., & Garrido F. (1987). Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 10(2), 149-153.
- McCaughan, C. J., Gordon, L. M., Rahaley, R. S., Slee, K. J., & Presidente, P. J. A. (1980). Evidence for infection of sheep in Victoria with leptospire of the Hebdomadis serogroup. *Australian Veterinary Journal*, 56, 201-202, 1980
- OIE. Leptospirosis. (2016). IN: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 7. ed. Paris: W. Organism for Animal Health. 1, 598.
- Rafyi, A., & Maghami, G. (1961). On the incidence of leptospirosis in Iran. III. Isolation of *Leptospira grippo-typhosa* (L. bovis) in sheep. *Bulletin de La Societe De Pathologie Exotique et de ses Filiales*, 54, 179-181.
- Vermunt, J. J., West, D. M., Cooke, M. M., Alley, M. R., & Collins-Emerson, J. (1994). Observations on three outbreaks of *Leptospira interrogans* serovar Pomona infection in lambs. *New Zealand Veterinary Journal*, 42(4), 133-136.a