

## **Sección Informativa**

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

### **Reunión Científica Internacional "Leptospirosis 2001" 17-18 de mayo del 2001**

#### **PROFESORES INVITADOS**

R. A. Hartskeerl, PhD  
Head of WHO/FAO Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis  
Dept. Biomedical Research  
Royal Tropical Institute (KIT)  
Amsterdam. The Netherlands.

Ben Adler, BSc BA PhD MASM  
Professor of Microbiology,  
Head of Department Bacterial Pathogenesis Research Group,  
Department of Microbiology  
Monash University. Victoria.  
Australia.

Marina Cinco, Prof.  
Leptospira Reference Laboratory  
Dipartimento di Scienze Biomediche  
Sezione di Microbiologia  
Universita degli Studi di Trieste.  
Italy.

Geneviève Andre-Fontaine, Prof.  
Unité de Bacteriologie Médicale et Moléculaire des Leptospires  
Ecole Nationale Veterinaire de Nantes,  
Nantes, France.

Margarida Collares Pereira, Prof.  
Unidade de Leptospirose e Borreliose de Lyme  
Instituto de Higiene e Medicina Tropical  
Lisboa, Portugal.

**DeCS:** LEPTOSPIROSIS/prevenición & control; AMERICA LATINA.

## PARTICIPANTES

No.	Nombre y Apellidos	País	Lugar
1.	A. Schönberg	Alemania	Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
2.	Ben Adler,	Australia	Monash University, Department of Microbiology
3.	Elizabeth Martins	Brasil	Instituto Butantan. Sao Paulo-SP-
4.	Geder Paulo Herrmann	Brasil	Universidade Federal de Santa María. Santa Maria Estado Río Grande Do Sul
5.	Loeci Natalina Timm	Brasil	Universidade Federal de Santa María. Santa Maria Estado Río Grande Do Sul
6.	Liliana Urra Molina	Chile	Instituto de Salud Pública de Chile
7.	Graciela Barona Tovar	Colombia	Universidad del Valle
8.	Ana Inés López	Colombia	Instituto Colombiano Agropecuario
9.	Gabriel Trueba	Ecuador	Universidad San Francisco de Quito
10.	Aaron D'Alexander	EE. UU.	Jubilado
11.	Andre-Fontaine Eneviève	Francia	Ecole Nationale Veterinaire, Nantes
12.	Pascale Pouliquen	Francia	Laboratoires THEA -12
13.	Rudy Hartskeerl	Holanda	Royal Tropical Institute (KIT)
14.	Marga Goris	Holanda	Royal Tropical Institute (KIT)
15.	Luis Alberto Lagos	Honduras	Laboratorio Central Microbiología. Tegucigalpa
16.	Reina Laura Rivera	Honduras	Universidad Nacional Autónoma de Honduras
17.	Marina Cinco	Italia	Dept Scienze Biomediche, Leptospira Laboratory, University of Trieste
18.	Dolores Gabaldón Rosas	México	Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco
19.	Miguel A. Cisneros Puebla	México	Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco
20.	Luis Pedro Moles y Cervantes	México	Departamento de Producción Agrícola y Animal
21.	Adán Sepúlveda Montes	México	Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco
22.	Oscar Velasco-Castrejón	México	Universidad de Guadalajara
			Clínica de Medicina Tropical. Unidad de Medicina Experimental. Facultad de Medicina, UNAM-Hospital General de México, SSA
23.	Raúl Rivera	Panamá	MIMSA
24.	Margarida Collares-Pereira	Portugal	Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Portugal
25.	Julio Salvador Castaño	República Dominicana	Salud Pública Veterinaria de la Secretaría de Salud de la República Dominicana
26.	Gerardo D' Pool	Venezuela	Facultad de Veterinaria, Universidad del Zulia, Maracaibo
27.	Raúl Cruz de la Paz	Cuba	Dirección Epidemiología (Zoonosis)
28.	Teresa Puentes Pomares	Cuba	Ministerio de Salud Pública de Cuba
29.	Ramón Arias San Martín	Cuba	Instituto de Medicina Veterinaria. Nivel Central. MINAGRI
30.	Hilda Gorra Hernández	Cuba	Centro Nacional de Epizootiología, Diagnóstico e Investigación (CENEDI)
31.	Fabio Vázquez	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Pinar del Río
32.	Armando Vázquez	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Ciudad de La Habana
33.	Olga Ginebra	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Ciudad de La Habana
34.	Mercedes Santana Calvo	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. La Habana
35.	Leonila González Hernández	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. La Habana
36.	Amelia Pestrana Tapia	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Villa Clara
37.	M. Carmen Quiñones Prieto	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Villa Clara
38.	Sara Pacheco García	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Sancti Spíritus
39.	Miguel Suárez Hernández	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Ciego de Ávila
40.	Gloria García González	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Camagüey
41.	Magda González García	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Camagüey
42.	Alfredo Saltaren Coba	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Holguín

43.	Bettssy Montoya Batista	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Holguín
44.	Oswaldo Sabournin	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Holguín
45.	Cristina Monte de Oca Alemán	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Granma
46.	José Reyes Castillo	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Santiago de Cuba
47.	David Ortíz Mesa	Cuba	Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo
48.	Duarte Clara L	Cuba	Centro Nacional de Epizootiología Diagnóstico e Investigación
49.	Victoria Casanueva	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
50.	Andrés González	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
51.	Gustavo Sierra	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
52.	Yoandra Rodríguez	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
53.	Marta González	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
54.	Xenia R. Ferriol Marchen	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
55.	Andrés González	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
56.	Iván Cuevas	Cuba	Instituto "Carlos J. Finlay"
57.	José Antonio Fraga	Cuba	Empresa LABIOFAM
58.	Liset Friol García	Cuba	Empresa LABIOFAM
59.	Noemí Gainza	Cuba	Empresa LABIOFAM
60.	Ofelia de la Nuez	Cuba	Empresa LABIOFAM
61.	Loida Aruña Sánchez	Cuba	CECMED
62.	Raydel Martínez	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
63.	Roberto Cañete Villafranca	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
64.	Andrés Reyes Concho	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
65.	Ana Margarita Obregón Fuentes	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
66.	Berta Victoria Martínez	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
67.	Islay Rodríguez González	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
68.	Yarely Zamora Martínez	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
69.	José Rodríguez Silveira	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"
70.	Carmen Fernández Molina	Cuba	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf"

## Forum de trabajo acerca de las medidas para la vigilancia y el control de la leptospirosis en Latinoamérica

*Presidente: Dr. R. A. Hartskeerl, Instituto Real para los Trópicos (KIT), Holanda*

### **R. A. HARTSKEERL (HOLANDA)**

Contamos en esta reunión con la presencia de 17 países, por lo que tenemos una buena cantidad de público internacional, la mayoría de América Latina; también contamos con la presencia de conferencistas invitados de muy reconocido prestigio en leptospirosis.

Pienso que es una buena oportunidad para discutir la situación de la leptospirosis en América Latina. Especialmente leptospirosis humana, la cual se encuentra subestimada en esta región. Me gustaría usar esta reunión, para discutir con ustedes las necesidades, los métodos (diagnóstico, procedimientos, medidas de control, estandarización internacional) que pudieran ser factibles y útiles en el área latinoamericana.

Empecemos con el diagnóstico, creo que abriré la puerta si digo que existe una subestimación mundial de la leptospirosis, comencemos con esta hipótesis. ¿Quiere alguien opinar sobre esto?

**GENEVIEVE ANDRÉ-FONTAINE (FRANCIA)**

Considero que esta es una reunión muy importante porque la percepción de los pueblos latinoamericanos es algo diferente a la de otros debido a que tienen poca conciencia de la leptospirosis. Por tanto es muy interesante hablar con personas que están día a día en contacto con la leptospirosis, con enfermedades en los humanos, pero incluso en animales.

Es la primera vez que oigo sobre la leptospirosis humana crónica.

Sobre el diagnóstico por la técnica de microaglutinación (MAT), es la regla de oro, pero tenemos que progresar en las pruebas serológicas. Creo, que siempre se estandarizan pruebas contra MAT, siempre es el mismo problema para mí, MAT detecta los anticuerpos aglutinantes contra LPS de leptospirosis, pero hay otros antígenos a los que tenemos que hacerle seguimiento serológico y MAT no siempre se correlaciona con la respuesta serológica a otros antígenos. Nosotros, pienso, tenemos mucho trabajo que hacer acerca de estos nuevos tipos de pruebas de respuesta serológica, no solo para los anticuerpos aglutinantes.

**BEN ADLER (AUSTRALIA)**

Quiero hacer dos comentarios. El primero es sobre la serología y ustedes saben que muchas pruebas se han propuesto de tiempo en tiempo y hemos vuelto a la hemaglutinación indirecta y a la fijación del complemento y luego el ELISA, etc. Pero si observamos cada laboratorio diagnóstico, incluyendo el mío en Australia, aún usamos MAT y pienso que esto nos dice algo, pienso que nos dice que de todas las pruebas MAT es la mejor, si existe una tan buena como ella por qué no la usamos. La razón es porque no hay ninguna tan buena como ella. Este es el primer comentario. El segundo es sobre las nuevas formas de diagnóstico, y quiero preguntar si alguien está usando PCR como prueba de rutina para detectar leptospirosis en sangre, orina, CSF o en cualquier otro fluido en su laboratorio.

**CARMEN FERNÁNDEZ (CUBA)**

Nosotros no lo usamos, pero nos gustaría introducirlo, especialmente en las muestras de orina como método rápido para la detección. Sabemos que actualmente hay laboratorios que lo usan y creemos que lo podremos usar también tan pronto como esta técnica se abarate.

**BEN ADLER**

Creo que ese es parte del problema. Soy tan culpable como cualquiera de los que nos encontramos aquí, porque tal vez en mi laboratorio hacemos miles de PCR al año para una infinidad de cosas y sin embargo no lo usamos para el diagnóstico de rutina, y creo que tal vez deberíamos; por eso fue que hice la pregunta.

**MARINA CINCO (ITALIA)**

Pienso que la mayoría de nosotros está de acuerdo en que MAT es la prueba para comparar con cualquier otra. Es la mejor que se puede usar, es muy específica y esta es una cualidad que no encontramos en otras pruebas para otras bacterias y esto es muy importante. Cuando se tiene un resultado positivo por MAT, uno está seguro de que tenemos un caso de leptospirosis, por supuesto en asociación con algunos síntomas, pero también sin los síntomas, por lo que MAT es una técnica muy buena. Es la mejor, aun con la subvaloración que existe y no todos los laboratorios pueden realizarla, por eso tenemos la necesidad del método más estandarizado que pueda usarse en los laboratorios periféricos. Esto ayudó mucho en Italia hace unos años

cuando el Ministro de Salud decidió dividir las regiones en un laboratorio de referencia y los laboratorios en los hospitales. En estos se usan pruebas comerciales como ELISA y MAT; se realizan solo en un laboratorio, el de referencia, por tanto es el mejor, pero no todos los laboratorios pueden realizarlo y ustedes saben el por qué.

Mi segundo comentario es sobre las pruebas de aglutinación que detectan IgM e IgG y anticuerpos aglutinantes que se encuentran dentro del paciente y esto es muy importante también.

#### MARGARIDA COLLARES (PORTUGAL)

Para continuar con esta idea de la MAT, esta sigue siendo la piedra angular del inmunodiagnóstico, pero hay limitación y escasez de personal especializado, de personal que necesita equipamientos, aunque haya, pienso en los países pequeños o en los países donde la leptospirosis no es tan frecuente, tenemos un laboratorio de referencia donde hay condiciones para realizar MAT, pero los laboratorios pequeños, como dijo Marina, deben básicamente comenzar con aquellas pruebas de monitoreo que sirven para discriminar los resultados falsos, dudosos o positivos y luego el laboratorio de referencia realiza la confirmación. En mi experiencia en las Islas Azores donde no hay instalaciones para realizar MAT, estamos buscando una alternativa para realizar una prueba de macroaglutinación en lámina, una prueba rápida que ellos tengan y puedan luego enviar las pruebas dudosas a Lisboa. Pero al final, sigue siendo MAT la única prueba que nos puede confirmar aun en muestras únicas si hay un título positivo, y entonces estamos seguros de que es un caso de leptospirosis.

La ayuda del PCR, es particularmente importante en los casos tempranos de la enfermedad donde no hay tiempo de detectar los anticuerpos aglutinantes y para mí es particularmente importante en los casos fatales, aquellos que llevan a un final fatal muy pronto y no hay tiempo suficiente para detectar los anticuerpos porque estos no aparecen o porque el aislamiento es difícil. Por tanto para los propósitos de rutina, pienso, en estadios tempranos de la enfermedad, si queremos confirmar la presencia directa de la *Leptospira*, el PCR es de gran ayuda, además de la MAT, porque este no puede decirnos todo sobre los anticuerpos, por lo que pienso que para investigar, debemos ir al *immunoblotting*, tratando de comprender mejor qué tipo, por ejemplo, de proteína LPS encontramos en nuestros casos positivos.

#### ARON D´ALEXANDER (EUA)

Quiero decir que la leptospirosis es una enfermedad del médico, en el sentido de que es importante tener la certeza de un médico al diagnosticar la enfermedad, que este piense en la leptospirosis.

Sé de personas aquí que han hablado de los métodos de diagnóstico de leptospirosis, pero según mi experiencia la forma más fácil de diagnosticar leptospirosis es por el aislamiento del organismo, es muy simple, solo necesitas el medio y la seguridad de que estás estableciendo el diagnóstico.

#### CARMEN FERNÁNDEZ

Tengo una pregunta sobre la microaglutinación y deseo aprovechar que están todos ustedes aquí. Cómo interpretar los resultados obtenidos por microaglutinación teniendo un solo suero que puede ser reactivo, pero tal vez no es positivo. Por ejemplo un suero con un título de 1:160 necesitaría un segundo suero para saber si hay seroconversión, caso positivo. Teniendo en cuenta que hay casos en los que puede estar la epidemiología y los síntomas y no ser un caso de leptospirosis; aun con un título de anticuerpo elevado de este paciente, y que sin embargo la infección está causada por otro microorganismo. Por lo que quisiera que me aclararan este aspecto.

#### BEN ADLER

En el diagnóstico humano, no puedo comentar en el aspecto veterinario, tal vez Genevieve pueda; hubo muchas llamadas de las comisiones y he tenido que recordarles todo el tiempo cuando discutimos casos

particulares, que un examen de laboratorio es parte de su diagnóstico general, y no es algo que uno firme sí o no. Cuando alguna comisión me llama y me pregunta si sí o no, yo digo no, ustedes son los que tienen que decir sí o no. Puedo ayudarlos, puedo discutir con ustedes, pero son ustedes los que están viendo al paciente y la decisión de ustedes tiene que basarse en numerosos factores, los factores epidemiológicos, la historia clínica, la presentación clínica, los signos, los síntomas y los exámenes serológicos. El examen serológico puede ser una de estas cosas, infección actual, infección pasada, lo que sea, pero al final ustedes tienen que hacer el diagnóstico y no yo, nosotros podemos ayudar, discutir los síntomas y juntos llegar a conclusiones y decimos entonces probablemente sí, probablemente no. Pienso que hay que ser cuidadoso. Cualquier examen de laboratorio es solo un agente, no es la respuesta sí o no, que usted quiere.

#### **ANDRE-FONTAINE**

Estoy de acuerdo, en una encuesta a pacientes hospitalizados en Francia, hicimos una encuesta serológica y para identificar verdadera leptospirosis decidimos, junto con el instituto Pasteur, que todos los pacientes que tuvieran un suero, 1:20, ó 2 sueros con 2 semanas de diferencia con un incremento cuádruple en el título serían positivos.

#### **RAÚL CRUZ (CUBA)**

Todos coinciden, convocan a usar la microaglutinación. Nosotros también estamos de acuerdo. Pero en este momento en el sistema veterinario todos los problemas están en el servicio de diagnóstico y en el caso de nuestra red de salud toda está equipada. Los 15 laboratorios en las provincias están preparados para usar esta técnica. Con respecto a la hemaglutinación, pienso que es muy importante, así como algo que el profesor mencionó, el aislamiento, especialmente en los países en los que hay vacunación. Creemos que la estructura de la vacunación debe estar de acuerdo con la situación epidemiológica. Necesitamos el aislamiento y la razón principal es incluir los humanos hasta un punto que nos dé una respuesta sobre la protección. Lo que veo es que la hemaglutinación se usa en los hospitales, en menos grado en las provincias y en todos ellos como monitoreo, tenemos que hacer aislamiento de las cepas, esa es nuestra apreciación. En cuanto al diagnóstico usamos los sueros pareados con la misma interpretación que se ha recomendado internacionalmente.

#### **O. SABOURNIN (CUBA)**

Estamos de acuerdo en todo lo expresado por los prestigiosos profesores. Aunque, quisiera enfatizar en la serología y el aislamiento. En los últimos años hemos realizado cerca de 1 400 aislamientos de cepas de pacientes, en los que hemos hecho lo que el profesor Alexander dijo al principio, el pensamiento clínico del médico, la decisión clínica del médico, quien inmediatamente piensa y manda a realizar los exámenes y hacemos los aislamientos, sin embargo menos de 50 % son positivos a la serología. ¿Por qué? Porque reciben tratamiento inmediato y no hay estimulación del sistema inmune para crear anticuerpos y esa es una de las cosas que hay que tener en cuenta, incluyendo que ni con la hemaglutinación obtenemos positividad serológica. Queremos insistir en esto, el aislamiento es la mejor de todas y la microaglutinación es importante, pero lo más importante es el pensamiento del clínico para aislar la cepa.

#### **R. A. HARTSKEERL**

Pienso que el aislamiento es esencial para la epidemiología y también para el diagnóstico. La subestimación de la leptospirosis se debe al diagnóstico difícil en la clínica y en el laboratorio. Podemos hablar de la MAT,

pero quisiera saber ¿quién de ustedes realiza MAT? bien, la mayoría de ustedes. Ahora, ¿quiénes usan las pruebas rápidas? Pocos, ¿las necesitan? ¿Hay necesidad de las pruebas rápidas? eso es otra cosa. ¿Pueden levantar las manos? Porque quiero saber si hay necesidad de esto. Ahora PCR.

**GABRIEL TRUEBA (ECUADOR)**

Creo que a pesar de que la MAT es uno de los más efectivos o la regla de oro, como ustedes dicen, hay otras pruebas que pueden aplicarse en este campo y creo que es importante para los países como Ecuador usar esta prueba para el diagnóstico y prevenir brotes y enfermedades. Asimismo, junto con esto debemos tener un laboratorio de referencia para hacer los MAT y pienso también que debemos ser más abiertos en cuanto al uso del PCR y convocar a todos a comprender que hay muchas técnicas, muchas de ellas son buenas, pero tenemos que evaluar otras técnicas para conocer cuál es la más adecuada y conveniente para ser aplicada en términos de diagnóstico.

**ALINA LLOP (CUBA)**

Conocemos la situación en Latinoamérica. La hemos visitado y trabajamos en uno de estos países luego del huracán Mitch, donde la incidencia fue alta, no había diagnóstico y creo que en los países de la región hay falta de técnicas de diagnóstico, ellos no piensan en la leptospirosis y creo que es algo que debemos enfrentar, es decir, tenemos que tratar de encontrar diagnósticos que sean más accesibles a diferentes rangos de pacientes y no tan caros como el PCR, porque en la actualidad PCR es muy caro para la región. En México nadie puede usarlo y en estos países se importan muchos rodenticidas porque en las calles cualesquiera tropieza con una rata. Creo que la situación en esos países debe ser comprendida por expertos para encontrar algo que solucione este problema. Pienso que la biología molecular tiene un gran reto, es decir poner esto al alcance de todos en Latinoamérica, pero tal vez los grandes pensadores de la Microbiología deberían encontrar un camino más fácil. La MAT es buena, el PCR es bueno, pero hay que pensar desde el punto de vista empírico. Otra cosa es que estos países, de los cuales tenemos experiencias ya que hemos estado en ellos, no tienen una infraestructura de laboratorio que les permita realizar algunas pruebas como la de microaglutinación y esto es muy importante. Estoy de acuerdo en que esto hay que centralizarlo, pero la única forma que tenemos es a través de un laboratorio de referencia, es algo que le hemos sugerido a estos países, con el personal que puede ser entrenado para solucionar este problema, pero considero que el gran reto para los que están involucrados en el estudio de la leptospira en el diagnóstico es que el clínico debe tener otras técnicas, PCR existe, pero hay que contar con una infraestructura que no es posible en estos momentos. Creo que algo hay que hacer, encontrar otra forma, pero por supuesto más barata. Este es el gran reto de los leptospirólogos en estos momentos, encontrar otras vías, no el PCR, ni el MAT.

**OLGA GINEBRA (CUBA)**

En 1997 tuvo lugar en Cuba una Reunión Nacional sobre leptospirosis donde participó el representante de la OPS Primo Arámbulo, el cual hizo un resumen de la circulación de leptospirosis en América Latina y el Caribe. En este informe se pudo apreciar que todo el estudio estaba relacionado con veterinaria, sin embargo en humanos sólo 1 ó 2 laboratorios trabajaban la serología para leptospirosis. En Cuba, a pesar de los problemas económicos que tenemos, se realiza diagnóstico en cada provincia, con sus problemas, pero lo tenemos y sabemos qué está circulando en Cuba y que sucede aquí; tenemos incluso una vacuna. Lo que sé y quiero llevarle a ustedes es que la primera cosa que necesitamos tener es una habitación pequeña y hacer allí al menos HA, al menos inicialmente y luego tener la MAT si puede hacerse o apoyado por los veterinarios, pero hay otros que económicamente no pueden mantener un laboratorio donde haya MAT y sabemos que esto es lo que pasa en Latinoamérica, porque no sabemos que está circulando en América.

Quiero preguntar: ¿Cuál título se considera positivo en MAT para el diagnóstico clínico, sobre la base de cuál título? No diría sueros pareados si tenemos la epidemiología y la clínica? ¿Cuándo tengo que evaluar esto? He leído sobre el tema y a veces se dice 1:10, otras 1:40 y otras 1:100, ¿cuál de estos es el correcto?

**MARINA CINCO**

El título más bajo para ser positivo en nuestro país es 1:100, y por supuesto tiene que haber 2 muestras con 15 días de intervalo entre ellas y se observa la seroconversión. Pero en cuanto a los estudios epidemiológicos esto es muy controversial. Hemos hecho muchos estudios seroepidemiológicos y tuvimos que bajar nuestro límite hasta cerca de 1:50 e hicimos esto para tener base para hacer los estudios seroepidemiológicos, y no estoy segura de que sea correcto, porque depende de cuán vieja sea la infección, por lo que el título empieza a bajar y a bajar, esto es lo que se acordó y no estoy segura de que sea verdadero.

**R. A. HARTSKEERL**

Estoy de acuerdo con lo que dijo Marina y hay una diferencia si se está haciendo un estudio epidemiológico o si se está hablando de diagnóstico. Pienso que si hablamos de diagnóstico y usted tiene solo una muestra y un título bajo y tiene que determinar si es positivo o negativo, creo que no hay una respuesta general. En un área poco endémica 1:200 puede ser positivo, pero en un área muy endémica, donde hay mucha leptospirosis, donde hay muchas otras infecciones, tiene que tener un gran antecedente de títulos altos por MAT. Un título de 1:200 no sería significativo, por lo que tiene que usar su título más alto. Pienso que esto debe estudiarse de acuerdo con la situación de cada uno. No hay respuesta general para ello.

**DRA. MARGARIDA COLLARES**

Era eso de lo que quería hablar. Tenemos que considerar si hablamos de zonas no endémicas, en estas un título alto tiene un alto significado, pero si es un área endémica, creo que aquí en Cuba han tenido éxito con los cultivos, es mejor si puede confirmar si hay un aislamiento y luego tratar de comprender, de comparar cual es la reactividad real del paciente al que se le hizo el aislamiento, y así puede comenzar a tener experiencia con sus propios casos, comparándolos con los que tuvieron aislamiento positivo y tuvieron cierta reactividad para establecer el nivel por el cual se considerará positivo. Por lo que presten atención a las zonas endémica o no endémicas porque su significación es totalmente diferente.

**R. A. HARTSKEERL**

Podemos pasar al siguiente tema, la vigilancia y el control. Me gustaría comenzar con la vigilancia.

Nosotros en este momento tenemos un proyecto de investigación sobre la red de colaboración en América Central, también Cuba participa, y tiene que ver con las fiebres hemorrágicas, no solo el diagnóstico, sino también la vigilancia y la vigilancia internacional en áreas muy endémicas. Basados en esto, me gustaría conocer directamente del público su opinión sobre estas redes de colaboración autosostenibles. ¿Dolores?

**DOLORES G. GAVALDÓN (MÉXICO)**

Luego del taller, la preocupación principal de los delegados de los países presentes en el curso, es la idea de la creación de una sociedad, la Sociedad Latinoamericana de Leptospirosis, en este sentido, estamos buscando la posibilidad de tener una reunión donde intercambiar nuestras experiencias y hablar de los diferentes

métodos y problemas que nuestros países tienen; y por tanto la primera propuesta fue de una reunión en 2 años en Honduras y solicitar la colaboración de la Sociedad Internacional de Leptospirosis. Tenemos interés, los participantes latinoamericanos: Cuba, Colombia, Brasil, México, Chile, Panamá de crear esta sociedad.

**R. A. HARTSKEERL**

Está claro que usted está proponiendo en este momento la creación de una sociedad para leptospirosis que trabaje solo en Latinoamérica.

**DOLORES G. GAVALDÓN**

En este sentido hemos tratado de saber qué definir como Latinoamérica. Al principio, decidimos tener una sociedad latinoamericana, por supuesto, queriendo decir Latino América, tenemos que acordar incluir los países hispanohablantes de la región o solo algunos de la región, pero sí queremos crear esta sociedad.

**D' ALEXANDER**

Es una idea muy buena, pienso que pueden contactar la oficina PAHO, que podría ayudar.

**OTRO PARTICIPANTE**

En el Caribe hay países como Jamaica, Barbados y otros que tienen alguna información sobre leptospirosis. El Centro Caribeño de Epidemiología es muy importante. Su boletín iba a incluir algunos reportes de leptospirosis en el Caribe. Pienso que es el primer paso de este centro para certificar el diagnóstico y los estudios de la entidad en el Caribe y como el profesor dijo, también tenemos PAHO, pero creo es importante que los países caribeños y latinoamericanos lleguen a un consenso sobre los casos con sospecha de leptospirosis y creo que esta es una forma de hablar el mismo lenguaje, y de saber que estamos hablando de los mismos parámetros porque sabemos que en México hay criterios sobre algunos casos y sabemos también que Cuba tiene un programa muy bien establecido en el que se incluyen las funciones del Ministro de Salud. Creo que este programa de Cuba debe analizarle y examinarse porque es muy exitoso y muy entendible, ya que tiene un grupo de acciones y de experiencias. Por ejemplo, Jamaica tiene conocimiento de leptospirosis, pero no tiene programa; lo mismo ocurre con Barbados, conocen la morbilidad, pero no tienen programa. Estas son acciones aisladas, pero pienso debemos apuntar hacia la acción conjunta.

**OTRA PARTICIPANTE**

Entiendo la necesidad que tienen de tener una organización regional para América Latina, ya que de hecho ustedes viven en una parte diferente del mundo, son áreas diferentes, son áreas tropicales. Para mí ustedes tienen más leptospirosis que la que tenemos en otros hemisferios, por eso entiendo la necesidad de estar juntos en cierta medida, ustedes necesitan estandarizar sus patentes, por ejemplo tienen necesidad de estandarizar el MAT, tienen las mismas condiciones básicas; la única cosa que pienso deben considerar es el riesgo de que sí estén solos, solo los hispanohablantes, tratando de luchar y de resolver sus propios problemas. Creo que pueden incorporar algunas personas de la OMS, de centros internacionales de referencia para que sean sus asesores, o en cierta medida para que los ayuden a encontrar las soluciones, las soluciones básicas para el área latinoamericana, tratando de utilizar las experiencias de otros países, de otras personas, tratar de

llevar esos resultados a la ILS, porque es la instancia internacional y todos necesitamos estar representados allí, personas de todas las regiones del trópico y de otras áreas importantes. Comprendo muy bien esto y estoy a favor de la creación de estas organizaciones regionales.

**R. A. HARTSKEERL**

Yo pienso que es perfectamente posible tener organizaciones específicas entre los países latinoamericanos, países que hablan el idioma español; teniendo su propia organización, sus reuniones separadas de la ILS. La india, por ejemplo, tiene organizaciones como esta. Por lo que yo no tengo objeción, no veo objeciones para que tengan su propia organización, sus propias reuniones, intercambio de información en su propio lenguaje; y por supuesto es bueno discutir con PAHO y WHO, pero no pienso que haya ningún problema.

**MARINA CINCO**

Recuerdo que en la década del 60 había representantes latinoamericanos en la OMS, si recuerdo bien había alguien de Argentina y en la Conferencia de Ciudad México en 1964 había un grupo muy bueno de leptospirosis, siempre hubo alguien y no veo por qué no se podría comenzar de nuevo.

**DOLORES G. GAVALDÓN**

Durante el curso casi al final tuvimos la idea y el entusiasmo, pero tenemos poca experiencia y orientación. En aquel momento se habló de buscar el reconocimiento de la OPS-OMS, algún tipo de reconocimiento. La doctora Carmen Fernández sería una buena organizadora en este sentido, y ahora que están ustedes aquí le pedimos al doctor Hartskeerl que fuera nuestro tutor o padrino. Esto es solo un comentario, pero pienso que es lo que muchos sienten. Los expertos pudieran ser en alguna medida los asesores en diferentes momentos de preocupación que pudieran surgir. De lo otro que hablamos con el doctor Hartskeerl fue de la asociación a diferentes niveles de todos los protocolos, normas y regulaciones. Pensamos que a través del doctor Hartskeerl podríamos obtener un modelo, personalmente hablando, pienso que todos estarán de acuerdo con solicitar su colaboración, algún tipo de tutoría, o consejería en esta asociación. Muchos creen que esto ya está creado, que solo necesita ser reconocido, que esto es lo que falta.

**OSCAR VELAZCO CASTREJÓN (MÉXICO)**

Hace tres meses en México estuve con el doctor Álvarez, un epidemiólogo que está muy interesado en la leptospirosis. El vio el trabajo que preparé y los problemas que estábamos enfrentando en la Secretaría de Salud y me dijo, Oscar, veo que hay muchas personas en México que mueren de leptospirosis y la Secretaría de Salud le da otro nombre, por lo que quiero que hagan lo siguiente, después de ver qué ustedes están haciendo, celebren una reunión mexicana para invitar a los expertos internacionales y luego podremos ver cuán importante es la leptospirosis y darle así el lugar que merece. Pero hace un mes, fue enviado de representante a Colombia, él dejó a otro. Ellos están muy interesados en crear un grupo de trabajo sobre leptospirosis. El doctor Caballero, experto mexicano en leptospirosis, habló durante 5 años de la leptospirosis, conoce mucho de ella y pienso que pudiera ser una buena sugerencia. La organización panamericana está interesada en la creación de este grupo y quería presentarles esta propuesta. En cuanto a la reunión de Honduras, pienso que debe celebrarse en un año y no en dos.

**R. A. HARTSKEERL**

Hubo un laboratorio de referencia en el Centro Panamericano de Zoonosis. ¿Qué ocurrió con él? Se cerró? ¿Sabe alguien algo de esto?

Ya no está funcionando el laboratorio de referencia de la OMS en Argentina, entonces ¿podemos resumir? En este momento ustedes sugieren el establecimiento de una Asociación Latinoamericana de leptospirosis. Esta tendría apoyo internacional. ¿Es así? Ustedes nos piden a Carmen Fernández y a mí, en mi capacidad de secretario de la ILS apoyarlos en su creación. Entonces, ¿quién los va a dirigir? Porque alguien tiene que hacerlo. Ustedes me dicen que establezcamos la organización, pero entonces es necesario un poco de acción.

**LUIS PEDRO MOLES**

México, como representante puede aceptar la responsabilidad junto con Carmen. La organización de la próxima reunión. El grupo mexicano acepta la organización de todas estas actividades y de hacer contactos con Carmen y otros representantes para organizar esta reunión.

**R. A. HARTSKEERL**

¿Hay consenso general para esto? ¿Sí? Esto aún no está claro para mí. En el auditorio, de los participantes latinoamericanos ¿están de acuerdo con el establecimiento de esta organización regional? Por favor, levanten las manos. Bien. Es un sí evidente y se grabó.

**BEN ADLER**

Yo pienso que todos ustedes estén de acuerdo conmigo, que han sido 2 días excelentes y estimulantes. Hemos escuchado interesantes trabajos sobre leptospirosis. Pienso que reuniones como estas tan importantes para el progreso científico, representan la oportunidad para, de forma activa, conocer personas y hacer contactos, porque sin el contacto personal usted nunca colaborará con nadie; se necesita conocer a la persona y poder confiar en ella para establecer una colaboración. Este es un deleite que en estos momentos ni el correo electrónico, ni INTERNET sustituyen, el contacto cara a cara, la buena discusión. Por lo que considero que esta Reunión Científica ha sido valiosa, ha sido genial.

## Resúmenes de los trabajos presentados

### EPIDEMIOLOGY OF LEPTOSPIROSIS (LECTURE).

*Michel Virginie, Branger Christine, Andre-Fontaine Geneviève*  
 andre-fontaine@vet-nantes.fr  
 Ecole Nationale Veterinaire, Nantes. France

Leptospirosis is a worldwide zoonosis, especially in tropical countries. The large geographical repartition in the world is associated with the various animal species infected by pathogenic *Leptospira*.

But animals infected by pathogenic *Leptospira* either exhibit clinical signs or are infected without expressing any disease. These two types of species play a strong role in the epidemiology of leptospirosis. Infected but no diseased animals are the efficient reservoirs of leptospires because they are generally renal carriers, shedding leptospires in their urines. Many wild animals are involved in the epidemiology of leptospirosis especially the well known Rodents (rats, mice, coypus...) but other mammals as Herbivorous (deers...) and even Carnivorous (as fox in european countries or mangoose in caribbean islands) could shed leptospires. Two types of diseased animals have to be taken in account: very receptive animals as dogs and less receptive as cattle, swine and horse. Frequently dogs exhibit an acute disease with lethal onset while chronical reproductive failure are generally observed in the other domestic species. But most of them, after the recover could remain renal carriers shedding pathogenic leptospires. All of these animal species, shedding leptospires in their urines, contaminate their environnement. Stagnant fresh water provides an adequal survival medium for the pathogenic leptospires, becoming a powerful source of infection for humans and domestic animals. So humans can be contaminated either by direct transmission by contact with animals or by indirect transmission by contact with soiled waters.

### LEPTOSPIROSIS: SURVEILLANCE AND CONTROL (LECTURE)

*R. Hartskeerl*  
 R. Hartskeerl@kit.nl  
 Royal Tropical Institute, The Neterlands.

Leptospirosis is a zoonosis, which occurs world-wide but is most prevalent in humid tropical and sub-tropical countries. Clinical manifestations are highly variable and may mimic many other febrile diseases, like influenza, enteric-like diseases, malaria, brucellosis, viral hemorrhagic diseases (notably dengue and hantavirus infections), yellow fever, and hepatitis, therefore, leptospirosis is difficult to diagnose in the clinic and often is confused with other febrile diseases. As a consequence of the difficult clinical diagnosis, leptospirosis is a neglected disease suffering from under-diagnosis and underreporting. In turn, underreporting leads to unawareness, underestimation and neglecting, and so a vicious circle is created. Clearly, laboratory tests to confirm the diagnosis are indispensable. However, most laboratory tools are complicated, laborious or unreliable. As an alternative, various quick tests have been developed. The ideal test should be easy, simple, reliable, quick, stable and affordable. The LEPTO Lateral Flow and the LEPTO DriDot tests combine most, if not all, of these criteria. Both are simple, quick and consist of ingredients, which are stable and do not need refrigeration for storage. Their robustness in terms of sensitivity and specificity has been demonstrated in world-wide multicentre studies. The Lateral Flow test detects anti-*leptospira* IgM antibodies in human serum and the result is obtained in 10 minutes. The DriDot detects anti-*Leptospira* antibodies in human serum and gives a result in 1 minute. Sensitivity and specificity of both tests are comparable with the IgM ELISA and their format enables the application under difficult conditions including the mostly primitive conditions as occurring during outbreaks. It is expected that quick tools now available will contribute to an improved diagnosis and, in the end, to an increased awareness of leptospirosis world-wide. Apart from improved diagnosis, establishment of adequate surveillance will be a factor to increase awareness. Surveillance can be done by hospital based studies or 'active' (PCR- or sero) surveillance (risk groups, cohort studies, blood banks). Hospital based studies may give a bias towards severity of the disease but are useful for early monitoring of potential outbreaks. The 'active' surveillance approach will provide data of leptospirosis as an infection rather than as a disease and thus as a public health problem, as also mild cases and subclinical infections may be found. For the design of intervention measures knowledge of the source and potential transmission route is essential. To identify the infection source, it is important to know the identity of the infecting leptospires serovar. For characterisation both serological methods and DNA-based methods are available. The serological classification does not correlate closely with the genetic classification. To obtain a 'complete' (i.e. genotypic and phenotypic) characterisation, both approaches should be applied. However, this is not always a necessity. In each investigation one should consider which approach will provide an adequate and rapid answer. Currently, there is a variety of DNA-based methods available that allow identification. For phylogenetic analysis the sequence of the *rrs* gene coding for

the 16S rRNA is used as a standard. However, other targets might be suitable as well. The primer set G1/G2 amplifies DNA from the *secY* gene that is located in the *S10-spc-a* operon coding for the ribosomal proteins. Like the *rrs* sequences, the *secY* sequence has alternating conserved and variable regions. Analysis of the 285 bp sequence of the G1/G2 amplicon from over sixty strains revealed a phylogenetic tree that was much similar to the tree developed on *rrs* sequences indicating the suitability of the much smaller partial *secY* sequence (and thus cheaper and easier to analyse) for phylogenetic analysis of leptospires. The epidemiology of leptospirosis is a complex and dynamic process. There are too many variables to give a single generally applicable rule for control. Each situation requires a tailor made solution. The control of hardjo infections in The Netherlands based on monitoring of infected herds combined with treatment and herd management is presented as a suitable example of successful intervention.

#### LA RATA Y EL PERRO IMPORTANTES VECTORES DE LA LEPTOSPIROSIS EN EXPLOTACIONES PECUARIAS DE CD. GUZMÁN, JALISCO

*Sepúlveda Montes Adán, Santiago Dimas Jorge y Preciado Rodríguez Fco. Javier*

Los factores infecciosos que causan más problemas en la reproducción, pueden ser de múltiples etiologías, considerando entre las bacterianas de más importancia a la brucelosis y leptospirosis. La leptospirosis es una zoonosis que afecta a numerosos animales tanto domésticos como silvestres. Las fuentes de contaminación del patógeno, pueden ser múltiples e incluyen el contacto con tejidos u orina de animales infectados. En las zonas urbanas, esta enfermedad es frecuente debido a la presencia de un elevado número de ratas, ya que estos roedores se les considera como portadores permanentes de la *Leptospira interrogans*. En el área pecuaria infestan casi todas las propiedades de cría de animales. Estos depredadores pueden comer cerca de 10 % de su peso cada día (10 a 15 kg/año/rata) y lo más importante, contaminan mucho más alimento del que pueden comer, lo que favorece la transmisión y dispersión de las leptospirosis por contaminación del alimento y agua a través de su orina. Y sin lugar a dudas, otro vector importante de contaminación en granjas y establos son los perros, que generalmente siempre existen en este tipo de lugares cumpliendo alguna función específica. Pero que también por su conducta muy especial de la especie canina, de marcar sus territorios con orina, esta se disemina fácilmente por toda la granja o establo y en ocasiones llevando la contaminación directamente al alimento y agua que va a ser consumida por los mismos. O incluso en algunos casos estos animales comparten un mismo lugar de desarrollo, lo que facilita aún más la contaminación directa del patógeno. Por lo anterior se buscó identificar cuál es la situación actual de la leptospirosis en este tipo de vectores. En un primer trabajo se estudiaron 354 ratas (*Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*) atrapadas en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco, para conocer que serotipos son más frecuentemente diseminados por esta especie. De las 354 muestras analizadas 22 (6,20 %) fueron positivas y 34 (9,6 %) fueron sospechosas. Se observó también que de las 140 ratas atrapadas en establos en 14 se encontró anticuerpos de *L. interrogans* y de las 214 que se atraparon en granjas, en 24 se encontró seropositividad.

#### ESTRATEGIA CUBANA PARA EL CONTROL Y PREVENCIÓN DE LA LEPTOSPIROSIS EN CUBA (CONFERENCIA)

*Raúl Cruz de la Paz*

Ministerio de Salud Pública de Cuba  
Cuba.

#### RESPUESTA ADAPTATIVA DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS* (SENSU STRICTO) A AGUA DULCE

*Sonia Zapata, Clever Madrid y Gabriel Trueba*

Gabriel @mail.usfq.edu.ec  
Universidad San Francisco de Quito  
Ecuador.

El contacto con agua contaminada es la principal causa de los brotes de leptospirosis. A pesar de la gran importancia de esta fuente de infección, poco o nada se sabe acerca de los mecanismos de adaptación de *Leptospira* patógena al agua dulce. El propósito de este estudio fue identificar cambios en la expresión de proteínas de membrana externa de *L. interrogans* serovar canicola, cuando se le transfiere de un medio de cultivo, a agua destilada (pH 7,2). Las leptospirosis cultivadas en medio EMJH fueron cosechadas y mantenidas por 5 d en agua, luego se obtuvo la membrana externa (OM) de estas células utilizando Triton X114. Los componentes proteicos de la membrana externa fueron analizados mediante electroforesis en geles de acrilamida (SDS-PAGE). Cuando se compararon los perfiles de proteínas de OM de leptospirosis mantenidas en agua con aquellos perfiles de OM de células cultivadas en medio EMJH, se pudieron observar algunas diferencias. Una proteína de 54 kDa fue observada únicamente en leptospirosis que fueron mantenidas en agua por una semana mientras que otra proteína de 58 kDa se encuentra aparentemente en membrana externa de leptospirosis cultivadas

en medio EMJH pero no en aquellas mantenidas en agua destilada. Un análisis de *western blot* descartó la posibilidad de que estas proteínas sean la proteína chaperona.

#### LEPTOSPIROSIS. PRESENTACIÓN EN ANIMALES DE INTERÉS ECONÓMICO Y AFECTIVOS

Teresa Puentes,<sup>1</sup> Felipa Herrera,<sup>2</sup> L. García,<sup>1</sup> Layda Delgado,<sup>2</sup> Miriam González<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Veterinaria. Nivel Central. MINAGRI; <sup>2</sup>Centro Nacional de Epizootiología y Diagnóstico(CENEDI) del IMV.

En el presente trabajo se analizan los resultados obtenidos en los aislamientos y clasificación de cepas, así como el trabajo realizado en las encuestas serológicas en el país, en los animales de importancia económica a partir del año 1988, destacándose los serogrupos Pomona, Canicola, Ballum e Icterohaemorrhagiae, como los más frecuentes en los animales; lo que ha permitido el conocimiento de los serogrupos circulantes por especies y reducir la batería de antígeno en el diagnóstico de rutina. También es objeto de este trabajo evaluar las condiciones epidemiológicas la prevalencia e incidencia de focos en las especies antes mencionadas, durante el período 1992-2000, observándose un comportamiento uniforme en estas especies. Se estudia además por la información aportada por el sistema de vigilancia epizootiológica (SIVE), del instituto de Medicina Veterinaria, los focos aparecidos en los animales afectivos, observándose un incremento en los caninos. Todos estos resultados han contribuido al perfeccionamiento del programa de lucha y control para esta enfermedad.

#### EPIDEMIOLOGICAL EVALUATION OF THE IMPORTANCE OF RODENTS IN *LEPTOSPIRA* HUMAN TRANSMISSION IN PORTUGAL

Collares-Pereira M, Vieira M, Santos-Reis M

Mcp@ihmt.unl.pt

Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Portugal

**Introduction:** In Portugal, human leptospirosis has been considered a Public Health problem of increasing importance, particularly in Azores Archipelago, where the occurrence of fatal cases in recent years justifies an integrated approach of the clinical and eco-epidemiological aspects of this disease. **Objective:** To present data obtained since 1993 on the recognition of host-parasite interaction under an ecological perspective, in different geographic areas (mainland and Azores), through the analysis of the zoonotic importance for man of the pathogenic species and their natural reservoirs. **Material and Methods:** A total of 725 animals, from 6 rodent species and 2 species of insectivores, were analysed for the direct (EMJH kidney culturing) and indirect search (MAT) of leptospires. Isolates were typed using both conventional and molecular tests. Simultaneously, 1986 inpatients (mostly anicteric forms) coming from different hospitals in mainland (Center region, N=1624) and in Azores islands (S.Miguel, N=240 and Terceira, N=122) were serologically tested for the presence of specific agglutinins anti-*Leptospira interrogans sensu lato* (Jan/1990 to Dec/2000). **Results:** A significant number (n=228, 29%) of chronic renal carriers was identified, that were responsible for the maintenance of five *L.interrogans sensu lato* serovars (icterohaemorrhagiae, copenhageni, arborea, ballum e mozdok types 1, 2 e 3), whose distribution is influenced by certain bio-ecological factors, associated to either the reservoir (species and age) on the geographic area (temperature and humidity). Furthermore, the percentages of seropositivity amongst the observed patients were very high (around 25% in central mainland and 38% in the Azores Islands) with a regional specific distribution of the leptospirosis agents. **Conclusions:** The obtained data confirmed the dominant role of rodents as major reservoirs of *Leptospira* strains, potentially the most involved in the increasing number of human cases in the studied insular areas, disregarding the clinical picture of the disease.

#### LEPTOSPIROSIS ANIMAL. COMPORTAMIENTO EN NUESTRO MEDIO

Teresa Puentes;<sup>1</sup> L. García;<sup>1</sup> E. Pérez;<sup>2</sup> R. Vázquez;<sup>2</sup> Alicia Figueroa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Veterinaria. Nivel Central; <sup>2</sup>Instituto de Meteorología CITMA

Se realizó un estudio de la estacionalidad de la enfermedad en todo el territorio nacional, según los datos aportados por el Sistema de Vigilancia Epizootiológica (SIVE) del Instituto de Medicina Veterinaria (IMV) de los focos reportados mensualmente durante el período 1993-2000. Teniendo en cuenta los requerimientos fisiológicos del agente etiológico para su supervivencia y patogenicidad, se analizan los datos aportados por el Instituto de Meteorología del citma. En cuanto a temperatura, humedad, régimen de lluvia, lo

cual permitió conocer que existen condiciones favorables en nuestro medio para la aparición de la leptospirosis en diferentes épocas del año.

#### **ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *L. INTERROGANS* EN EL MUNICIPIO DE MARCAVIA, CHOLUTECA, HONDURAS**

*Madrid I, Pinel L, Orellana B, Lagos L, Solorzano O, Barahona C*  
Instituto Hondureño de Investigaciones Médico Veterinarias. Honduras

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial con altas incidencias en los países tropicales. Reportes de casos humanos sospechosos de leptospirosis con alta letalidad se han dado en el Departamento de Choluteca y han sido documentados por la Secretaría de Salud. Este estudio sirvió para responder a la necesidad de establecer la prevalencia de anticuerpos contra *L. interrogans* ya que se tenía ninguna información en humanos y determinar los factores de riesgo para la transmisión en la zona para la prevención y control de la Leptospirosis. Se hizo un muestreo de 30 localidades seleccionadas en el municipio de Marcovia, Choluteca, obteniéndose 657 muestras.

- El método de diagnóstico laboratorial utilizado fue el método estandar de microaglutinación (MAT) con 12 serovares.
- Del total de muestras recibidas, 143 fueron reactivos a diferentes serovares.
- Los serovares de mayor prevalencia fueron: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. ballum*.

#### **LEPTOSPIROSIS ASOCIADA A UVEITIS, UN REPORTE DE 90 CASOS**

*Velasco-Castrejón Oscar, Rivas-Sánchez Beatriz.*

Velasco.oscar@elfoco.com , oscarvel@terra.com.mx

Clínica de Medicina Tropical. Unidad de Medicina Experimental. Facultad de Medicina, UNAM-Hospital General de México, SSA.

La uveitis es una enfermedad multicausal común en el mundo. Asociada a leptospirosis en animales y humanos, se observa cada día con mayor frecuencia, debido más que nada a la búsqueda que se hace de ella. Habitualmente los reportes de uveitis asociada a leptospirosis, se realizan después de brotes de leptospirosis aguda, ocurridos después de grandes inundaciones en áreas rurales de países subdesarrollados.

Este trabajo tiene como objetivo presentar la frecuencia de leptospirosis asociada, en 90 casos de uveitis de diversas características clínicas y susuestas etiologías, enviados por el servicio de Oftalmología del Hospital General de México. Los casos: 57 femeninos y 33 masculinos, de edades comprendidas entre 7 a 76 años, llegaron etiquetados con los diagnósticos de uveitis inespecífica, toxoplasmósica, viral, tuberculosa, autoinmune, etc. y casi siempre multitratados con corticoesteroides y muchos otros fármacos, casi siempre sin éxito. El diagnóstico de leptospirosis se realizó mediante la observación microscópica y videograbación del agente etiológico en sangre y otros fluidos orgánicos a 3 000 – 5 000 aumentos en campos claro y oscuro, utilizando un equipo de microvideograbación Zeiss-Sony-Macintosh (VECOVISION) y algunas veces en orina en campo oscuro convencional. Solo en 3 casos se hizo la búsqueda de leptospira en humor acuoso mediante microscopia de campo oscuro y VECOVISION, con resultados positivos en 2 de ellos. Es importante hacer notar que muchos de los pacientes uveíticos tenían sintomatología sugestiva de leptospirosis crónica: cefalea, fatiga rápida, somnolencia, mialgias, artralgias, sangrado de mucosas, molestias parecidas a sinusitis, nicturia, depresión e incluso algunos, alteración de pruebas funcionales hepáticas.

#### **TRANSICIÓN DE LA LEPTOSPIROSIS AGUDA A CRÓNICA**

*Velasco-Castrejón Oscar, Rivas-Sánchez Beatriz.*

Velasco.oscar@elfoco.com , oscarvel@terra.com.mx

Clínica de Medicina Tropical. Unidad de Medicina Experimental. Facultad de Medicina, UNAM-Hospital General de México, SSA.

Se ha especulado durante mucho tiempo sobre la existencia de la leptospirosis crónica en animales y humanos. En los animales la cronicidad se ha reconocido múltiples veces, pero en los humanos, esta no ha podido demostrarse fehacientemente, debido a las

dificultades para realizar su diagnóstico. En los últimos 3 años y merced al desarrollo por nuestra parte de un sistema de observación microscópica capaz de visualizar y «filmar» a leptospira en sangre con 3 a 5,000 aumentos con un equipo Zeiss-Sony-Macintosh (VECOVISION), así como algunas veces por la inoculación de animales de laboratorio, hemos subsanado ese problema, por lo que ahora no es difícil diagnosticar ese tipo de pacientes. También ha sido muy importante, el seguimiento adecuado de los pacientes agudos, fruto de un gran acercamiento de ellos a nuestro programa. Así, algunos pacientes agudos diagnosticados mediante MAT (microaglutinación en placa) y VECOVISION y curados mediante tratamiento durante 3 a 4 semanas con 200 mg de doxiciclina, han regresado meses o más de un año después, con un cuadro clínico compatible con leptospirosis crónica: cefalea, febrícula, astenia, adinamia, fatiga crónica, sangrado de piel y mucosas, mialgias, artralgias asociadas a veces a cuadros digestivos, renales, depresión, problemas del sistema nervioso central, e incluso síndrome de Weil típico. En este artículo resumimos el seguimiento de 7 casos seleccionados que después de padecer leptospirosis aguda, curaron clínica y serológicamente, para recaer más tarde, sufriendo ahora leptospirosis crónica o persistente.

#### **PREVALENCIA DE ANTICUERPOS DE *LEPTOSPIRA* Y FACTORES DE RIESGO EN NIÑOS DE ESCUELAS DEL ÁREA NORTE DEL MUNICIPIO CIEGO DE ÁVILA**

*Miguel Suárez, Osvaldo Cervantes, Juana María Alonso, Milagros Legón*  
CPEM Ciego de Ávila. Cuba.

Se realizó un estudio de corte transversal para conocer la prevalencia y los factores de riesgo de la infección de *Leptospira* en escolares del área norte del municipio Ciego de Ávila, mediante el muestreo de conglomerados bietápicos se estimó una muestra de 370 niños a los cuales se les tomó una muestra de sangre que fue procesada por las técnicas de hemoaglutinación y microaglutinación de leptospira. La primera se partió de diluciones de 1 por 10 y la segunda de 1 por 50. Se trabajaron con 21 serogrupos en la microaglutinación. A cada padre se le aplicó un cuestionario, el cual había sido previamente validado. El 15 % de los niños estudiados tenían anticuerpos, siendo más frecuente en el grupo de 10 a 14 años y en el sexo femenino. Los factores de riesgo que presentaron una frecuencia estadísticamente significativa fueron contacto directo con animales domésticos en la vivienda y presencia de ratas o ratones. El 46 % de los casos seropositivos presentaron episodios anteriores de morbilidad por infección respiratoria aguda y sepsis urinaria.

#### **VECOVISIÓN, UN NUEVO MÉTODO IMAGENOLÓGICO PARA EL DIAGNÓSTICO DEFINITIVO DE LEPTOSPIROSIS**

*O. Velasco-Castrejón, B. Rivas-Sánchez, I. Becker, A. Velasco-Castrejón.*

Velasco.oscar@elfoco.com , oscarvel@terra.com.mx

Clínica de Medicina Tropical. Unidad de Medicina Experimental, Fac. de Med., UNAM-Hospital General de México, Mex. D. F.

Realizar el diagnóstico de leptospirosis no es nada fácil, por las dificultades para observar, teñir y cultivar a la bacteria causal. Debido a lo anterior, a lo largo del tiempo se ha utilizado una técnica serológica para compensar estas dificultades, la MAT, a la cual se le han añadido otras técnicas serológicas, pero debido aparentemente a que la bacteria no es el inmunógeno ideal o el individuo se torna inmunotolerante, es común que las titulaciones que exigen las normas oficiales, brinden resultados negativos, incluso en cuadros graves de leptospirosis aguda, como puede desprenderse de varios estudios, entre ellos el del brote de Nicaragua de 1985 donde un importante porcentaje de los casos resultaron MAT negativos, además de que no es raro aislar leptospira en pacientes humanos o animales con cuadros típicos de leptospirosis, en los que la MAT fue negativa. El diagnóstico es particularmente difícil en pacientes con leptospirosis crónica o persistente, donde la serología solo es positiva a títulos bajos, títulos considerados no diagnósticos por las normas oficiales. De acuerdo con lo antes mencionado, los autores proponen un método de diagnóstico, basado en la observación microscópica en campo claro y oscuro de fluidos biológicos (particularmente sangre) y su videograbación, utilizando un equipo de microvideograbación Zeiss-Sony-Macintosh que permite incrementar la imagen microscópica hasta 5 000X, volviendo a las leptospiras relativamente fáciles de observar. Este método ha permitido el diagnóstico de más de 600 casos de pacientes crónicos, e incluso de moribundos con síndrome de Weil u otras formas clínicas de leptospirosis grave, en los cuales la serología (MAT) a las diluciones exigidas por las normas oficiales, brindó en su inmensa mayoría ( $\geq 70\%$ ) resultados negativos, y que parece ser la respuesta a la búsqueda de métodos de diagnóstico, de lo que el Centro de Información de la Enfermedad de Weil, del Reino Unido, llama leptospirosis persistente.

**DETERMINATION OF THE PREVALENCE OF PATHOGENIC LEPTOSPIROSIS INFECTION IN CATTLE AND SHEEP IN THE SOUTHEAST AND SOUTHWEST MESOREGIONS OF THE STATE OF RIO GRANDE DEL SUR, BRAZIL**

*Geder Paulo Herrmann,<sup>1,2</sup> Elvio Carlos Moreira,<sup>2</sup> Andrey Pereira Lage,<sup>2</sup> Rômulo Cerqueira Leite<sup>2</sup>*  
Gederpaulo@bol.com.br

<sup>1</sup>Univesidade Federal de Santa Maria, Santa Maria RS. <sup>2</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.BRAZIL

The *Leptospira* sp. is an important bacteria for men and domestic animals used both for the cattle industry and for company. The Southeast and Southwest Mesoregions of Rio Grande do Sul have an estimated population of 4.792.202 cattle and 3.793.342 sheep, they are raised in intensive systems in the same pastures and watery in a proportion of 1,2:1 cattle to sheep. Several are the clinical manifestations in cattle caused by pathogenic leptospirosis, we detach in the moment the reproductive problems that are estrus repetition and abortion that cause serious economical losses. With the objective to determine the prevalence of pathogenic leptospirosis infection in cattle and sheep, it was collected blood samples of 1360 cattle and 1360 sheep all in reproductive age, of 163 farms of 18 counties. To calculate the size of the blood collection it was estimated an expected prevalence of 15% with an error of 20% and with 95% of confidence. The results obtained in the Rapid Microagglutination Test (MAR), with live antigens, demonstrated 464 positive cattle serum with 549 reactions and 459 positive sheep serum with 730 reactions, with titles varying from 100 to 3200. The cattle/sheep prevalence was *Leptospira hardjo* genotype Hardjoprajitno (418/221), hebdomadis (31/15), wolffi (17/25), grippotyphosa (15/7), pomona (15/16), tarassovi (14/7), pyrogenes (12/20), bratislava (10/4), hardjo genotype Hardjoprajitno OMS (8/103), autumnalis (7/3), fortbragg (1/76), icterohaemorrhagiae (1/14) sentot (0/150), castellonis (0/16), australis (0/17), sejroe (0/16), canicola (0/12). From the results obtained we can conclude that *L. hardjo* genotype Hardjoprajitno was the most prevalent of the pathogenic leptospirosis of all studied species, demonstrating that sheep can be maintenance host for leptospirosis for cattle raised in an extensive form.

**SITUACIÓN DE LA LEPTOSPIROSIS ANIMAL EN CUBA**

*Duarte Clara L,<sup>1</sup> Herrera Felipa,<sup>1</sup> Puentes Teresa,<sup>2</sup> Delgado Layda,<sup>1</sup> González Miriam,<sup>1</sup> Goicochea Nuria<sup>1</sup>*  
clarita@diramic.cneuro.edu.cu

<sup>1</sup>Centro Nacional de Epizootiología Diagnóstico e Investigación.

<sup>2</sup> Instituto de Medicina Veterinaria. Cuba.

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa muy difundida, con una diversidad de signos clínicos observada entre las diferentes especies que la padecen determinada por la virulencia de la serovariedad involucrada, la susceptibilidad de los individuos y también por las condiciones del medio ambiente. Los animales enfermos se convierten en portadores, infectando los animales en contacto con ellos, su orina contamina las áreas superficiales lo cual conlleva la contaminación de otros animales incluyendo el hombre, de ahí su importancia como zoonosis. El objetivo del presente estudio es brindar una panorámica de la situación de la leptospirosis en los animales de importancia agrícola y afectivos en Cuba. El trabajo muestra los resultados serológicos de las encuestas nacionales realizadas en la red de laboratorios del país, permitiendo conocer los serogrupos circulantes como Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Ballum, Tarassovi, Australis, Hebdomadis y Sejroe. En cuanto a los resultados bacteriológicos de las cepas aisladas en los animales, el hombre y el agua están presentes principalmente los serovares, pomona, mozdok, canicola, broomi, copenhageni, paidjan, australis, bratislava, arborea, ballum entre otros. Se aprecia los valores de prevalencia e incidencia en los animales de importancia agrícola, así como el análisis de los focos reportados por nuestro Sistema de Vigilancia Epizootiológica, observándose que los sectores productivos más comprometidos son el privado y el estatal no especializado, siendo la especie más afectada la canina, dado esto por el incremento de casos que son atendidos en nuestras clínicas veterinarias.

Con este trabajo se evidencia la necesidad de realizar estudios en el nivel nacional que indiquen la situación de esta enfermedad.

**ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS BOVINA EN MÉXICO (1995-2000)**

*Moles CLP,<sup>1,2</sup> Cisneros PMA,<sup>1</sup> Gavaldón RD,<sup>1</sup> Torres BJ<sup>1,2</sup> y Rojas SN<sup>1</sup>*  
lpmoles@cueyatl.uam.mx

<sup>1</sup> Departamento de Producción Agrícola y Animal, y Atención a la Salud. UAM Xochimilco, Coyoacán, México, D.F.

<sup>2</sup> CENID-Microbiología, INIFAP, SAGAR, Cuajimalpa, México, D.F.

La leptospirosis bovina se ha demostrado en casi todos los países del mundo. Afecta la actividad reproductiva principalmente causando infertilidad y aborto. El propósito de este trabajo es analizar los resultados de 4 043 sueros de bovino que se recibieron en

el laboratorio de diagnóstico de la UAM-Xochimilco, para determinar la frecuencia y las serovariedades más importantes de *L. interrogans*. Se empleó la técnica de aglutinación microscópica descrita por la OPS y OIE, considerando positivos los sueros a partir de la dilución de 1:100. Los resultados indican que hay 31,1 % de seropositividad, de acuerdo con el orden de frecuencia de serovariedades se obtuvieron 16,7 % a la cepa H 89 (*L. hardjo* aislada en México); 10,8 % a *hardjo*; 7,9 % a *tarassovi*; 4,4 % para *pomona*; 3,7 % a *grippityphosa* y en menor frecuencia aparecen *icterohaemorrhagiae*, *hebdomadis*, *pyrogenes*, *canicola* y *bratislava*. Existen estudios recientes realizados en los estados de Querétaro y Chiapas donde se obtuvieron respectivamente 22,8 y 33,8 % de bovinos seropositivos, el resultado de este análisis es semejante al de Chiapas. Llama la atención que si se consideran las cuatro serovariedades más frecuentes, existe coincidencia con ambos estudios, aunque las frecuencias fueron diferentes. De acuerdo con este estudio se puede concluir que serológicamente la leptospirosis bovina está muy distribuida en México y por lo tanto es una enfermedad importante. Además, se recomienda que los biológicos que se utilicen para su control contengan las serovariedades más frecuentes.

#### **AISLAMIENTO DE *LEPTOSPIRA PORTLAND VERE* A PARTIR DE CERDAS QUE ABORTARON EN MÉXICO.**

*Cisneros P M A,<sup>1</sup> Ramírez N R,<sup>1</sup> Moles C L P,<sup>1,2</sup> Gavaldón R D,<sup>1</sup> Torres B J<sup>1,2</sup> y Rojas S N<sup>1</sup>*  
mcpuebla@cueyatl.uam.mx

<sup>1</sup>Departamento de Producción Agrícola y Animal, y Atención a la Salud. UAM Xochimilco, Coyoacán, México, D.F.

<sup>2</sup>CENID-Microbiología, INIFAP, SAGAR, Cuajimalpa, México, D.F.

En una granja porcina de México se presentó un brote de abortos después de un período de inundaciones. Los primeros 10 días hubo un promedio de 2 abortos por día y posteriormente aumentaron hasta 5. De las cerdas que abortaron 11,1 % estaban entre el día 39 y 76 de gestación; 88,9 % tenían entre 77 y 114 días de gravidez. La mayoría de los fetos no presentaron lesiones; sin embargo, en algunos hubo edema subcutáneo, equimosis, hemorragias circulares. Se observó una ligera pigmentación amarillenta y congestión en los órganos internos. Este trabajo es la comunicación de un aislamiento de la serovariedad *portland vere* ocurrida durante un brote de abortos en cerdas, que se realizó utilizando medio semisólido de Korthoff con 10 % de suero estéril de conejo y 0,1 mg/mL de 5 fluorouracilo. Se inocularon muestras de hígado y riñón de una cerda que abortó el mismo día que murió, así como de fetos abortados por otras cerdas. Para el diagnóstico serológico se aplicó la técnica de aglutinación microscópica considerando positivos los sueros que reaccionaron a partir de la dilución 1:100 (OPS, OIE). El estudio serológico indicó que de 178 muestras de suero de animales de distintas etapas reproductivas hubo 69,7 % de animales positivos, correspondiendo por serovariedad 64 % para *portland vere*; 47 % a *canicola*; 39 % a *pomona*; 29 % a *pyrogenes*; 22 % a *panama*; 19 % a *icterohaemorrhagiae*; 12 % a *shermani* y en menor porcentaje a *hardjo*, *tarassovi*, *autumnalis*, *australis* y *hebdomadis*. Se aisló *Leptospira* y se clasificó como serogrupo *Canicola* serovariedad *portland vere*, denominándose cepa Sinaloa ACR. La tipificación fue realizada por la doctora C. Bolin del Laboratorio de Leptospirosis y Micobacteriosis del Centro de Referencia de Ames, Iowa, EE.UU., empleando la técnica de análisis de patrones de restricción. A la fecha, existe información en México sobre varios aislamientos de esta misma serovariedad a partir de perros con cuadros clínicos compatibles con leptospirosis; además hay evidencias serológicas de *L. portland vere* en diferentes especies domésticas, por eso es importante incluirla en la batería de antígenos empleados en el diagnóstico.

#### **DISTRIBUCIÓN MUNDIAL DE LA LEPTOSPIROSIS: POSIBLES USOS DE LA VACUNA CUBANA EN EL MUNDO**

*Victoria Casanueva e Iván Cuevas*  
vcasanueva@finlay.edu.cu  
Instituto Finlay. Cuba.

Con el objetivo, de determinar, el posible empleo de la vacuna contra la leptospirosis producida en Cuba, a partir de 1995, se ha mantenido un monitoreo sistemático de la presencia de leptospirosis y la circulación de serovares, en diferentes áreas geográficas y países. Se rastreó y recopiló información emitida por organizaciones internacionales, búsqueda activa de información, prensa, Internet y otras vías. Se presenta la información obtenida hasta estos momentos que augura buenas oportunidades de utilización de esta vacuna en otros países de acuerdo a su comportamiento epidemiológico.

#### **LEPTOSPIROSIS PORCINA EN MÉXICO (1995-2000)**

*Cisneros P M A,<sup>1</sup> Rojas S N,<sup>1</sup> Moles C L P,<sup>1,2</sup> Gavaldón R D<sup>1</sup> y Torres B J I<sup>1,2</sup>*  
mcpuebla@cueyatl.uam.mx

<sup>1</sup>Departamento de Producción Agrícola y Animal, y Atención a la Salud. UAM Xochimilco, Coyoacán, México, D.F.

<sup>2</sup>CENID-Microbiología, INIFAP, SAGAR, Cuajimalpa, México, D.F.

La leptospirosis porcina es una enfermedad bacteriana que suele pasar clínicamente inadvertida; sin embargo, al ocasionar abortos provoca disminución en la producción de carne para consumo humano, por ello es importante hacer diagnósticos serológicos en las granjas. El objetivo de este trabajo fue analizar los resultados de 1 970 sueros de cerdos provenientes de diferentes granjas en México y que fueron recibidos en el laboratorio de *Leptospira* de la UAM-X durante 1995 a 2000. Se analizaron las muestras mediante la prueba de aglutinación microscópica, usando una batería de 12 serovariedades de referencia internacional y 3 aislamientos nacionales\*, se consideraron como positivos los sueros cuyos títulos fueron iguales o mayores que 1:100 (OPS, OIE), resultando 39,8 % animales seropositivos (784/1970). Las serovariedades más frecuentes fueron: *bratislava* 22,5 %, *icterohaemorrhagiae* cepa Palo Alto\* 14,5 %, *portland-vere* cepa Sinaloa ACR\* 13,8 %, *icterohaemorrhagiae* 11,1 %, *grippityphosa* 8,9 %, *hardjo* cepa H-89\* 7,2 %, *tarassovi* 7,1 %, *panama* 5,8 %, *hardjo* y *pomona* 5,1 %, *wolffi* 3,0 %, *shermani* 2,4 %, *pyrogenes* 1,2 %, *canicola* 0,8 % y *hebdomadis* 0,5 %. Haciendo un análisis comparativo con otros estudios realizados en México en 1984 y 1994; además otro efectuado en Argentina durante 1996, mencionan porcentajes de positividad del 57,7 % (4 354 sueros), 35 % (2 097) y 22 % (904 sueros) respectivamente. De los aislamientos nacionales encontramos que la serovariedad *portland-vere* cepa Sinaloa ACR ocupa el tercer lugar de importancia con un porcentaje de 13,8 %, sin presentarse en estudios anteriores, debido a que es un aislamiento reciente. En el caso particular de la *icterohaemorrhagiae* está presente en los trabajos presentando una variación que va desde 8,4 a 11,1 %, al nivel nacional y en Argentina presenta un porcentaje de 52,5 %, donde ocupa el primer lugar de importancia. Tradicionalmente la serovariedad *pomona* ha estado relacionada con los cerdos, en México en el año de 1984 aparece con 38 %, hasta disminuir considerablemente su serofrecuencia en este trabajo con 5,1 %, ocurriendo lo contrario en Argentina donde esta serovariedad ocupa el segundo lugar de importancia con 42 % de seroprevalencia. Es importante determinar la presencia de las distintas leptospirosis para poder definir cuáles son los biológicos que deben utilizarse en la prevención y control de esta enfermedad.

#### MONITOREO SEROLÓGICO DE GRANJAS PORCÍCOLAS EN LOS DEPARTAMENTOS DEL EJE CAFETERO

Ana Inés López de Herrera, María Antonia Rincón, José Darío Mogollón y Sandra Liliana Ruiz  
Colombia

En la última década la industria porcina ha mostrado un importante desarrollo tecnológico, el cual se ha caracterizado por la introducción de líneas genéticas con las que se han mejorado los parámetros reproductivos y productivos, se han mejorado las instalaciones con una marcada tendencia a la explotación intensiva. La situación anterior ha llevado a establecer una vigilancia de algunas enfermedades infecciosas como síndrome reproductivo y respiratorio porcino, peste porcina clásica, enfermedad de Aujeszky, Parvovirus, leptospirosis y brucelosis. Los estudios serológicos utilizados para el diagnóstico y control sanitario son de gran utilidad en los casos siguientes: conocimiento del estado sanitario de la granja, vigilancia serológica de diferentes áreas, elección de los esquemas de vacunación y conocimiento de niveles de protección. Entre julio y septiembre del año 2000, se muestrearon para estudio serológico de leptospira, 27 granjas correspondientes a 12 municipios, de los departamentos de Caldas, Quindío y Risaralda. De cada una de las explotaciones se seleccionaron 20 hembras multíparas para un total de 540 sueros, a los que se les realizó la prueba de microaglutinación, en dilución inicial de 1:100 frente a los serovares siguientes: *bratislava*, *pomona*, *canicola*, *grippityphosa* e *icterohaemorrhagiae*. De los sueros examinados, 102 fueron reactores, pero con muy bajo título, principalmente a los serovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae*, por lo tanto no se consideraron representativos de infección, salvo en una granja donde un animal presentó títulos superiores a 1:800. Vale la pena anotar que todos los animales habían sido vacunados contra leptospirosis antes del primer servicio y revacunados semestral o anualmente. De lo anterior podemos concluir que la MAT sólo mide exposición reciente al antígeno de campo o al vacunal y en poblaciones vacunadas es difícil la interpretación.

#### COMPORTAMIENTO DE LA CIRCULACIÓN DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS* EN HUMANOS EN DIFERENTES REGIONES DE CUBA (1996-2000)

Islay Rodríguez, Ana M. Obregón, José Rodríguez, Carmen Fernández, Berta Victoria

islay@ipk.sld.cu

Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras. IPK. Cuba

Con el objetivo de conocer los principales serogrupos de *Leptospira interrogans* causantes de leptospirosis humana en Cuba fueron estudiadas 228 cepas, obtenidas a partir de hemocultivos provenientes de diferentes regiones del país. Estas cepas fueron

caracterizadas serológicamente, utilizando la microaglutinación de serogrupos con 13 sueros policlonales correspondientes a los serogrupos de mayor circulación nacional (según estudios epizootiológicos). Según este trabajo se detectó que, los de mayor circulación eran Ballum (55,70 %), Pomona (21,03 %) y Canicola (14,03 %), encontrándose además Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Australis, Hebdomadis, Sejroe y por primera vez los serogrupos Pyrogenes, Autumnalis y Bataviae, no aislados con anterioridad de humanos en Cuba. Estos resultados relacionan a los ratones, cerdos y perros como principales reservorios de esta entidad y contribuyen al perfeccionamiento de la vacuna cubana contra la leptospirosis humana.

#### **NEW MICROSCOPIC DEVICE FOR DIRECT READING OF THE MICROSCOPIC AGGLUTINATION TEST (MAT) FOR LEPTOSPIROSIS**

*A. Schönberg*

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin,  
Diedersdorfer Weg 1, D-12277 Berlin, Germany

The microscopic agglutination test (MAT) is the reference test for the diagnosis of leptospirosis against which all other serological tests are evaluated and is the best specified method for import/export testing (WHO leptoguidelines, 2001, O.I.E. Manual of Standards, 1996). It has been reported that the results of the MAT performed in microtitre plates (F form) may be read directly with the aid of a special microscopy equipment using a magnification of 100. In a number of laboratories this method has been in use for some time. Since, however, difficulties arose in respect of availability of appropriate optical equipment we reported about a modification of microscopy equipment from the companies Leitz, Wetzlar, and Carl Zeiss, Oberkochen, in 1980. According to the information of Leitz and several Veterinary Investigation Centres, they got into trouble to provide the long working distance objective: (Leitz, No. 559 141, magnification 10x). The Carl Zeiss company demonstrated a new microscope with an objective of 10x magnification in our laboratory showing a complete equipment for direct reading of the results of MAT. The fact, that several Veterinary Investigation Centres have difficulties to establish the direct reading of the results of the MAT, it is of advantage to introduce this new microscope of the Carl Zeiss Jena GmbH company. This description differs from the description previously given during the "First Meeting of the International Leptospirosis Society" in Nantes, France, 1996:

Microscope "Axioskop", No. 1051-078,  
Objective revolver, No. 1059-202,  
Object stage "Axiovert", No. 451335  
Modification of the object stage, No. 0239-500  
Object holder M for "Axiovert", No. 451230  
Holder frame M for microtitre plates, No. 471746  
Halogenlight 12 V 100 W, No. 380079-9540  
Objective "Epiplan" 10X/0,20, No. 442930  
Ocular W-PI 10X/23 No. 455043  
Dry-dark-field condenser, No. 465506

The microscopic picture of leptospores was identical and also better in comparison to that which was achieved by the combined equipment of Leitz and Carl Zeiss in 1980.

#### **THE PATHOGENIC AND SAPROPHYTIC LEPTOSPIRES: DIFFERENTIAL CHARACTERISTICS AND HOW TO DISTINGUISH THEM (LECTURE)**

*Marina Cinco, Rossella Murgia*

Cinco@univ.trieste.it

Dept Scienze Biomediche, Leptospira Laboratory, University of Trieste. Italy

The genus *Leptospira* includes micro-organisms which induce illness in humans and animals, the pathogenic leptospores, as well as free living spirochetes which though non pathogenic, must be known and taken into consideration because they can contaminate the media and can be occasionally isolated from mammals or from the environment, leading to misdiagnosis. In fact the non pathogenic leptospores live in fresh waters, brackish waters and also sea waters, sharing a large adaptability to the environment. Though morphologically indistinguishable the pathogenic and saprophytic leptospores can be distinguished on the basis of some-not many-

phenotypic characteristics and on genetic basis. The pathogenic leptospire are able to develop infection-and disease- because they resist to the complement killing: the expression of outer membrane lipoproteins, enzymes and peptidoglycan with proinflammatory power contribute to the leptospira pathogenicity; conversely saprophytic leptospire are rapidly lysed by Complement and this stops their survival and multiplication in the hosts. The genotype of pathogenic leptospire shows one gene for the 5S rRNA instead of two; even if there are not clear cut distinctions metabolic differences include differential sensitivity to 1 M NaCl, incubation temperature, chemicals, Lipase activity and different LPS patterns between the two groups. Using a mAb able to recognise only the pathogenic leptospire can do a better distinction. Moreover we developed a seminested PCR based methodology which permit us to distinguish pathogenic leptospire not only in culture but also to detect as few as 5 pathogenic spirochetes from the natural water environment. Some leptospire anyway have been reported of intermediate behaviour.

#### THE LPS OF LEPTOSPIRA: ITS SIGNIFICANCE FOR IMMUNITY, TAXONOMY AND VACCINE DEVELOPMENT (LECTURE)

*Ben Adler, Dieter Bulach, Alejandro de la Pena Moctezuma*  
Ben.Adler@med.monash.edu.au  
Monash University, Department of Microbiology. Australia

Lipopolysaccharide (LPS) is the principle surface component of *Leptospira*. It is the target for agglutinating, opsonic antibodies and is a major protective antigen. LPS is the key antigen involved in the serological typing and classification scheme, resulting in the recognition of over 200 serovars. Significantly, immunity to infection generally correlates with serovar related antigens, believed to be mainly LPS. Despite this importance, the structure of leptospiral LPS remains unknown and there is limited knowledge of its biosynthesis and consequently of the molecular basis for immunity and serovar specificity. We have taken a genetic approach to attempt to understand the basis of LPS specificity, beginning with a comparison of the subtypes of serovar Hardjo, namely Hardjobovis and Hardjoprajitno which are antigenically indistinguishable but classified in different species (*L. borgpetersenii* and *L. interrogans* respectively). The LPS biosynthetic loci for both types were similar and contained genes involved in sugar biosynthesis, subunit assembly and transport. IS elements were found only in the Hardjobovis locus. However, sequence analysis indicated that the Hardjoprajitno locus comprised four segments, two of which appear to have originated from *L. borgpetersenii* and two from *L. interrogans*, allowing a hypothesis of the origin of the Hardjoprajitno LPS locus. A comparison of 12 loci from serovars within *L. interrogans* revealed a different organisation, with five genes, not present in the Hardjo loci, encoding two glycosyl transferases, an epimerase and two membrane proteins. Allelic differences and mutations in these genes may be sufficient to account for the genetic basis of serovar specificity.

#### CRECIMIENTO, VIRULENCIA Y ANTIGENICIDAD DE *LEPTOSPIRA MOZDOK* EN MEDIO EMJH MODIFICADO

*Andrés González, Niurka Batista, Yolanda Valdés y Marta González*  
andresglez@finlay.edu.cu  
Instituto "Carlos J. Finlay". Cuba

A pesar del alto costo de sus componentes, el medio sintético EMJH es actualmente el más utilizado para el aislamiento y cultivo de cepas de *Leptospira*, en ocasiones en grandes volúmenes durante la obtención de inóculos para la planta de producción. El presente trabajo evaluó la influencia de concentraciones crecientes de Tween 80 sobre el crecimiento, virulencia y antigenicidad de la cepa vacunal *L. mozdok*, sin incrementar la concentración de albúmina reportada. El crecimiento se evaluó espectrofotométricamente y se determinó la variación de otros parámetros como rendimiento celular, velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación. La estabilidad de la virulencia fue estimada en el modelo hámster sirio y la antigenicidad fue evaluada mediante aglutinación microscópica utilizando un antisuero policlonal de conejo. Bajo condiciones de cultivo controladas la adición de Tween 80 desde 1,25 hasta 3,25 mg/mL incrementó notablemente la velocidad de crecimiento y los rendimientos celulares finales con un consumo total de la fuente de carbono, pero el crecimiento se afectó notablemente a concentraciones superiores. En este rango de concentraciones no se observaron decrecimientos de la virulencia y antigenicidad durante numerosos subcultivos sucesivos. Luego de tres subcultivos en el medio modificado la cepa evidenció una tolerancia adaptativa a las altas concentraciones de ácidos grasos mostrando excelente crecimiento y antigenicidad a concentraciones de Tween 80 extremadamente líticas, aunque la virulencia se afectó notablemente. Los resultados sugieren que la cepa adaptada alcanza una mayor asimilación de la fuente de carbono y energía que la no adaptada bajo las mismas condiciones de crecimiento.

## LEPTOSPIROSIS INFECTION BY SPORT AND OTHER LEISURE ACTIVITIES. REPORT ON CASES OF LEPTOSPIROSIS DERIVED FROM OUTDOOR LEISURE ACTIVITIES

A. Schönberg

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin,  
Diedersdorfer Weg 1, D-12277 Berlin, Germany

Leisure or hobby activities of people take them into risk situations for leptospirosis. These are camping, water skiing, canoeing, swimming, hunting, fishing, farming and gardening, special sport events (for example "iron man contest"), travel/tourism etc. Cultural and social factors modify the effects of leisure activities.

1. A schoolboy fell ill with fever, headache and pain in the leg after camping near the Isar River. The MAT showed a titre against *L. interrogans* serovar icterohaemorrhagiae of 1:6400. Leptospire were isolated from the urine.
2. A patient, who had been fishing during holidays in Southern Germany became ill after coming home. Renal involvement was the main complication.
3. A family spent holidays in the Netherlands. Their favorite sport was surfing. Several weeks later the two children showed fever, enteritis, hepatitis, conjunctival suffusion, cardiac complications and neurological symptoms. Both children had a MAT-titre of >1:1600 against several *L. interrogans* serovars.
4. Three male persons aged between 34 and 38, who had been part of a group whose boat had capsized on a river during an outing 18 days previously, presented a variety of symptoms, including high fever, chills, headache with meningism or facial paralysis, mild hepatitis and renal involvement. The diagnosis of leptospirosis was serologically confirmed.
5. A participant (one of 330 competitors) at an iron man contest (triathlon like event), 38 years old, was hospitalized with kidney problems. The patient returned from the Philippines. The MAT showed titres of <1:1600 against 4 *L. interrogans* serovars.

## IDENTIFICATION OF LEPTOSPIRAL SEROVARS BY RANDOMLY AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA FINGERPRINTING

I.F. Veloso; C.E. Salas; E.C. Moreira

profisio@vento.com.br

Escola de Veterinária - UFMG. Brazil.

Leptospirosis is an important disease with worldwide distribution affecting human as well as wild and domestic animals. Current diagnosis methods for leptospirosis lack sensibility and are time consuming. The Polymerase Chain Reaction (PCR), a rapid and sensitive assay, was been used to detect leptospire in clinical samples. Recently, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD-PCR) which produces fewer DNA fragments has been used for rapid identification and characterization different serovars. RAPD fingerprinting of 7 laboratory strains of leptospiral serovars (*L. hardjo* genotype Hardjoprajitno (OMS), *L. hardjo* genotype Hardjoprajitno (CTG), *L. mini*, *L. szwajizak*, *L. tarassovi*, *L. bratislava*, *L. pomona*) was carried out by using B11/B12 primers described previously. RAPD-PCR was found to be a simple rapid method for serovars identification giving reproducible and serovar-specific banding patterns. For most of the serovars, differentiation bands were observed between 100 and 1000 bp. Small differences between strains of serovar *hardjo* genotype Hardjoprajitno were found in RAPD-PCR and confirmed by transmission densitometre in 563 nm. This result suggest that occur heterogenicity among genotypes isolated of different geographical areas. DNA's from *E. coli*, *M. Bovis*, human and bovine DNA strains did not exhibit any amplification confirmed the specificity of the pair of primers. RAPD-PCR is a simple and rapid method suitable for the identification of some *Leptospira* serovars.

## LEPTOSPIROSIS VACCINES. (LECTURE)

Ben Adler

Australia

## TRATAMIENTO INMUNOTERAPÉUTICO EN 50 PACIENTES CON LEPTOSPIROSIS CRÓNICA REFRACTARIA A ANTIBIÓTICOS

Velasco-Castrejón O<sup>1</sup>, Rivas-Sánchez B,<sup>1</sup> Rivera-Reyes H<sup>2</sup>

Velasco.oscar@elfoco.com , oscarvel@terra.com.mx

<sup>1</sup>Clínica de Medicina Tropical. Unidad de Medicina Experimental. Fac. de Med, UNAM-Hospital General de México, <sup>2</sup>Terapia Médica Intensiva. Hospital General de México, SSA

En general se acepta que los sobrevivientes espontáneos o por tratamiento médico de leptospirosis aguda, se curan y recuperan *ad integrum*; sin embargo, en nuestra experiencia es común la observación de numerosos pacientes con molestias compatibles con leptospirosis crónica, que no sufrieron una fase aguda sintomática e incluso en muchos que la sufrieron, a pesar de su “tratamiento correcto” y pasaron a la fase crónica o persistente. En este tipo de pacientes es común que, debido a sus variadas molestias, sean estudiados por médicos de múltiples especialidades sin llegar a ningún diagnóstico, por lo que es frecuente que sean enviados al psiquiatra, e incluso, algunos de ellos suspenden su vida productiva al dejar su empleo o ser despedidos por incapacidad laboral. También tratamos otros pacientes que padecen cirrosis avanzada, aparentemente secundaria a virus hepatitis C, que no respondieron a interferón y, en algunos casos, por no poder realizar transplantes hepáticos, fueron desahuciados. Prácticamente en todos estos pacientes, los títulos serológicos por MAT u otros métodos (IFI, ELISA) bajan drásticamente, por lo que son habitualmente negativos a los estándares serológicos internacionales exigidos para esas pruebas. Sin embargo, en ellos es relativamente sencillo realizar diagnóstico por observación microscópica del parásito en sangre y orina, mediante microvideograbación usando el sistema de VECOVISION e incluso, en algunos casos, logramos la visualización de la bacteria mediante inmunohistoquímica. A este tipo de pacientes se les administró vacuna pragmática preparada a partir de las 3 serovariedades de *Leptospira interrogans* más comunes en la ciudad de México (canicola, icterohemorrhagiae y pomona) asociada a 3 adyuvantes inmunológicos, una vez semanalmente, hasta alcanzar titulaciones muy elevadas ( $\geq 1:20\ 000$ ) principalmente de inmunoglobulinas IgG, con lo que logran rehacer su vida productiva.

## EVALUACIÓN DE LA REACTOGENICIDAD E INMUNOGENICIDAD DE LA PRIMERA VACUNA CUBANA CONTRA LA LEPTOSPIROSIS HUMANA

Raydel Martínez,<sup>1</sup> Ana M. Obregón,<sup>1</sup> Alberto Pérez,<sup>2</sup> Alberto Baly,<sup>1</sup> Morelia Baró,<sup>2</sup> Reinaldo Menéndez,<sup>1</sup> Aroldo Ruiz,<sup>1</sup> Amelia Urbino,<sup>1</sup> Manuel Díaz<sup>1</sup>

raydel@ipk.sld.cu

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”. Cuba

<sup>2</sup>Instituto de Sueros y Vacunas “Carlos J. Finlay”. Cuba

*Introducción y objetivos:* La leptospirosis humana en nuestro país ha presentado una tendencia ascendente, sobre todo en los últimos años. Con el objetivo de continuar con la inmunización de los grupos de riesgo fue desarrollada una vacuna con cepas autóctonas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la seguridad e inmunogenicidad de esta vacuna. *Material y métodos:* Para evaluar la reactogenicidad e inmunogenicidad fueron realizados dos ensayos clínicos controlados a doble ciegas, con la participación de 298 voluntarios que fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de estudio (grupos vacunados) y control (grupos placebos), con el objetivo fundamental de evaluar la reactogenicidad e inmunogenicidad de la vacuna. En el segundo estudio se evaluó y comparó además la reactogenicidad e inmunogenicidad según diferentes dosis (0,25 y 0,50 mL) y un ensayo clínico a simple ciegas, utilizando la vacuna rusa como grupo control con la participación de 959 voluntarios. La vacuna utilizada fue desarrollada en el Instituto “Finlay”, la cual es una bacterina trivalente (adsorbida), que contiene las cepas *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola* y *Pomona*. Las reacciones adversas que se evaluaron fueron: síntomas y signos locales (dolor, rubor, infiltración local, prurito, necrosis y absceso) y síntomas y signos generales (fiebre, febrícula, cefalea, lipotimia, náuseas, vómitos, rash, malestar general, etc.). La inmunogenicidad fue medida mediante la prueba de microaglutinación de serogrupos y ELISA. Los resultados fundamentales fueron los siguientes: No se presentaron reacciones adversas graves tras la administración de la vacuna, la febrícula y el dolor local fueron los únicos signos y síntomas que aparecieron en magnitudes aceptables, la fiebre aparece en un número reducido de voluntarios (0,5 %) en el tercer estudio así como otros síntomas generales, fue más frecuente la febrícula y dolor local en los vacunados con dosis de 0,50 ML, aunque en proporciones muy bajas (1,5 y 4 % respectivamente), fue mayor la frecuencia de febrícula y malestar general en vacunados con vacuna rusa. La vacuna produjo una seroconversión de 29 % en el primer estudio y 20 % en el segundo mediante la técnica de microaglutinación. Estos resultados coinciden con otras bacterinas contra la leptospirosis humana, donde observaron bajos títulos de anticuerpos con una buena protección (utilizando la Microaglutinación), medida por reto, considerando que puede ser debido a una respuesta celular y que los títulos de aglutininas y la protección no se relacionan necesariamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la seroconversión de los vacunados con dosis de 0,50 mL y 0,25. Esta vacuna contra la leptospirosis humana no mostró

reacciones adversas importantes (tanto en la primera como en la segunda dosis). Las reacciones observadas en magnitudes aceptables fueron fundamentalmente febrícula y dolor local.

#### **EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA VACUNA CONTRA LA LEPTOSPIROSIS HUMANA EN GRUPOS DE RIESGOS DE LA PROVINCIA DE HOLGUÍN. CUBA**

*Raydel Martínez,<sup>1</sup> Alberto Pérez,<sup>2</sup> Manuel Díaz,<sup>1</sup> Angel Álvarez,<sup>1</sup> Morelia Baró,<sup>2</sup> Betsy Montoya,<sup>3</sup> Gisela de los Reyes,<sup>3</sup> Jorge Menéndez,<sup>2</sup> Raúl Cruz,<sup>4</sup> Gustavo Sierra,<sup>2</sup> Marlén Armesto,<sup>1</sup> Alfredo Saltafén,<sup>3</sup> Osvaldo Sabournín<sup>3</sup>*  
raydel@ipk.sld.cu

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourf”. <sup>2</sup>Instituto “Finlay”. <sup>3</sup>Centro Provincial de Higiene y Epidemiología. Provincia de Holguín. <sup>4</sup>Ministerio de Salud Pública. Cuba.

*Introducción y objetivos:* La leptospirosis, zoonosis de amplia distribución mundial, tiene gran importancia actual tanto en medicina humana como veterinaria, dada las afectaciones que produce a la salud del hombre y los animales, así como a la economía. Cuba por ser un país tropical, el clima, el relieve, los diferentes fluviales naturales y artificiales existentes, las extensas áreas agrícolas y los regímenes lluviosos en determinadas épocas han favorecido la propagación de la leptospirosis en el hombre y animales. Esta situación se distribuye por todo el territorio y el número de casos ha presentado una tendencia ascendente en cuanto a morbilidad. En nuestro país desde el año 1983 eran inmunizados todos los trabajadores expuestos al riesgo de enfermar con una vacuna de procedencia rusa, hasta el año 1991 fecha en que dejó de aplicarse por dificultades en el suministro. Con el objetivo de continuar la inmunización a los grupos de riesgo del país se desarrolló en el Instituto Finlay de Ciudad de La Habana una vacuna adyuvada con cepas autóctonas de gran importancia epidemiológica por ser las de mayor circulación, que de acuerdo con los resultados en los ensayos preclínicos, evidenció resultados favorables. *Material y métodos:* Para evaluar la efectividad de esta vacuna se realizó un estudio de intervención prospectivo que incluyó los grupos de riesgo de enfermar por leptospirosis de la provincia de Holguín. El Universo de nuestro trabajo fue un total de 118 018 personas que realizaban actividades de riesgo tanto de forma permanente como temporal, 101 137 de ellas fueron inmunizadas con dos dosis de la vacuna y 16 881 no lo fueron. Después de concluida la vacunación este universo de estudio (que previamente fue censado en un modelo de registro) fue seguido por el sistema local de vigilancia epidemiológica en relación con la aparición de la enfermedad. El criterio de caso sospechoso y confirmado se conservó durante todo el período de estudio. En el presente trabajo se exponen los resultados al concluir el período de vigilancia epidemiológica de un año posterior a la segunda dosis. La cobertura alcanzada fue de 85,8 %. La efectividad calculada por los diferentes métodos fue de 97 %. La fracción prevenible poblacional fue de 83,5 %. La vacuna contra la leptospirosis humana en la Provincia de Holguín, mostró una alta efectividad en la población de riesgo estudiada, como expresión de la elevada protección conferida a esta. La utilización de esta vacuna propició que se pudieran prevenir 8 de cada 10 casos posibles de leptospirosis que se hubiesen presentado en este universo de no haberse realizado la intervención.

#### **ELISA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE IgG ANTILEPTOSPIRA CONTRA LOS SEROVARES *CANICOLA*, *COPENHAGENI* Y *MOZDOK*. VALIDACIÓN DEL MÉTODO**

*Xenia R. Ferriol Marchena, Ana M. García Malberty, Yoandra Rodríguez, Rolando Ochoa Azze, Marta González, Franklin Sotolongo Padrón*  
Xferriol@finlay.edu.cu  
Instituto “Carlos J. Finlay”. Cuba

Se optimizó un ELISA de tipo indirecto en el cual se emplearon como antígenos de recubrimiento las células enteras de *Leptospira interrogans* de los serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok*, inactivadas con formaldehído y desecadas a 33 °C durante 16-20 h en placas para ELISA, con el objetivo de evaluar la respuesta inmune contra la vacuna cubana vax-SPIRALâ. Para la cuantificación se empleó un estándar al que se le asignaron unidades arbitrarias correspondientes al inverso del valor obtenido por MAT siendo los mismos 31, 12 y 58 U/mL para los tres serovares incluidos en el preparado vacunal. Se utilizó un conjugado anti IgG humana-peroxidasa, el cual se une a los anticuerpos específicos contra cada serovar, reacción que se evidencia por la degradación del sustrato (ortophenilendiamina). El método se validó para los tres serovares obteniéndose una precisión intraensayo e interensayo excelentes, con valores inferiores a 10 % del CV. Las desviaciones de la recuperación, linealidad y paralelismo fueron también inferiores a 10 %. El suero control resultó tener una distribución normal y se seleccionó el rango para los tres serovares en la zona de mayor

interés para las muestras. El ELISA mostró 100 % de sensibilidad para los tres serovares y se obtuvieron valores de 93,33 % de especificidad para los serovares *canicola* y *copenhageni* y de 100 % para el serovar *mozdok*. El límite de detección para cada uno de los serovares fue de (0,478), (0,127) y (0,632) respectivamente.

#### **EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE VAX-SPIRALÂ EN DOS POBLACIONES DE RIESGO**

*Yoandra Rodríguez, Xenia Ferriol, Roger Medina, Morelia Baró, Marlene Armesto, Rolando Ochoa, Marta González*

yoandrarod@finlay.edu.cu

Instituto “Carlos J. Finlay”.Cuba

Debido al incremento de la incidencia de Leptospirosis en Cuba se desarrolló una vacuna trivalente (*canicola*, *copenhageni* y *mozdok*) como medida profiláctica contra esta enfermedad (vax-SPIRALÂ).

Con vistas a evaluar la inmunogenicidad de vax-SPIRALÂ® en población de riesgo fueron vacunados 231 voluntarios, 108 de Universidad Agraria de La Habana y 123 del CENSA. Ambas instituciones están ubicadas en zonas endémicas del municipio San José de las Lajas, provincia La Habana, caracterizadas por una alta incidencia. Se obtuvieron muestras de suero antes de la vacunación (T0) y 21 días después de la segunda dosis (T1), determinándose la concentración de IgG mediante un ELISA que emplea como antígeno de recubrimiento células inactivadas de los serovares componentes de la vacuna. Se tomó como criterio de respuesta un incremento de la concentración de IgG mayor de dos unidades en T1 con respecto a T0. Los resultados evidenciaron que vax-SPIRALÂ® fue capaz de inducir anticuerpos IgG contra los tres serovares en las dos poblaciones estudiadas, con un 68,8 y 66,67 % de respuesta en la Universidad Agraria y el CENSA respectivamente. Se constató que alrededor de 40 % de la población de la Universidad Agraria y de 60 % del CENSA presentaban concentraciones de IgG elevadas previo a la vacunación. Estos resultados constituyen la primera demostración de la capacidad inmunogénica de vax-SPIRALÂ® en población de riesgo expuesta.

#### **PROTECCIÓN PASIVA DEL SUERO DE PERSONAS VACUNADAS CON VAX-SPIRALÂ EN HÁMSTERS**

*Marta González, Yoandra Rodríguez, Andrés González, Roger Medina, Niurka Batista, Yolanda Valdés, Morelia Baró, Marlene Armesto, Rolando Ochoa y Luis Izquierdo.*

martaglez@finlay.edu.cu

Instituto “Carlos J. Finlay”. Cuba

Como parte de los estudios de caracterización de la respuesta inmune inducida en vacunados con vax-SPIRALÂ se desarrollaron 2 esquemas de vacunación en personal de riesgo expuesto pertenecientes a la Universidad Agraria de La Habana y al Centro de Sanidad Agropecuaria (Municipio, San José de Las Lajas). Se realizaron 2 muestreos de sangre: antes de la vacunación (T0) y 21 días después de la segunda dosis (T1). La IgG específica fue medida mediante un ELISA indirecto cuantitativo y su efecto protector se midió mediante un ensayo de protección pasiva en hámster. De acuerdo con el nivel de IgG específica medido por ELISA, se prepararon 4 muestras a evaluar (mezcla de sueros): P1 (T0, con un nivel de IgG específica bajo), P2 (T0 con un nivel de IgG específica alto), P3 (T1 donde el criterio de respuesta es un incremento de la concentración de IgG menor de dos unidades con respecto a T0) y P4 (T1 donde el criterio de respuesta es un incremento de la concentración de IgG mayor de dos unidades con respecto a T0). Entre las 18-24 horas de inoculadas las muestras los hámsters se retaron frente a 1 000 – 10 000 DL50 de los serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok*, siendo observados durante 14 días. Los resultados obtenidos mostraron que sí existe una relación entre la respuesta de IgG específica medida por ELISA y la protección inducida, además de demostrarse que el nivel de IgG específica medido en el suero de personas expuestas está relacionado con protección.

#### **VACUNA CUBANA MULTIVALENTE ANTILEPTOSPIRÓSICA PARA USO HUMANO (CONFERENCIA)**

*Gustavo Sierra*

Instituto “Carlos J. Finlay”. Cuba.

## **BROTOS DE LEPTOSPIROSIS HUMANA EN LA PROVINCIA CIEGO DE ÁVILA**

*Miguel Suárez, Raydel Martínez y Juana María Alonso*  
CPHE de Ciego de Ávila. Cuba.

Se analizan los brotes de leptospirosis ocurridos en la provincia Ciego de Ávila en el período de 1980 al 2000. En la etapa se notificaron 40 brotes. Las actividades principales vinculadas a los mismos fueron: la atención al cultivo de la caña de azúcar, el cultivo del plátano, el baño en río y las inundaciones. Se nota un incremento de brotes a partir del mes de junio. En los meses de octubre y noviembre se reportan las mayores incidencias. Los grupos de edades que más casos aportaron fueron de 10-14 años, 15-19 años y de 30 a 34 años. El sexo más afectado fue el masculino. Los grupos más afectados fueron los estudiantes, pobladores urbanos y trabajadores agrícolas cañeros. De los 40 brotes 21 fueron confirmados por medio de la prueba de microaglutinación y 19 por la prueba de hemoaglutinación, siendo los serogrupos más frecuentes Pomona y Australis.

## **CARACTERIZACIÓN DE LAS MENINGOENCEFALITIS ASÉPTICA POR LEPTOSPIRA EN LA PROVINCIA CIEGO DE ÁVILA**

*Miguel Suárez, Manuel Pérez de Corcho y Juana María Alonso.*  
CPHE de Ciego de Ávila. Cuba

Se pesquisaron 596 meningoencefalitis asépticas en los hospitales provinciales en el período de 1983 a 1999. A cada caso se le tomaron dos muestra de suero para investigar *Leptospira* por la técnica de microaglutinación, se trabajó con 21 serogrupos. Se consideró caso confirmado el que tuviera seroconversiones o incremento de título. Se confirmaron 51 casos de leptospirosis para el 8,5 %, la proporción en niños fue 4,1 % y en adultos 11,1 %. Además de cada caso se analizaron los parámetros siguientes: número de células en el líquido cefalorraquídeo y niveles de glucosa y el pandy. Además se evaluó el leucograma y la eritrosedimentación, así como la estadía hospitalaria. Predominaron en los enfermos de leptospirosis en el líquido cefalorraquídeo la tenencia de menos de 101 células, la glucosa normal y el pandy con una cruz. La leucopenia fue más frecuente. El 59 % tenía neutrofilia y 62 % estuvieron ingresados entre 8 y 14 días.

## **ELABORACIÓN Y APLICACIÓN DE ANTÍGENO ESS POR LABIOFAM**

*Noemí Gaínza, Ofelia de la Nuez e Islay Rodríguez*  
Grupo Empresarial LABIOFAM.

La leptospirosis constituye un evento epidemiológico que cobra gran importancia en los países del área, donde Cuba está representada. El diagnóstico de esta enfermedad se basa fundamentalmente en métodos serológicos y bacteriológicos, mediante los cuales se detectan anticuerpos leptospirales ya sean IgG o IgM y el aislamiento del germen según el grado de infestación del mismo. El diagnóstico serológico por hemoaglutinación pasiva es una técnica rápida, sensible que se encuentra generalizada en todo el país permitiéndonos diagnosticar la leptospirosis en humano y aplicar la terapéutica específica contra ella. En los Laboratorios Biológicos Farmacéuticos se fabrica desde 1992 un antígeno ESS para el diagnóstico de la leptospirosis humana basado en la hemaglutinación pasiva (HA).

## **COMPORTAMIENTO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE LA LEPTOSPIROSIS HUMANA EN EL MUNICIPIO LOS PALACIOS, PROVINCIA PINAR DEL RÍO, CUBA. 1996- 1998**

*Roberto Cañete Villafranca,<sup>1</sup> Raydel Martínez Sánchez,<sup>1</sup> Olga Suárez Delgado,<sup>2</sup> Omar López Piñera<sup>1</sup>*  
cañete@ipk.sld.cu

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí.

<sup>2</sup>Policlínico Docente Comunitario. Municipio Los Palacios.

*Introducción:* La leptospirosis es una enfermedad infecciosa generalizada causada por espiroquetas del género *Leptospira* que afecta a mamíferos salvajes y domésticos. Los humanos se infectan de manera ocasional a través del contacto con animales infectados o a través del agua o el suelo contaminados con orina procedente de estos animales. En el municipio Los Palacios se encuentra ubicado un Complejo Agroindustrial Arrocero donde laboran gran cantidad de personas que se exponen de manera reiterada a la orina de animales contaminadas y por consiguiente es considerado un lugar de riesgo para adquirir la enfermedad. *Objetivo:* Determinar el comportamiento clínico-epidemiológico de la leptospirosis humana en el municipio Los Palacios, Provincia Pinar del Río, Cuba. *Material y métodos:* Realizamos un estudio descriptivo retrospectivo en el cual se pudieron conocer algunos aspectos epidemiológicos de la enfermedad en este municipio durante el período de enero de 1996 a diciembre de 1998. La información de los casos se obtuvo por la encuesta epidemiológica para casos de leptospirosis que se aplica en el Centro Municipal de Higiene y Epidemiología. *Resultados:* El 94 % (30/32) de los casos correspondían al sexo masculino. El grupo etéreo de 14 a 19 años fue el más afectado 21,8 % (7/32). Los hallazgos clínicos más comunes fueron fiebre 100 % (32/32), mialgia 84 % (27/32) y artralgia 62 % (20/32). Las labores relacionadas con el manejo del arroz 87,5 % (28/32) se asociaron de manera significativa a la aparición de la enfermedad  $p < 0,05$ .

#### LEPTO DIPSTICK: RESULTADOS DE SU APLICACIÓN AL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LA LEPTOSPIROSIS HUMANA

*Islay Rodríguez, Carmen Fernández, Celia Llerena, Berta Victoria, José Rodríguez, Ana M. Obregón*  
islay@ipk.sld.cu

Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras. IPK. Cuba

Un ensayo de *dipstick*, para la detección rápida de anticuerpos IgM anti-*Leptospira* específicos, fue utilizado en el diagnóstico serológico de 41 muestras de sueros humanos con sospechas de esta entidad. Los resultados fueron comparados con los obtenidos por la microaglutinación de serogrupos con antígenos vivos, observándose una coincidencia entre ellos de 85,4 %, y se demostró que el antígeno leptospiral usado en la tira es capaz de reconocer anticuerpos a diferentes serogrupos. Este es un ensayo fácil de realizar, que consume poco tiempo, por lo que permitió ofrecer una respuesta rápida a los médicos de asistencia de los pacientes estudiados.

#### MICROAGLUTINACIÓN MODIFICADA. VALOR PRÁCTICO EN EL DIAGNÓSTICO DE RESPONDEDORES CON BAJOS TÍTULOS DE ANTICUERPOS EN LA FASE AGUDA DE UNA LEPTOSPIROSIS HUMANA

*Obregón AM, Fernández C, Pérez Madeline, Victoria B, Rodríguez I, Rodríguez J.*

Amobregon@ipk.sld.cu

IPK. Cuba

El Programa Nacional de Control y Prevención de la Leptospirosis humana en Cuba describe la técnica de aglutinación microscópica como la prueba de referencia mundial para el serodiagnóstico de la leptospirosis. En el presente trabajo realizamos un estudio serológico para determinar los parámetros cualitativos de una variante de la técnica aglutinación microscópica, denominada como MAT-V. Las variaciones consistieron en realizar diluciones séricas a partir de 1:10. Se emplearon 4 grupos de estudio. Se usaron como técnicas de referencia la aglutinación microscópica convencional (MAT-C) y la hemaglutinación pasiva (HA). La sensibilidad detectada por la MAT-V fue de 78 %, la especificidad de 89 % y el valor predictivo para una prueba positiva y de una negativa, fue 84 y 86 % respectivamente. El índice de coincidencia entre MAT-V y la MAT-C fue de 74,2 % y entre la MAT-V y la HA fue de un 44,48%, mientras que el de MAT-C y HA fue de 70 %. Del grupo de 140 pacientes con sospecha de leptospirosis, 117 casos fueron positivos por la MAT-V, mientras que por la MAT-C y la HA estos fueron 81 y 41 respectivamente. Se determinó la frecuencia de aparición de serogrupos mediante la MAT-V resultando tener mayor % el serogrupo Ballum (29,5 %), también aparecieron 13 casos con fuertes de cruzamientos serológicos, lo que representó 11 %. Similares resultados fueron obtenidos por MAT-C. Proponemos al MINSAP la introducción de una variante a la técnica de aglutinación microscópica a la Red de Laboratorios provinciales que se norman por el Programa de Control y Prevención de la Leptospirosis humana en Cuba.

#### ESTUDIO POR TÉCNICAS CONVENCIONALES Y DE BIOLOGÍA MOLECULAR DE CASOS DE LEPTOSPIROSIS HUMANA

*Victoria B; Fernández C; Rodríguez J; Obregón AM; Rodríguez I.*

berta@ipk.sld.cu

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Cuba

Muestras de sueros de 14 pacientes procedentes de la provincia de Villa Clara con sospecha de leptospirosis, fueron estudiadas por las técnicas de microaglutinación y hemaglutinación indirecta. Las cepas aisladas a partir de los hemocultivos de estos pacientes,

se agruparon teniendo en cuenta sus similitudes antigénicas por la técnica de microaglutinación con anticuerpos policlonales contra 8 serogrupos. El ADN de estas cepas fue amplificado por la reacción en cadena de la polimerasa, y digerido con la enzima Alu I. Cuatro de los pacientes estudiados fueron negativos por las técnicas serológicas empleadas. Las cepas estudiadas se agruparon en los serogrupos Ballum, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Tarassovi (6, 5, 1, 1 y 1 cepa respectivamente). En todas las cepas se logró amplificar un fragmento de 631 pb del gen 16S del ADNr. No se obtuvo ningún producto de amplificación en las cepas de referencia no patógenas utilizadas, coincidiendo con lo descrito en la literatura. La digestión enzimática del ADN amplificado produjo un mismo patrón de tres bandas para todas las cepas, correspondientes a los fragmentos de 81, 117 y 433 pb como era esperado según la secuencia de este gen disponible en la base de datos "Gen Bank". El uso combinado de técnicas convencionales y de biología molecular permitió hacer un diagnóstico certero de la infección.

#### **LEPTOSPIROSIS EN NIÑOS DE LA PROVINCIA CIEGO DE ÁVILA**

*Miguel Suárez, Raydel Martínez, Jose Bustelo, Olga Carrera y Clara Puerto*  
CPHEM de Ciego de Ávila.  
Cuba.

Se analizaron 253 casos reportados en edades pediátricas. Predominó el grupo de 10 a 14 años, seguido de 5 a 9 años, fue más frecuente el sexo masculino. Solo se reportó un fallecido. Los síntomas y signos de mayor frecuencia fueron fiebre, cefalea y mialgia, 92 % de los casos eran anictéricos. Los diagnósticos presuntivos más planteados fueron síndrome febril agudo, leptospirosis y meningoencefalitis viral. En las posibles fuentes de infección el contacto con terrenos bajos y el baño en fuentes de agua dulce presentaron el mayor número de casos. Se analizan en el estudio ciertas diferencias con el cuadro clínico en los adultos y se señala que a medida que se ha pesquisado esta entidad en pediatría, el reporte es mayor.

## Comentarios más notables sobre los trabajos presentados

### ESTRATEGIA CUBANA PARA EL CONTROL DE LA LEPTOSPIROSIS:

La tasa de enfermos es mayor entre individuos de 15-40 años por ser estas precisamente las edades más expuestas. En el caso de los niños no son vacunados, sin embargo, no resultan infectados y no enferman, lo que se debe sencillamente a que de acuerdo con la educación que se ha logrado en la población los niños no resultan expuestos; lo mismo ocurre con los ancianos, embarazadas, etc. Este hecho demuestra que la prevención de la enfermedad se logra a través de la combinación de muchos factores.

### LEPTOSPIROSIS CRÓNICA:

Se deben mostrar evidencias bacteriológicas (aislamiento) de la presencia del microorganismo en estos pacientes para poder corroborar este fenómeno tan raro en humanos.

### MICROSCOPIO AXIOLAB:

Este equipo permite disminuir el tiempo requerido para la prueba, que por el método tradicional requiere de una hora de incubación de las placas, gracias a este microscopio, se han realizado experimentos en los que se reduce hasta 15 minutos el tiempo de incubación.

*Nota:* Se habló a favor de este nuevo microscopio para la lectura directa de la prueba de microaglutinación (MAT, siglas en inglés), argumentado por la experiencia de un grupo de especialistas brasileños que utilizan este equipo con muy buenos resultados.

### BIOSÍNTESIS DEL LIPOPOLISACÁRIDO (LPS) LEPTOSPIRAL:

Es de importancia entender este mecanismo que explica cómo el cambio de una sola base en el genoma produce un nuevo tipo de LPS. Fenómeno que justifica la constante aparición de nuevos serovares, y que las leptospiras puedan escapar de la acción de los anticuerpos.

### ELISA PARA MEDIR RESPUESTA DEL TIPO IgG FRENTE A LA VACUNA CUBANA VAX-SPIRAL:

La respuesta IgM es importante sobre todo en fase aguda, pero se sabe que la respuesta de anticuerpos (Ac) protectora es también medida por Ac del tipo IgG. Si fuéramos a pensar que la protección responde solo a Ac del tipo IgM, no tuviésemos una respuesta inmunológica madura frente a la vacuna. Tenemos confianza en que la protección mayor de esta vacuna esté causada por Ac de clase IgG.

Debe esperarse que exista una correlación entre la respuesta del tipo IgG y la respuesta frente a la aglutinación que mide IgM.

Hemos demostrado la capacidad protectora de los Ac IgG producidos ante la vacuna en estudios realizados en modelos animales, que han sido retados con la bacteria. Sin embargo la verdadera prueba a mano es la protección que confiere en el terreno. En cuanto a si existen evidencias de que estos Ac sean bactericidas, la única evidencia que tenemos *in vivo* es que protegen frente al reto con la bacteria. Estamos estandarizando en el laboratorio la técnica para determinar si estos Ac son bactericidas o no.

Aún el conocimiento sobre la leptospira es escaso, falta mucho por conocer acerca de sus factores patogénicos, los factores que podrían aumentar o disminuir la virulencia de las distintas especies de *Leptospira*, el gen relacionado con la virulencia, etc. Conocimientos que podrían ampliarse a través del enfoque hacia los experimentos *in vivo*, y de una revisión de las técnicas viejas a la luz de la Biología Molecular.