

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Avances de laboratorio en el diagnóstico serológico y la investigación de la leptospirosis humana en Cuba

Lic. Ana Margarita Obregón,<sup>1</sup> Dra. Carmen Fernández,<sup>2</sup> Lic. Islay Rodríguez,<sup>3</sup> Téc. José Rodríguez<sup>4</sup> y Lic. Yarelys Zamora<sup>5</sup>

### RESUMEN

Se evaluaron por vez primera en Cuba las tecnologías serológicas rápidas para realizar la pesquisa y confirmación de la leptospirosis humana, que mundialmente están disponibles. Su reconocimiento clínico resulta difícil, y el diagnóstico etiológico rápido es de vital importancia. Se obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad superiores a 90 % en los sistemas confirmatorios y de 85 % en el de pesquisa. De los pacientes graves estudiados por estas tecnologías 50 % fue positivo, además se confirmaron 203 casos pertenecientes a 4 brotes epidémicos, así como 12 enfermos vacunados con vaxSPIRAL®, demostrándose la eficacia de la vacuna (78,1 %). Se desarrolló y aplicó un sistema látex para pesquisa rápida de leptospirosis (LeptoCuba), con excelente sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y estabilidad. La aplicación de nuevas tecnologías a la pesquisa y confirmación rápida de la enfermedad, permitió incrementar la positividad y calidad del diagnóstico en el período 2002-2006, fortaleciéndose la vigilancia microbiológica en el país.

**Palabras clave:** *Leptospirosis*, diagnóstico rápido, serología.

La leptospirosis humana es identificada como una infección aguda, transmisible, causada por un gran número de variedades de *Leptospira interrogans sensu lato*. Esta zoonosis, quizás la más conocida en el mundo y en particular en las Américas, se clasifica como reemergente, categoría alcanzada por la aparición de un gran número de brotes epidémicos atribuibles a múltiples serovariantes de leptospirosis. Esta enfermedad es de gravedad variable y en la mayoría de los casos el reconocimiento clínico resulta difícil; a menudo es confundido con otras infecciones también de pronóstico grave, que pueden ser igual de fulminantes y en ocasiones mortales, como el dengue, la hepatitis, la influenza, la meningitis

aséptica por enterovirus, las encefalitis, las gastroenteritis, entre otras. En Cuba, esta enfermedad tiene un comportamiento endémico-epidémico, con un carácter cíclico y estacional.

El diagnóstico microbiológico de la leptospirosis humana es de vital importancia en la confirmación de un caso, por ello resulta necesario implementar tecnologías rápidas de avanzada que permitan la detección temprana de la infección por leptospirosis. Mundialmente se comercializan estuches para la pesquisa y para la confirmación serológica-rápida de la enfermedad. Los primeros sistemas son los más demandados por los microbiólogos, estos están diseñados para la búsqueda de casos sobre todo en situaciones epidémicas; sin embargo, los

<sup>1</sup> Máster en Ciencias. Licenciada en Microbiología. Investigadora Auxiliar. Profesora Instructora.

<sup>2</sup> Máster en Ciencias. Doctora en Medicina Veterinaria. Investigadora Auxiliar. Profesora Instructora.

<sup>3</sup> Máster en Ciencias. Licenciado en Microbiología. Profesor Instructor.

<sup>4</sup> Técnico de Laboratorio.

<sup>5</sup> Licenciada en Microbiología. Investigadora Aspirante. Profesora Instructora.

sistemas confirmatorios rápidos son los más específicos al nivel de laboratorio.

Desde 1983, en Cuba existe descentralizada en la red de laboratorios de salud, la técnica serológica de hemaglutinación indirecta. Con la introducción en el país de las tecnologías serológicas rápidas se ha fortalecido significativamente el diagnóstico de la enfermedad, evitando en muchas situaciones epidémicas, lamentables pérdidas humanas y daños económicos considerables.

En el presente estudio fueron evaluados por primera vez en Cuba, 3 sistemas serológicos rápidos y comerciales: Lepto Tek Lateral Flow (LTLF), Lepto Tek Dip Stick (LTDS) y Lepto Tek Dri-Dot (LTDD), empleados los 2 primeros para la confirmación rápida de la enfermedad y el último para la pesquisa de casos sospechosos, con la utilización de 127 controles positivos y 135 negativos, además de los sistemas de referencia internacionales microaglutinación de serogrupos (MAT) y hemaglutinación indirecta (HA). Los sistemas confirmatorios LTLF y LTDS presentaron valores de sensibilidad y especificidad superiores a 90 % y el de pesquisa LTDD fue superior a 85 %. Se demostró relación estadística entre la sensibilidad y especificidad de estos 3 sistemas con respecto a los de referencia internacional.

Lepto Tek Lateral Flow, Lepto Tek Dip Stick y Lepto Tek Dri-Dot, se aplicaron para el diagnóstico rápido de casos graves con sospecha de la enfermedad, ingresados en la unidad de cuidados intensivos del hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), de los cuales 50 % resultó positivo; existió una alta coincidencia con las técnicas convencionales, lo que permitió la toma de decisiones terapéuticas importantes y evitó de esta forma la muerte y complicación de estos.<sup>1-3</sup>

Estas tecnologías rápidas junto con las convencionales, permitieron estudiar situaciones epidémicas y confirmar la existencia de leptospirosis humana en poblaciones afectadas de Villa Clara (1998), Ciudad de La Habana (2002), Guantánamo y Santiago de Cuba (2005). Se estudiaron un total de 1 766 muestras pertenecientes a 1 387 pacientes, incluidos los fallecidos. Basados en las evidencias de laboratorio, se obtuvo una positividad general de 15 %. Particularmente, en el brote ocurrido en la provincia de Villa Clara,

se observó una baja positividad serológica por los métodos convencionales en las muestras estudiadas del foco epidémico, de casos sospechosos y de los sueros de fallecidos; sin embargo, cuando se aplicaron las tecnologías rápidas los resultados obtenidos demostraron la presencia de IgM, que confirmó el diagnóstico de la enfermedad en 100 %.<sup>4</sup>

En Ciudad de La Habana la aplicación de las tecnologías rápidas permitieron confirmar 33 pacientes de los 264 sospechosos, lo que representa una positividad general de 13 %. El sistema confirmatorio del LTDS corroboró 43 % de los 83 casos estudiados, mientras que el sistema de pesquisa utilizado LTDD detectó 33 % de los 118 enfermos.<sup>5</sup>

En las provincias orientales de Santiago de Cuba y Guantánamo fueron confirmados serológicamente 120 y 28 pacientes, respectivamente, mediante las tecnologías rápidas y convencionales. El pesquaje rápido en estos estudios se realizó con el sistema comercial LTDD y el Látex Cubano Lepto Cuba, donde se observó una coincidencia de 95 %. En los casos confirmados mediante las tecnologías rápidas y convencionales, de forma general, se observó que los serogrupos de *Leptospira* predominantes fueron Ballum, Pomona, Canicola, Icterohamorrhagiae, Sejroe y Pyrogenes.

Después de ocurrida la eclosión epidémica en la ciudad de Santa Clara, las autoridades sanitarias del Ministerio de Salud Pública, deciden medir la eficacia de la primera vacuna cubana contra la leptospirosis vaxSPIRAL®, aplicada posterior en el territorio afectado. De un universo de 101 832 vacunados (50 354 con vaxSPIRAL® y 51 478 con Hebervac), se recibieron en el Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospirosis (LNRL) del IPK un total de 219 casos sospechosos de leptospirosis; se confirmaron de forma general 87,2 % y en particular, por las técnicas serológicas rápidas y convencionales 56,3 % de los casos.<sup>6-8</sup>

**TABLA.** Positividad serológica al emplear las tecnologías rápidas y las de referencia

Combinación de tecnologías	Casos positivos	Positividad (%)
HA/Pruebas rápidas	59	41,2
HA/MAT	57	39,8
MAT/Pruebas rápidas	116	81,1

En la tabla se muestra la positividad serológica alcanzada cuando se emplean de forma combinada las tecnologías rápidas y los sistemas de referencia HA y microaglutinación (MAT).

Dentro de los 143 casos confirmados serológicamente (56,29 %), solo 12 pacientes inmunizados con vaxSPIRAL®, contrajeron la enfermedad. La eficacia de la vacuna fue de 78,1 %. La tasa de incidencia de 2,38 por cada 10 000 habitantes y el riesgo relativo de la población sin vacunar de 0,22 %. Dentro de los casos confirmados, los serogrupos de *Leptospiras* encontrados fueron: Ballum (36 %), Pomona (35 %), Canicola (20,3 %) e *Icterohamorrhagiae* (14 %).

Como trabajo colateral en esta investigación fueron estudiados y evaluados por vez primera en Cuba, 5 sistemas de aglutinación con látex diseñados en el LNRL del IPK, para la pesquisa rápida de leptospirosis. Se realizó un estudio analítico descriptivo de 706 sueros humanos y 29 sueros de animales. Todas las muestras se evaluaron con los 5 conjugados de látex (látex-Canicola, látex-*Icterohaemorrhagiae*, látex-Pomona, látex-Sejroe y látex-Mezclado (mezcla de todos los serogrupos a partes iguales), el sistema de látex comercial de Lepto Tek Dri Dot y el sistema de referencia MAT.

La estabilidad y la reproducibilidad de los conjugados de látex se evaluaron durante 6 meses frente a sueros positivos y negativos. La mejor combinación de sensibilidad y especificidad se observó con el conjugado látex-Mezclado (93,8 % y 90,4 %, respectivamente). La mejor combinación de valores predictivos positivos y negativos se observó con el conjugado látex-Sejroe (90,9 % y 95,8 %, respectivamente), seguido del conjugado látex-Mezclado (94,2 % y 96,6 %, respectivamente). De las 137 muestras de pacientes positivos por MAT, los conjugados de látex lograron identificar de forma correcta 107 (78,1 %), mientras que el conjugado látex-Mezclado detectó 116 sueros (84,7 %). Al evaluar los sueros de animales, el conjugado látex-Mezclado detectó 100 % de positivos y tuvo la mayor coincidencia con MAT (93,1 %). Se observó una adecuada reproducibilidad y estabilidad durante 6 meses en condiciones de refrigeración.

bilidad y estabilidad durante 6 meses en condiciones de refrigeración.

El conjugado de látex-Mezclado (Lepto-Cuba) formado con células completas de leptospiras de los serogrupos de mayor circulación nacional demostró un grado de coincidencia con MAT similar o superior al observado con el sistema látex comercial Lepto Tek Dri Dot, tanto en sueros de humanos como de animales.<sup>9,10</sup> Este sistema se distribuyó en los hospitales clínicos quirúrgicos capitalinos “Hermanos Ameijeiras”, “Salvador Allende”, “Carlos J. Finlay”, CIMEQ, Naval, los centros provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Villa Clara y Sancti Spíritus y el Centro Municipal de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Güines. Se ha encontrado una alta coincidencia entre los resultados obtenidos en estas unidades de salud y el control de la calidad efectuado en el LNRL del IPK.

La introducción y aplicación continua de las tecnologías confirmatorias y de pesquiasaje, incluido el Lepto-Cuba, ha permitido el fortalecimiento del diagnóstico rápido de leptospirosis humana en toda la nación durante el período de 2002 y hasta julio de 2006. Se lograron detectar como positivos 506 (35 %) de un total de 1 447 casos pesquisados.

La confirmación rápida de la enfermedad ha sido realizada en 379 pacientes sospechosos, de los cuales 284 (75 %) resultaron positivos. La distribución de serogrupos de leptospiras en los casos positivos pesquisados y confirmados se puede observar en la figura. Observe que en el período 2002-julio 2006, continúan predominando los serogrupos Ballum, Pomona, Canicola, *Icterohamorrhagiae* y Sejroe.

Esta investigación ha apoyado activamente al Programa Nacional de Prevención y Control de la Leptospirosis vigente en Cuba, porque contribuye al mejor conocimiento del agente etiológico de esta grave enfermedad. Asimismo mejoró el nivel científico y técnico del LNRL del IPK y la capacitación de la Red de Laboratorios, para su proyección hacia la región de Centroamérica y el Caribe.

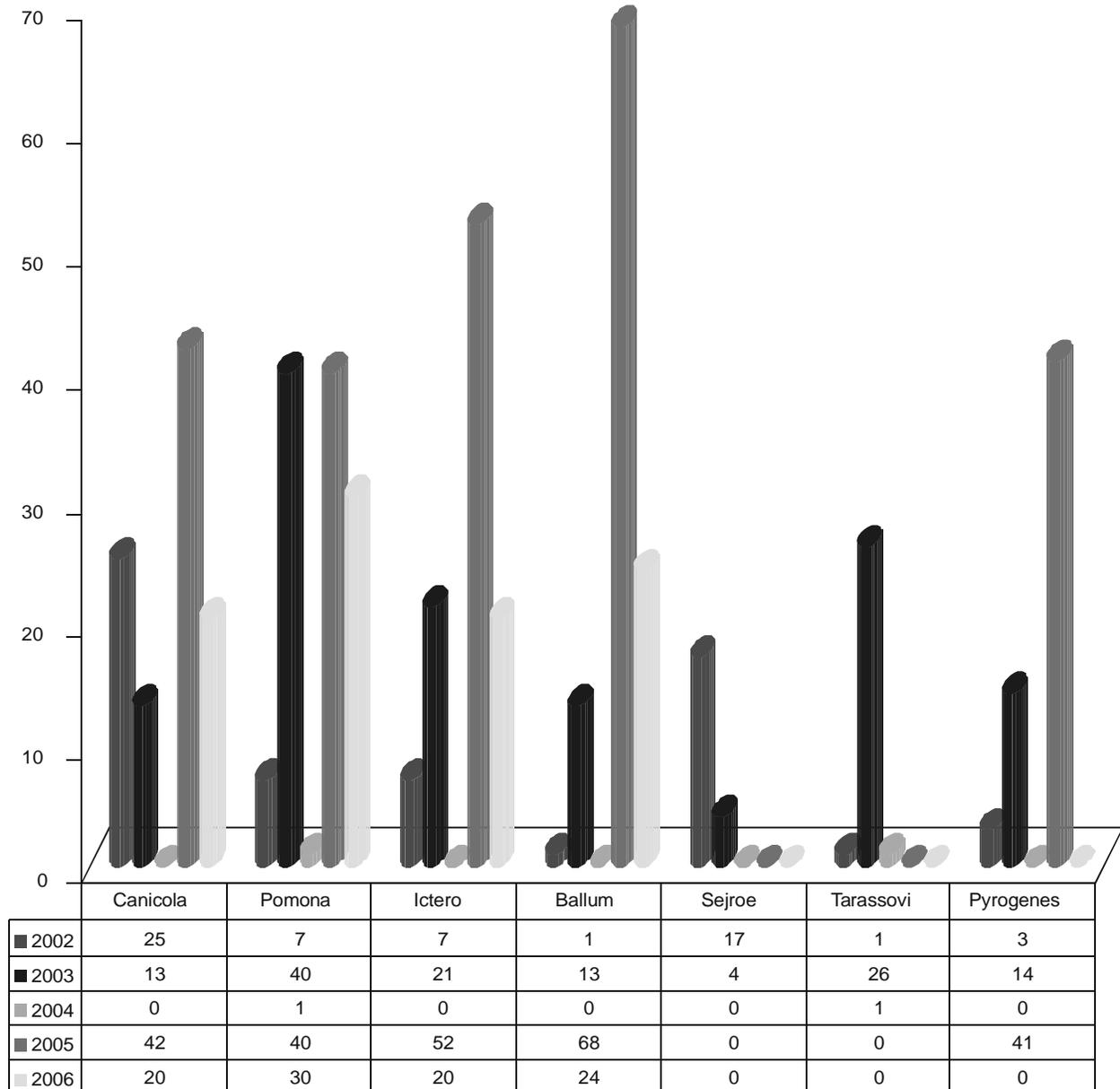


Fig. Serogrupos de leptosiras en los casos positivos pesquisados y confirmados en el LNRL del IPK, Cuba 2002-2006.

### Laboratory advances in serologic diagnosis and research of human leptospirosis in Cuba

#### SUMMARY

For the first time in Cuba the rapid serologic technologies available worldwide were evaluated for the screening and confirmation of human leptospirosis. As its clinical recognition is difficult, the fast etiological diagnosis is of vital importance. Sensitivity and specificity values higher than 90 % were obtained in the confirmatory systems, and of 85 % in the screening systems. Of the severe patients studied by these technologies 50 % were positive. 203 cases

corresponding to 4 epidemic outbreaks were confirmed, as well as 12 sick persons vaccinated with vaxSPIRAL®, which demonstrates the vaccine effectiveness (78.1 %). We developed and applied a latex system for a rapid screening of leptospirosis (LeptoCuba), with an excellent sensitivity, specificity, reproducibility, and stability. The application of new technologies for the screening and fast confirmation of the disease allowed to increase the positivity and quality of the diagnosis from 2000 to 2006, strengthening the microbiological surveillance in the country.

**Key words:** Leptospirosis, rapid diagnosis, serology.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J, Martínez B. Lepto Dip Stick y Lepto Dri Dot técnicas útiles en el diagnóstico rápido de la Leptospirosis humana en Cuba. *Rev Bioquímica* 2004;29(No. especial):90.
2. Obregón AM, Martínez B, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J. Lepto Tek lateral flow: tecnología serológica de avanzada para el diagnóstico rápido de la leptospirosis humana en Cuba. *Rev Bioquímica* 2004;29(No. especial):91.
3. Martínez B, Obregón AM, Fernández C, Rodríguez J, Rodríguez I. Lepto Tek Lateral Flow: un método para el diagnóstico rápido de la leptospirosis humana en Cuba. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 2005;43(1). URL disponible en la World Wide Web: <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-17512005000100010&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-17512005000100010&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0253-1751]
4. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J. Confirmación microbiológica de un brote de leptospirosis humana en la provincia de Villa Clara. *Rev Cubana Med Trop* 2003;55(2).
5. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez J, Rodríguez I, Martínez B, Barrios R. Application of advanced serological technologies in Cuba, to confirm human leptospirosis. *Int J Infect Dis* 2004;8(suppl. 1):S129-S130.
6. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J. Impacto práctico del uso de la técnica de MAT en la detección de bajos títulos de anticuerpos IgM e IgG en pacientes con Leptospirosis confirmada. *Rev Bioquímica* 2004;29(No. especial):89.
7. Martínez R, Pérez A, Quiñones MC, Cruz R, Álvarez A, Armesto M, et al. Eficacia y seguridad de una vacuna contra la leptospirosis humana en Cuba. *J Public Health* 2004;15(4):249-55.
8. González M, Fernández C, Obregón AM, Rodríguez J. vax-SPIRALÓ Vacuna antileptospirósica trivalente para uso humano, investigación, desarrollo e impacto sobre la enfermedad en Cuba. *Rev Biotecnol Aplic* 2004;21(2):107-11.
9. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J, Martínez B, Balbis Y. Sistema de aglutinación con látex para el diagnóstico rápido de leptospirosis en Cuba. *J Public Health* 2004;16(4):259-65.
10. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J, Viera J. Aglutinación en látex un método de pesquiasaje para la leptospirosis humana en Cuba. *Rev Bioquímica* 2005,30 (Supl. 2).

Recibido: 29 de noviembre de 2006. Aprobado: 12 de diciembre de 2006.

Lic. *Ana Margarita Obregón Fuentes*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ Municipio La Lisa . Ciudad Habana, Cuba. Fax: 204 6051. Correo electrónico: amobregon@ipk.sld.cu