

## Serotipos de *Streptococcus pneumoniae* responsables de enfermedad invasiva en niños cubanos

### *Streptococcus pneumoniae* serotypes responsible for invasive disease affecting Cuban children

Gilda Toraño Peraza,<sup>I</sup> Daniela Suárez Aspaza,<sup>I</sup> Miriam Abreu Capote,<sup>I</sup> Brenda Barreto Núñez,<sup>I</sup> Eugenia Toledo Romani,<sup>II</sup> Nivaldo Linares Pérez<sup>III</sup>

<sup>I</sup>Laboratorio Nacional de Referencia para *Streptococcus pneumoniae*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

<sup>II</sup>Departamento de Epidemiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

<sup>III</sup>Dirección de Investigaciones Clínicas y Evaluación de Impacto. Instituto Finlay de Vacunas. La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** *Streptococcus pneumoniae* es causa importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, fundamentalmente en niños < 5 años. En Cuba aún no se introdujo la vacunación antineumocócica, pero desde 2014, con el propósito de sentar las bases para la evaluación de su impacto, se lleva a cabo un protocolo de vigilancia centinela de la enfermedad neumocócica invasiva en niños ≤ 5 años.

**Objetivos:** notificar los serotipos de *S. pneumoniae* responsables de enfermedad neumocócica invasiva en la población pediátrica cubana, y valorar la contribución de ese protocolo a la vigilancia.

**Métodos:** se determinaron los serotipos de todos los aislamientos pediátricos invasivos y los recuperados de otitis media aguda, recibidos en el Laboratorio Nacional de Referencia de Neumococo, del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", entre 2013-2015. Se utilizó el método de hinchazón capsular empleando el juego de reactivos Pneumotest.

**Resultados:** se notificaron 141 aislamientos invasivos en edad pediátrica. Predominaron los responsables de neumonías (76 vs. 49 aislamientos meníngeos) y la mayoría de estos fueron aportados por los hospitales involucrados en la vigilancia centinela (75 %; 57/76). El 85,8 % de los aislamientos quedaron contenidos en siete

serotipos, que por orden de frecuencia fueron: 14, 19A, 6A, 19F, 6B, 3 y 23F. La cobertura serotípica de las diferentes vacunas neumocócicas multivalentes con posibilidades de ser empleadas se estimó entre 54 y 90 %.

**Conclusiones:** tras la introducción de la vacunación cabría esperar una reducción de la enfermedad neumocócica invasiva debida a los serotipos contenidos en las vacunas conjugadas disponibles, pero se insiste en la necesidad de fortalecer la vigilancia clínico-epidemiológica que se hace hoy de esta entidad en el país.

**Palabras clave:** *Streptococcus pneumoniae*; serotipos; neumococo; enfermedad invasiva.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** *Streptococcus pneumoniae* is a significant cause of morbidity and mortality worldwide mainly in children younger than 5 years. The pneumococcal vaccination has not been yet put into practice in Cuba; however, since 2014 a protocol of sentinel surveillance of the invasive pneumococcal disease in children aged 5 years or less is being implemented to lay the foundations for the evaluation of the impact of this vaccine.

**Objectives:** to report on the *S. pneumoniae* serotypes responsible for the invasive pneumococcal disease in the Cuban pediatric population and to assess the contribution of this protocol to surveillance.

**Methods:** the serotypes of all the invasive pediatric isolates and the recovered ones of acute otitis media were determined by the national laboratory of pneumococcal reference of "Pedro Kourí" Institute of Tropical Medicine from 2013 to 2015. The capsular swelling method was used with the Penumotest reagent set.

**Results:** one hundred and forty one invasive isolates were reported at pediatric ages. The isolates causing pneumonia predominated (76 vs. 49 meningeal isolates) and most of them were provided by hospitals involved in the sentinel surveillance project (57 out of 76; 75 %). In this regard, 85.8 % of isolates belonged to seven serotypes that were in order of frequency the following: 14, 19A, 6A, 19F, 6B, 3 and 23F. The serotype coverage of the various multivalent pneumococcal vaccines of possible use was estimated at 54-90 %.

**Conclusions:** after the introduction of the vaccinations, one might expect that a reduction of the invasive pneumococcal disease occurs due to the serotypes included in the available conjugate vaccines, but emphasis is made on the need of strengthening at present the clinical and epidemiological surveillance system for this disease nationwide.

**Keywords:** *Streptococcus pneumoniae*; serotypes; pneumococci; invasive disease.

---

## INTRODUCCIÓN

*Streptococcus pneumoniae* es causa importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, y se estima que anualmente produce alrededor de 541 000 muertes en niños < 5 años.<sup>1</sup> La afección más grave que origina es la enfermedad neumocócica invasiva (ENI), que es aquella en la que se aísla la bacteria, o se demuestran sus antígenos en

---

una muestra clínica de un sitio normalmente estéril, e incluye: meningitis, bacteriemia, endocarditis, peritonitis, artritis y osteomielitis.<sup>2</sup> En Cuba aún no se introdujo la vacunación antineumocócica, y la única forma de ENI objeto de vigilancia hasta el 2014 es la meningitis, que constituye una enfermedad de declaración obligatoria (EDO).<sup>3</sup> De este modo, entre 1998 y 2012 se demuestra para la meningitis por *S. pneumoniae* una incidencia de 1,3/10<sup>5</sup> habitantes, que se hace máxima en los < 1 año (10,7/10<sup>5</sup>), y en el grupo de 1-5 años (2,2/10<sup>5</sup>).<sup>4</sup>

El Laboratorio Nacional de Referencia de Neumococo (LNRN) en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK) es responsable de la caracterización en serotipos de los aislamientos invasivos de *S. pneumoniae*. Esta vigilancia permite conocer los más frecuentemente asociados a las infecciones meníngeas, pues, en correspondencia con su carácter de EDO, el Minsap regula su remisión al LNRN-IPK; sin embargo, no proporciona información que correlacione íntegramente con los serotipos comprometidos con otras formas de ENI.<sup>5,6</sup>

La introducción de la vacunación antineumocócica en Cuba planeada para 2017, tras el otorgamiento del registro sanitario al candidato vacunal heptavalente cubano (CVC7-T), actualmente en evaluación clínica, permitirá la prevención de la enfermedad neumocócica por los serotipos 1, 5, 6B, 14, 18C, 19F y 23F en la población preescolar y los lactantes. En 2014, con el objetivo de sentar las bases para la evaluación posterior del impacto de su introducción, se propone un protocolo de vigilancia centinela de la ENI en niños ≤ 5 años de edad, de base hospitalaria y con énfasis en el estudio de las neumonías adquiridas en la comunidad, que comienza a ejecutarse en seis hospitales pediátricos en tres provincias del país (La Habana, Cienfuegos y Santiago de Cuba), con el auspicio del Instituto Finlay de Vacunas y la colaboración del IPK (Linares-Pérez N. *Model for clinical research and impact evaluation of the Cuban pneumococcal vaccine [oral presentation]*. *Vacci Pharma International Conference*. Varadero, Cuba; 2015).<sup>7,8</sup>

La presente comunicación tiene como objetivo notificar los serotipos de *S. pneumoniae* responsables de ENI en la población pediátrica cubana en el trienio 2013-2015, así como valorar la repercusión de ese protocolo en los resultados que se informan.

## MÉTODOS

Se colectaron los datos de la caracterización en serotipos de los aislamientos de *S. pneumoniae* que causaron ENI en niños en Cuba, así como la información de tipo de enfermedad, y la edad de los pacientes a partir de cuyas muestras se recuperaron estos. Se incluyeron los aislamientos invasivos y los recobrados de otitis media aguda (OMA) recibidos para la actividad de referencia en el período 2013-2015.

Solo se admitió un aislamiento por caso, y se consideraron como invasivos los identificados como agente causal de un episodio de ENI, es decir, los recuperados tras el cultivo de muestras de sangre u otro líquido normalmente estéril, como líquido cefalorraquídeo (LCR), líquido pleural o pericárdico.<sup>3</sup>

Los aislamientos recibidos en el LNRN-IPK se confirmaron con base en la morfología de las colonias, tipo de hemólisis, tinción de Gram, sensibilidad a la optoquina y solubilidad en bilis.<sup>9</sup> La determinación del serotipo se realizó a través del método de hinchazón capsular empleando el juego de reactivos Pneumotest (*Statens Serum Institute*, Dinamarca).<sup>10</sup> A partir de este resultado se estimó la cobertura teórica de

serotipos (expresada en por ciento) para las vacunas conjugadas neumocócicas (VCN) 10 y 13 valente, y para el CVC7-T, comparando el grado de concordancia entre los serotipos contenidos en estas y el de aislamientos circulantes en el período de estudio.

## RESULTADOS

Resultaron útiles para el estudio 275 neumococos. Durante 2013 solo se recibieron 53, en 2014 el número se incrementó a 91, y ascendió a 130 al cierre de 2015. Para 37 de ellos no se informó la edad de los pacientes, y 97 se comunicaron como causa de enfermedad en adultos. Los otros 141 aislamientos se notificaron como responsables de enfermedad en edad pediátrica. Para estos últimos, el mayor número procedió de neumonías y meningitis ([tabla 1](#); 76 y 49, respectivamente); mientras que solo quedaron incluidos un aislamiento de pericarditis, seis de bacteriemia y nueve de OMA.

**Tabla 1.** Serotipos de *S. pneumoniae* entre aislamientos pediátricos, según el tipo de enfermedad

Serotipos	Meningitis	Neumonía	Bacteriemia	Pericarditis	OMA	Total (%)
3	2	5	-	-	-	7 (4,9)
4	-	2	1	-	-	3 (2,1)
6A	4	12	-	-	-	16 (11,3)
6B	4	7	-	-	-	11 (7,8)
6C	1	3	-	-	-	4 (2,8)
7F	-	1	-	-	-	1 (0,7)
11A	1	-	-	-	-	1 (0,7)
14	19	17	2	-	-	38 (26,9)
15F	1	-	-	-	-	1 (0,7)
15A	1	-	-	-	-	1 (0,7)
15C	1	-	-	-	-	1 (0,7)
18A	1	-	-	-	-	1 (0,7)
18C	2	-	-	-	-	2 (1,4)
19A	3	21	1	1	4	30 (21,2)
19F	6	3	1	-	3	13 (9,2)
23F	3	1	-	-	2	6 (4,2)
Sin serotipar	-	1	1	-	-	2 (1,4)
Total	49	73 <sup>a</sup>	6	1	9	138 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> y <sup>b</sup> 76 y 141 respectivamente, considerando tres aislamientos caracterizados solo hasta serogrupo; OMA: otitis media aguda.

En 136 de los 141 aislamientos pediátricos se demostraron 16 serotipos diferentes (tabla 1). Para tres de ellos la caracterización se logró solo hasta serogrupo (dos aislamientos serogrupo 6 y uno serogrupo 19), y únicamente dos se informaron sin serotipar (1,4 %). Los serotipos más frecuentes fueron: 14 (26,9 %), 19A (21,2 %), 6A (11,3 %), 19F (9,2 %), 6B (7,8 %), 3 (4,9 %) y 23F (4,2 %).

Entre los aislamientos meníngeos se observó un predominio del serotipo 14, y el 19A fue el más frecuente entre las neumonías, seguido del 14 y 6A (tabla 1). Entre los aislamientos de pericarditis, bacteriemia y OMA, aunque estos fueron escasos, predominó el 19A. Es importante destacar que este constituyó también el más aislado en casos de neumonía con empiema (datos no mostrados; siete de los 12 conseguidos por cultivo del líquido pleural en los sitios centinelas, y nueve de los 16 obtenidos en todo el período, sin distinción de hospital de procedencia).

En la tabla 2 se resume la distribución de los serotipos durante el período de estudio para los diferentes grupos de edad pediátrica. En correspondencia con su condición de más frecuentes, los serotipos 14, 19A, 6A, 19F y 23F estuvieron representados en todos los estratos. Los serotipos 6A, 14 y 19A predominaron en los grupos de 12-23 y 24-59 meses de edad, pero esto también obedece a que son los grupos para los cuales se estudiaron un mayor número de aislamientos.

**Tabla 2.** Serotipos de *S. pneumoniae* según grupos de edad pediátrica

Edad	No. de casos por serotipos																Total	Sin serotipar
	3	4	6A	6B	6C	7F	11A	14	15F	15A	15C	18A	18C	19A	19F	23F		
< 12 meses (n= 34)	3	-	4	3	2	-	-	5	-	-	-	1	-	7	7	2	34	-
12-23 meses (n= 54)	2	1	10	3	2	-	-	19	-	-	1	-	-	9	4	2	53	-
24-59 meses (n= 38)	-	-	1	5	-	1	-	13	-	-	-	-	2	13	1	1	37	-
5-18 años (n= 15)	2	2	1	-	-	-	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	12	2
Total	7	3	16	11	4	1	1	38	1	1	1	1	2	30	13	6	136*	2

\* 139 considerando aislamientos caracterizados hasta serogrupo (uno en los grupos de 12-23 y 24-59 meses, y uno en el de 5-18 años).

## DISCUSIÓN

Se impone resaltar que el 57,4 % de los aislamientos pediátricos (81/141) fueron colectados en los hospitales integrados al protocolo de vigilancia centinela de la ENI en niños ≤ 5 años; y por otro lado, que el predominio de aislamientos extrameníngeos y la mayoría de los comprometidos con los casos de neumonías (75 %; 57/76) fueron también aportados por los sitios centinelas.

En relación con esto último, aunque aún es breve el tiempo transcurrido desde que comenzó a ejecutarse esta vigilancia, hay que destacar su contribución a través del estudio de un mayor número de neumonías diagnosticadas por hemocultivo (45 contra 12 conseguidos por el cultivo de líquido pleural), como consecuencia de la sistematización de su indicación ante todo caso probable, y a la normalización de los protocolos para la toma y procesamiento de muestras de sangre. Esto resulta de vital importancia, pues, aunque las neumonías por neumococo pueden cursar con o sin

bacteriemia, se estiman tres infecciones no bacteriémicas por cada caso con bacteriemia; de modo que la mayor carga por concepto de enfermedad neumocócica corresponde a la enfermedad no invasiva.<sup>11</sup> La información clínica y epidemiológica que se recaude a partir del estudio de casos de ENI, será más relevante para hacer inferencias útiles al comportamiento de las formas no invasivas, en la misma medida en que se estudien un mayor número de estos.

Hasta la fecha se han identificado 97 serotipos en *S. pneumoniae*, pero antes del empleo extendido de las VCN, el 70 % de los casos de ENI eran producidos fundamentalmente por los serotipos: 14, 6B, 1, 23F, 5 y 19F.<sup>12,13</sup> Los encontrados en este estudio se corresponden con los mencionados anteriormente, pero no se detectaron los serotipos 1 y 5. Llama la atención el hallazgo de un número importante de aislamientos serotipo 19A y 6A, descritos como emergentes tras el uso de la VCN7v (contiene los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F).<sup>14</sup>

El estudio de la distribución de serotipos ha sido siempre extremadamente complejo, pues, aunque se ha comprobado que suelen ser los mismos los que con mayor frecuencia causan enfermedad, su distribución es desigual en diferentes países, tipo de enfermedad y edad. Así, por ejemplo, el serotipo 14 se reconoce asociado a bacteriemia y meningitis en niños pequeños; el 19A se registra como causa de OMA y empiema; el 23F como responsable de meningitis, tanto entre niños como adultos; los 6B y 6A comúnmente son más aislados de LCR, y para este último se informa mayor mortalidad; y el 5 se describe como muy invasivo entre niños de países del continente africano, pero al mismo tiempo, junto al serotipo 1 se notifica en > 5 años en España, Bélgica, Alemania y Suiza.<sup>14-16</sup>

En Cuba, la insuficiencia de datos al respecto de la carga de la ENI podría hacer suponer erróneamente que su incidencia es baja. Por ejemplo, en el año 2000 se registra un alta incidencia de meningitis por neumococo en lactantes ( $23,8 \times 10^5$  habitantes), que en 2012 decrece a  $3,1 \times 10^5$  habitantes, sin que esto obedezca a una intervención de prevención y control concreta, como la vacunación.<sup>5</sup> En este sentido, los datos que se muestran en la [tabla 2](#) constituyen evidencias de la ENI como problema de salud para la población pediátrica cubana.

En resumen, entre 2013 y 2015, siete serotipos (14, 19A, 6A, 19F, 6B, 3 y 23F) representaron el 85,8 % de los identificados como responsables de enfermedad neumocócica en pacientes pediátricos en Cuba. El beneficio potencial o cobertura de serotipos estimada para la VCN10v (VCN7v + 1, 5 y 7F), fue de 54,8 %; y para la VCN13v (VCN10v + 3, 6A y 19A) fue de 90,07 %, incremento atribuible, fundamentalmente, a los aislamientos 19A. Entre 2000-2005 también para la VCN13v se demuestra una cobertura mayor (96,3 %), pero esta se evalúa solo para los < 2 años de edad.<sup>17</sup> En cambio, entre 2007 y 2012 se estima en 70,4 %, pero considerando aislamientos meníngeos y sin diferenciar grupos de edad.<sup>6</sup>

La cobertura serotípica referida al CVC7-T fue de 49,6 % y asciende a 82,2 % al considerar en la valoración a los serotipos 6A y 19A. Esta estimación se fundamenta en el supuesto de que se obtiene un cierto grado de protección para serotipos relacionados antigénicamente, como el 6A y 6B.<sup>18</sup> Así mismo, para los serotipos 19A y 19F, aunque en este caso los resultados publicados son divergentes y algunos describen escasa o ninguna protección cruzada.<sup>19,20</sup> Tal hipótesis deberá ser confirmada en el marco de la evaluación clínica del CVC7-T.

Se concluye que a partir de las coberturas de serotipos estimadas para las diferentes vacunas neumocócicas multivalentes con posibilidades de ser empleadas en Cuba, se puede predecir que su introducción originará una reducción de la ENI debida a los serotipos contenidos en ellas; sin embargo, se impone la necesidad de mantener una vigilancia sobre la incidencia de la enfermedad y los serotipos asociados, para evaluar su beneficio y decidir la inclusión de otros serotipos en futuras formulaciones vacunales.

Las observaciones de la presente comunicación son relevantes para señalar a la ENI como un problema de salud para la población pediátrica cubana, y útiles para insistir en la necesidad de vacunar y fortalecer la vigilancia clínica-epidemiológica.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al personal de los laboratorios de Microbiología de los diferentes hospitales del país, y en especial al de los sitios centinelas, por su sistematicidad en la identificación y conservación de los aislamientos ante cada caso de enfermedad neumocócica.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en la realización del estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Pneumococcal vaccines WHO position paper-2012-recommendations. Vaccine. 2012;30(32):4717-8.
2. Center for Disease Control and Prevention. Pneumococcal Disease Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. 12<sup>th</sup> edition. Atlanta: Center for Disease Prevention and Control; 2011. p. 233-48.
3. Pérez A, Dickinson F, Rodríguez M. Community acquired bacterial meningitis in Cuba: a follow up of a decade. BMC Infectious Diseases. 2010;10:130.
4. Dickinson F, Rodríguez M, Toraño G. Pneumococcal meningitis in Cuban children and adolescents: A fifteen years follow up. PediatricsResearch International Journal. 2015(2015). Article ID 596251.
5. Toraño G, Llanes R, Pías L, Abreu M, Varcárcel M. Serotipos de *Streptococcus pneumoniae* en Cuba y progresión de la resistencia a la penicilina. Rev Cubana Med Trop [serie en Internet]. 2010 ago [citado 26 de Mayo de 2016];62(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602010000200012&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602010000200012&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

6. Toraño G, Pías L, Capote M, Rodríguez M, Dickinson F, Varcárcel M. Serotipos y resistencia antimicrobiana de aislamientos meníngeos de *Streptococcus pneumoniae*. Cuba, 2007-2012. *Vacci Monitor*. 2014;23(3):117-23.
7. González N, Paredes B, Pérez S, Mirabal M, Rivero I, González C, et al. Safety and immunogenicity of Cuban antipneumococcal conjugate vaccine PCV7-TT in Healthy Adults. *MEDICC Review*. 2015;17(4):32-37.
8. Dotres C, Puga R, Ricardo Y, Broño C, Paredes B, Echemendía V, et al. Safety and preliminary immunogenicity of Cuban pneumococcal conjugate vaccine candidate in healthy children: A randomized phase I clinical trial. *Vaccine*. 2014;32(41):5266-70.
9. Perilla MJ, Ajello G, Bopp C, Elliott J, Facklam R, Knapp J, et al. Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la Salud Pública en el mundo en desarrollo. Atlanta: WHO; 2003.
10. Habib M, Porter BD, Satzke C. Capsular Serotyping of *Streptococcus pneumoniae*. Using the Quellung Reaction. *J Vis Exp*. 2014(84):e51208.
11. Said M, Johnson H, Nonyane B, Deloria-Knoll M, O'Brien KL, Andreo F, et al. Estimating the burden of pneumococcal pneumonia among adults: a systematic review and meta-analysis of diagnostic techniques. *PLoS ONE*. 2013;8:e60273.
12. Geno K, Gilbert G, Song J, Skovsted I, Klugman K, Jones C, et al. Pneumococcal capsules and their types: Past, present, and future. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015;28(3):871-99.
13. Johnson HL, Deloria-Knoll M, Levine OS, Stoszek SK, Freimanis Hance L, et al. Systematic Evaluation of Serotypes Causing Invasive Pneumococcal Disease among Children Under Five: The Pneumococcal Global Serotype Project. *PLoS Med*. 7(10):e1000348.
14. Darenberg J, Henriques Normark B. The epidemiology of pneumococcal infections- the Swedish experience. *Vaccine*. 2009;27(suppl 6):G27-32.
15. Van Effelterre T, Moore M, Fierens F, Whitney C, White L, Pelton S, et al. A dynamic model of pneumococcal infection in the United States. Implications for prevention through vaccination. *Vaccine*. 2010;28:3650-60.
16. Isaacman D, Mc Intosh D, Reinert R. Burden of invasive pneumococcal disease and serotype distribution among *Streptococcus pneumoniae* isolates in young children in Europe: impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and considerations for future conjugate vaccines. *Inter J Infect Dis*. 2010;14:197-209.
17. Castañeda E, Agudelo CI, Ragueira M, Corso A, Brandileone MC, Brandao A, et al. Laboratory-based surveillance of *Streptococcus pneumoniae* invasive disease in children in 10 Latin American countries. SIREVA II Project, 2000-2005. *Pediatric Infec Dis J*. 2009;28(9):265-70.



18. Vakevainen M, Eklund C, Eskola J, Kayhty H. Cross-reactivity of antibodies to type 6B and 6A polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*, evoked by pneumococcal conjugate vaccines in infants. J Infect Dis. 2001;184(6):789-93.
19. Kuttel M, Jackson G, Mafata M, Ravenscroft N. Capsular polysaccharide conformations in pneumococcal serotypes 19F and 19A. Carbohydrate Research. 2015;406:27-33.
20. Hausdorff W, Hoet B, Schuerman L. Do pneumococcal conjugate vaccines provide any cross-protection against serotype 19A? BMC Pediatrics. 2010;10:4.

Recibido: 2 de Junio de 2016.

Aprobado: 18 de Junio de 2016.

*Gilda Toraño Peraza*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía, km 6½, municipio La Lisa. La Habana, Cuba. Correo electrónico: [gilda@ipk.sld.cu](mailto:gilda@ipk.sld.cu)