

ARTÍCULO ORIGINAL

Anticuerpos antileptospirales en Intacglobín nueva posibilidad terapéutica para tratar la leptospirosis

Antileptospiral antibodies in Intacglobin, a new therapeutic possibility for treating leptospirosis

Juan Manuel Lemus Quintana,¹ Hildefonso Caridad Cabezas Alfonso²

¹Especialista de Primer Grado Medicina Interna. Máster en longevidad satisfactoria. Hospital Provincial Clínico Quirúrgico "León Cuervo Rubio". Pinar del Río. Correo electrónico: clara@princesa.pri.sld.cu

²DrC. en Microbiología e Inmunología. Dr. en Medicina Veterinaria. Experto en Leptospirosis de la OPS. Profesor Consultante y Titular. Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Correo electrónico: loidel@princesa.pri.sld.cu

Recibido: 8 de marzo de 2015.

Aprobado: 9 de julio de 2015.

RESUMEN

Introducción: el Intaglobin es un producto biológico obtenido en la Planta de Hemoderivados de La Habana, contiene inmunoglobulinas policlonales de las clases IgG, IgM e IgA, empleadas actualmente como complemento inmunológico en diversas afecciones.

Objetivo: demostrar la presencia y efectividad de anticuerpos de inmunoglobulinas antileptospirales en el Intacglobín para el tratamiento específico de la leptospirosis.

Material y método: se realizó un estudio en 13 lotes de Intaglobin para demostrar la presencia de inmunoglobulinas antileptospirales en este producto. Se emplearon dos técnicas de laboratorio, la técnica de microaglutinación (TMA) con 10 serogrupos de leptospiras (técnica de referencia de la OMS), y la técnica UMELISA, con un Ag desarrollado por la Universidad de Ciencias Médicas. Las muestras de Intaglobin fueron diluidas a partir de 1:50 hasta 1:3200 para la TMA y de 1:21 para UMELISA. Se consideró positiva la prueba cuando aglutinaba el 50% o más de los antígenos para TMA y positiva según corte establecido para UMELISA.

Resultados: en siete de los 13 lotes estudiados se detectaron reacciones serológicas frente a las dos técnicas empleadas. Hasta 1:1600, específicamente en el caso del serogrupo L. Hebdomadis 1:400, en el de L. Icterohaemorrhagiae, Canícola, Pomona y Australis 1:200, y Ballum 1:100.

Conclusiones: se abre una nueva posibilidad de tratamiento para la leptospirosis, aumentando el arsenal terapéutico con este producto el cual adquiere ahora un valor agregado.

DeCS: Intacglobín, leptospira, serogrupo, hiperinmune.

ABSTRACT

Introduction: Intacglobin is biological product obtained in the Havana Hemoderivatives Plant, contains polyclonal immunoglobulins of the classes IgG, IgM and IgA, presently used as immunologic complement in diverse conditions.

Objective: to show the presence and effectiveness of antileptospiral immunoglobulins antibodies in Intacglobin for the specific treatment of leptospirosis.

Material and method: a study was carried out in thirteen lots of Intacglobin, in order to show the presence of antileptospiral immunoglobulins in this product. Two laboratory techniques were used: microagglutination with 10 serogroups of leptospira (WHO reference technique), and UMELISA, with an Ag developed the University of Medical Sciences. The Intacglobin samples were diluted from 1:50 to 1:3200 for the microagglutination and from 1:21 for UMELISA. The test was considered positive when agglutination of the antigens was 50% or higher for the microagglutination technique and positive according to range established for UMELISA.

Results: in seven of the thirteen studied lots serologic reactions were detected before the two used techniques. Up to 1:1600, specifically in the case of the serogroup L. Hebdomadis 1:400, in the L. Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona y Australis 1:200, and Ballum 1:100.

Conclusions: a new possibility of treating leptospirosis, increasing the therapeutic stock with this product, which acquires now an added value.

DeCS: Intacglobin; leptospira; serogroup; hyperimmune.

INTRODUCCIÓN

La utilización de preparados de inmunoglobulinas humanas polivalentes a títulos sustitutivos ha representado un gran progreso en la lucha contra el déficit inmunitario sérico, así como en la profilaxis o terapéutica.¹ El Intacglobín surge como producto comercial en 1990 y constituye un medicamento genérico de origen sanguíneo, obtenido en la Planta de Hemoderivados "Aristides Viera", perteneciente a la Empresa de Sueros y Productos Hemoderivados "Adalberto Pesant" radicada en La Habana. Contiene inmunoglobulinas Polivalentes de las clases IgA, IgM e IgG.

Dicho producto es una solución inyectable para uso intravenoso de *Inmunoglobulina Humana Normal* 5%. Durante años fue una de las pocas inmunoglobulinas líquidas de molécula intacta en el mundo. Tiene varias aplicaciones desde el punto de vista del tratamiento de procesos infecciosos por *Pseudomona aeruginosa*¹⁻³ enfermedades inmunosupresoras virales⁴ y otras afecciones como el Síndrome de Guillen Barre, la enfermedad de Kawasaki⁵ por ser rico en inmunoglobulinas policlonales.

El trabajo que se presenta no tiene referencias en el país puesto que constituye un estudio específico del producto como tal. Es un estudio intencionando la posibilidad de definir su rango de aplicación, en este caso se trata de que sirva como un agente terapéutico de primer orden en el tratamiento de la leptospirosis, es decir, que se aplique con conocimiento del nivel de inmunoglobulinas antileptospirales específicas en esta enfermedad y no como un producto biológico más. Buscar nuevos métodos de tratamiento en el caso de la leptospirosis, a pesar de que la

enfermedad se conoce bien clínicamente hace siglos atrás, renueva esperanzas de que se pueda perfeccionar un modelo para ello.

El objetivo de este trabajo demostrar la presencia y efectividad de anticuerpos de inmunoglobulinas antileptospirales en el Intacglobín para el tratamiento específico de la leptospirosis.

MATERIAL Y MÉTODO

El Centro de Leptospirosis de la Facultad de Ciencias Médicas de Pinar del Río en coordinación con la Planta de Hemoderivados de La Habana, desarrolló una investigación dirigida a detectar la presencia de anticuerpos antileptospirales (Igs), en diferentes lotes de Intaglobin, 13 en total. Para ello se utilizó la técnica de microaglutinación (TMA) que es la técnica de referencia de la OMS, empleando los serogrupos, serovares y cepas de referencia (procedentes del LNRL del IPK) siguientes:

Serogrupos	Serovar	Cepa de referencia
Icterohaemorrhagiae	rga	RGA
Canícola	schffneri	Vlermuis90C
Ballun	ballun	Castellon 3
Hebdomadis	hebdomadis	Hebdomadis
Pomona	pomona	Pomona
Australi	lora	Lora
Pyrogenes	robinson	Robinson
Autumnalis	bangkinang	Bangkinang
Tarassovi	tarassovi	MitisJonhson
Bataviae	bataviae	Van Tienen

Las cepas poseían las características y condiciones idóneas. La dilución del producto se realizó a partir de 1:50 hasta 1:3200, considerando positiva una aglutinación de las leptospiras igual o superior al 50%. La otra técnica usada para determinar la presencia de anticuerpos antileptospirales de la clase IgG, fue el UMEELISA. Para este sistema se empleó un Ag leptospiral obtenido en el Centro de Leptospirosis de la Facultad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, que había sido avalado para este sistema por el IPK a propuesta de la Facultad en coordinación con el Laboratorio de Referencia de esta Institución. Para esta técnica la dilución base fue de 1:20. Diluciones sucesivas se hicieron hasta 1:160.

RESULTADOS

De los 13 lotes estudiados siete reaccionaron positivamente (códigos de los lotes positivos 03024, 01024, 01014, 04075, 01105, 09115 y el 02115).

Tabla 1. Comparación de reacciones antileptospirales por UMELISA y TMA en lotes de Intaglobín.

Muestras de IgG Lotes 01 al 07			TMA con 10 serogrupos de leptospiras		% de Coincidencia
	P	N	P	N	
160	160	0	160	0	100

P = Positivo.
N = Negativo.

TMA = Técnica de microaglutinación.
UMELISA = Ultramicro ELISA.

Los hallazgos de reacciones serológicas importantes por la TMA se encontraron en cinco de los siete lotes positivos (01024, 01014, 01105, 02115, 03024)

Tabla 2. Reacciones serológicas detectadas por TMA en los lotes de Intaglobín positivos estudiados.

Serogrupos	Lotes	Títulos
L. Icterohaemorrhagiae	01014	1:200
L. Canicola	01105	1:400
L. Pomona	02115	1:800
L. Australis	01014	1:200
L. Ballum	93924	1:100
L. Hebdomadis	01023	1:400

Hubo algunas reacciones similares entre el serogrupo *Australis* y el *Icterohaemorrhagiae*. Estas reacciones como las demás pueden encontrarse en cualquier lote ya que puede haber inmunoglobulinas para ambos o más serogrupos en el pull que contiene el lote.

DISCUSIÓN

En varias enfermedades el uso de concentrados de inmunoglobulinas (Intaglobin) ha resultado satisfactorio tanto por su actividad opsonofagocítica o directamente mediando en procesos alérgicos, autoinmunes o de otra naturaleza.^{2, 6-9}

Respecto a la leptospirosis no existe precedente en cuanto a tratamiento con el Intaglobin, de suerte que el presente trabajo aborda por vez primera este tema en el país, a partir del estudio realizado y los hallazgos hechos acerca de la presencia de títulos de anticuerpos antileptospirales en varios lotes estudiados.

Aunque la coincidencia en la positividad por ambos métodos usados es del ciento por ciento, no equivale a decir que los niveles de anticuerpos o los títulos de las

reacciones de todos los lotes, permitan un uso terapéutico o que todos los lotes puedan usarse en este sentido, pues hubo lotes con altos niveles de anticuerpos para unos serogrupos y no para otros.

La literatura plantea¹⁰⁻¹³ y en la práctica es así, la presencia de reacciones cruzadas entre varios serogrupos de leptospiras, por lo cual se requiere un proceso de enfrentamiento entre estos serogrupos de leptospiras en diluciones más elevadas para definir cual, ciertamente, es el serogrupo preponderante.

En este sentido lo que se hace es definir el título más elevado según el serogrupo y recomendar su uso específico para ese serogrupo. Un título importante y recomendable para el tratamiento es el de 1:200. El hecho es que un paciente puede presentar una infección por un serogrupo determinado y si el producto contiene títulos iguales para ese y otro serogrupo no hay interferencia terapéutica que impida su empleo para uno de ellos. Hamsters y gerbils vacunados contra la leptospirosis y retados con una carga infecciosa suficiente y cuyos títulos serológicos oscilaron desde 1:100 hasta 1:1600 se defendieron adecuadamente.

Los resultados registrados indican que se abre una nueva posibilidad terapéutica para la leptospirosis, por ello se recomienda que una terapia con este producto con un título de 1:200 como punto de partida es aplicable para tratar casos específicos de leptospirosis en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castillo Bellén J R, Castellano Becerril M E, Cádiz Lahens A. Capacidad opsonofagocítica de la inmunoglobulina endovenosa cubana (Intacglobín). MEDISAN [Internet]. 1999; [citado día mes año]; 3(2): [aprox. 6 p.]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol3_2_99/san04299.htm
2. Arce Hernández A A, .Marlín Linares J C, Villaescusa Blanco R, Padilla López M, González de Armas Y, Guerrero Hernández A M. Purificación de IgG1, IgG2 e IgG3 mediante cromatografía de afinidad a partir de intacglobín. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2001Ago [citado día mes año]; 17(2): [aprox. 4 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892001000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
3. Zaldívar Rodríguez J M, Sosa Hernández J, García Torres D, Guillén Canavas A de las M, Pérez Alfonso O L. Síndrome de Miller Fisher. A propósito de un caso. Rev Ciencias Médicas de Pinar del Río [Internet]. 2011Jun [citado día mes año]; 15(2): [aprox. 3 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1561-31942011000200024&script=sci_arttext
4. Kamihiro N, Higashigawa M, Yamamoto T, Oshino A, Sakata K, Nashida Y, et al. Acute motor-sensory axonal Guillain Barré syndrome with unilateral facial nerve parálisis after rotavirus gastroenteritis in a 2 years old boy. J Infect Chemother [Internet]. 2012 [citado día mes año]; 18(1): [aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10156-011-0300-8#page-1>
5. Erazo Torricelli R. Guillain Barré syndrome in pediatrics. Medicina (B Aires) [Internet]. 2009 [citadodúa mes año] ;69(1 Pt 1): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19240005>

6. Bello M, Rodríguez L de los A, Nazco M, Montalvo M de la C, Sariego S, Verdasquera D, et al. Evaluación serológica de la inmunización pasiva-activa en la profilaxis de la transmisión perinatal de la hepatitis B. *Vaccimonitor* [Internet]. 2012 [citado día mes año]; 21(2): [aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/vaccimonitor/Vm2012/a13.pdf>
7. Bencomo Hernández A A, Alfonso Valdés M E, Correa Palmero I, Macias Abraham C, Avila Cabrera O M, Hernández Padrón C. Concentración de autoanticuerpos IgG en hematíes y respuesta al tratamiento en la anemia hemolítica autoinmune. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, [Internet]. 2013 Jun [citado día mes año]; 29(2): [aprox. 11 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892013000200008&lng=es
8. Silva Ballester H M, Bencomo Hernández A A, López Fernández R, Benet Rodríguez M, Ballester Santovenia J M. La hemovigilancia de las reacciones adversas a la donación de sangre. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2013 Jun [citado día mes año] 29(2): [aprox. 9 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892013000200006&lng=es
9. Alfonso Valdés M E, Bencomo Hernández A. Tratamiento de las anemias hemolíticas autoinmunes. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2013 Dic [citado día mes año]; 29(4): [aprox. 12 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892013000400003&lng=es
10. Schereier S, Doungchawee G, Triampo D, Wangroongsarb P, Hartskeerl RA, Triampo W. Development of a magnetic bead fluorescence microscopy immunoassay to detect and quantify *Leptospira* in environmental water samples. *Acta Trop* [Internet]. 2012;122(1): [aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X11003688>
11. Pavan ME, Cairó F, Pettinari MJ, Samartino L, Brihuega B. Genotyping of *Leptospira interrogans* strains from Argentina by multiple-locus variable-number tandem repeat Analysis (MLVA). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2011; 2:135-41.
12. Moreno Natali, Agudelo-Flórez Piedad. Aplicación de las pruebas de PCR convencional simple y múltiple para la identificación de aislamientos de *Leptospira* spp. en Colombia. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2010 Dec [cited 2015 July 08] ; 27(4): 548-556. Available from: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342010000400009&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S1726-46342010000400009>
13. Monte LG, Conceição FR, Coutinho ML, Seixas FK, da Silva EF, Vasconcelos FA, et al. Monoclonal antibodies against the leptospiral immunoglobulin-like proteins A and B conserved regions. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2011 Sept [citado día mes año];34(5): [aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/950829/1/12ArtigoLeonardoMonteMedicinaVeterinariaA1.pdf>

Dr. Juan Manuel Lemus Quintana. Especialista de Primer Grado Medicina Interna. Máster en longevidad satisfactoria. Hospital Provincial Clínico Quirúrgico "León Cuervo Rubio". Pinar del Río. Correo electrónico: clara@princesa.pri.sld.cu