

Confirmación microbiológica de un brote de leptospirosis en Honduras tras el paso del huracán Mitch y potencialidad profiláctica de vax-SPIRAL[®]

Mariela Naranjo¹, Miguel Suárez², Carmen Fernández³, Marta González¹, Niurka Batista¹, Irma González¹, Yolanda Valdés¹, Juan F. Infante¹, Gustavo Sierra¹.

¹ Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave. 27 No. 19805. A.P.16017, C.P.11600
La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba.

² Centro Provincial de Higiene y Epidemiología, Ciego de Ávila, Cuba.

³ Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), Ciudad de La Habana, Cuba.
Correo electrónico: marielanmar@finlay.edu.cu

En Honduras, uno de los países de Centroamérica más afectados por el huracán Mitch, debido a las fuertes lluvias e inundaciones, se crearon las condiciones idóneas para el desarrollo de un brote de leptospirosis. Un grupo de especialistas cubanos realizamos un estudio a 68 pacientes con un cuadro clínico epidemiológico sospechoso de leptospirosis entre los pobladores del Departamento de Puerto Cortés, una de las regiones más comprometidas. A todos los pacientes se les tomó una muestra de sangre para hemocultivo y obtención de suero. Se empleó la técnica de aglutinación microscópica (MAT) para la identificación de las cepas de leptospira y para evaluar la protección conferida por vax-SPIRAL[®] (vacuna antileptospirósica cubana) frente al reto con la cepa aislada y se verificó la prevalencia de leptospiras en los riñones e hígado. Se observó un predominio de pacientes del sexo masculino, en un grupo entre 15-49 años. Los municipios de este Departamento con un mayor número de casos fueron San Pedro Sula, La Lima y Chamelecón. Los síntomas más frecuentes fueron: fiebre, cefalea, mialgias, malestar general, entre otros. Más del 80% de los individuos manifestaron la presencia de roedores en sus viviendas y que tuvieron contacto con aguas estancadas y animales domésticos. La cepa aislada del hemocultivo positivo fue del serogrupo Icterohaemorrhagiae, muy virulento en el modelo animal empleado. Se evidenció el 100% de protección de los hámsteres inmunizados con vax-SPIRAL[®] y retados con la cepa de Honduras. Mientras que el análisis macroscópico de los órganos de los animales que sobrevivieron al reto reveló la ausencia de signos característicos de la infección.

Palabras clave: Leptospirosis, serología, diagnóstico, clasificación.

Introducción

La leptospirosis, una de las zoonosis más difundidas en el mundo, considerada una enfermedad reemergente, muestra un comportamiento endémico y epidémico; su agente etiológico es una espiroqueta de la especie *Leptospira interrogans* (1). Esta entidad clínica puede presentarse en casos aislados, brotes o epidemias como consecuencia de la exposición al medio ambiente y la capacidad de detección de los sistemas de vigilancia (2). La leptospirosis tiene como reservorios fundamentales a los roedores y animales domésticos, aunque existen también algunos animales salvajes que funcionan como tal. La infección humana se produce por la exposición del individuo a la orina de los animales infectados, por un contacto directo o a través de las aguas contaminadas. Su verdadero impacto sobre la morbimortalidad en Centroamérica se desconoce, situación que pudiera obedecer a los siguientes factores: sistemas de registro inadecuados, informes tardíos de los casos, limitaciones en la red de comunicaciones, una cobertura precaria de los servicios del laboratorio, así como con una respuesta limitada frente a los brotes (3).

Las epidemias de leptospirosis son frecuentes en determinadas épocas del año, principalmente en los meses de lluvia y son las aguas contaminadas uno de los factores que más contribuyen a la diseminación de las leptospiras (4).

El aislamiento de leptospira por cultivo es una técnica muy sensible, constituye una prueba irrefutable de la etiología de la enfermedad y se considera el método de referencia para evaluar otras pruebas de diagnóstico directo. Sin embargo, existen dificultades para su realización por la contaminación de las muestras con otros microorganismos y por la lenta velocidad de multiplicación de estos microorganismos (5).

En la mayoría de los países centroamericanos se registran pocos casos, excepto en Nicaragua, país donde la leptospirosis se reconoce como un problema de salud pública desde la epidemia del año 1995, momento en que se notifican alrededor de 2 000 casos y más de 50 defunciones (6). Durante 1998, Centroamérica sufrió inundaciones provocadas por las lluvias constantes que trajo consigo el huracán Mitch, circunstancias que condujeron al desarrollo de brotes de leptospirosis. Sin embargo, Honduras fue uno de los países más afectados, fundamentalmente el Departamento de Cortés, región donde un grupo de investigadores trabajamos en el aislamiento y confirmación de un brote de leptospirosis que se presentó en humanos y animales de esa localidad.

Por constituir esta entidad clínica un problema no resuelto en Centroamérica y tomando en cuenta que los cambios climáticos favorecen la ocurrencia de inundaciones con la consiguiente diseminación de esta zoonosis, este trabajo tuvo

como propósito el aislamiento y la confirmación de un brote de leptospirosis en Honduras. Además, consideramos de gran importancia la descripción y difusión de los resultados obtenidos en este trabajo, con el objetivo de conocer mejor las medidas necesarias a tomar en cuenta para enfrentar la batalla contra la leptospirosis.

Materiales y Métodos

El estudio incluyó a 68 pacientes con sintomatología y epidemiología sospechosa de leptospirosis, procedentes de diferentes localidades de la Región Sanitaria III del Departamento Cortés de Honduras, zona azotada previamente por el huracán Mitch y afectada seriamente por las inundaciones. Para su diseño y realización se observaron y aplicaron los principios y normas éticas establecidas para este tipo de estudio.

A cada individuo se le llenó una ficha de investigación para casos sospechosos de leptospirosis, elaborada para este estudio. Posteriormente se le extrajeron 5 mL de sangre por vía venosa periférica de uno de los antebrazos y en cada muestra se utilizaron dos frascos estériles pequeños con tapa de goma y retapa metálica que contenía 5 mL del medio de cultivo selectivo para leptospiras, EMJH (7). Con la misma aguja que se utilizó para la extracción de la sangre se puncionó la tapa de goma de ambos frascos, a los que se les adicionó una y dos gotas de sangre, respectivamente. A continuación los medios inoculados se incubaron a una temperatura de 28-30 °C y el resto de la sangre se empleó para la obtención de los sueros, los que se colectaron por centrifugación a 5 000 rpm durante 10 min. Al final, cada frasco se rotuló y conservó a -20 °C hasta su evaluación.

La lectura de los cultivos se realizó cada cinco días y en cada uno de los frascos sospechosos de existir crecimiento bacteriano se hicieron subcultivos al medio de EMJH enriquecido. Los viales de cultivo se examinaron durante 40 días y no se descartaron hasta transcurrir 45 días de su inoculación. Las cepas se subcultivaron al menos tres veces en el medio EMJH y bajo condiciones de crecimiento estático a 28-30 °C, con el objetivo de alcanzar las condiciones necesarias para la clasificación serológica.

Los cultivos se clasificaron por la técnica de MAT, empleando antisueros policlonales de referencia específicos de los serogrupos: Ballum, Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Tarassovi, Australis, Hebdomadis, Bataviae, Automalis y Sejroe, producidos en el Laboratorio de Referencia Internacional de Leptospirosis del Instituto de Medicina Tropical de Holanda, según la metodología descrita en los Lineamientos para el Control y Prevención, editado por la OMS (8). Para la técnica de MAT se utilizaron antígenos vivos y se incorporaron como controles de aglutinación para cada antisuero las respectivas cepas homólogas de referencia [Mus 127 y Arborea (Ballum), 5621 Pomona), Hond Utrecht IV (Canicola), M20 (Icterohaemorrhagiae), Salinen (Pyrogenes), Perepelicin

(tarassovi), Ballico (Australis), Hebdomadis (Hebdomadis), Van Tiene (Bataviae), Akiyami A (autumnalis) y Hardjoprajitno (Sejroe)].

La virulencia de los aislamientos se estimó cualitativamente en el modelo Hámster Sirio Dorado (*Mesocricetus aureatus*), según la metodología descrita por González y colaboradores (9). Se inocularon por vía intraperitoneal (IP) grupos de cinco animales de 45-50 g de peso, procedentes del Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) y se emplearon las siguientes dosis: 0,8 mL (60×10^7 células), 0,4 mL (30×10^7 células), 0,1 mL ($7,5 \times 10^7$ células) y 0,05 mL ($3,5 \times 10^7$ células) de una suspensión bacteriana ajustada a $7,5 \times 10^7$ células/mL (conteo directo de células en cámara de Petroff-Hausser), provenientes de un cultivo estático de 5-6 días en el medio EMJH. Después de inoculados, los animales se observaron durante 14 días y las cepas se consideraron altamente virulentas cuando se produjo la muerte de todos los hámsteres a los que se les administró una suspensión bacteriana mayor o igual a 0,1 mL. Si la muerte de los animales se presentó con la aplicación de una dosis mayor o igual a 0,4 mL, la cepa se consideró moderadamente virulenta y para niveles de letalidad inferiores, estas se consideraron con baja virulencia o avirulentas. Para los trabajos con los animales del laboratorio se tomaron en cuenta las normas y regulaciones bioéticas vigentes (nacionales e internacionales).

Los 68 monosueros de los individuos con sospecha de leptospirosis se evaluaron por MAT. La metodología y la interpretación de los resultados aparecen descritas en los Lineamientos para el Control y Prevención de la Leptospirosis, editados por el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (9). Se utilizó como dilución inicial del suero 1:10.

Criterios para la interpretación de los casos.

Criterios de positividad. Se consideró como un caso positivo de leptospirosis a los individuos donde se obtuvieron uno de los siguientes criterios:

- Aislamiento de leptospira a partir del hemocultivo.
- Título significativo por MAT ($\geq 1:160$) en una muestra de suero (10).

Se consideró como un caso negativo a las personas donde no hubo aislamiento de leptospira en el hemocultivo y no se obtuvieron títulos significativos en las muestras de suero.

Criterios de reactividad. Se consideró caso reactivo cuando se obtuvo el siguiente criterio:

- Títulos no significativos por MAT ($\leq 1:160$) en una muestra de suero (10).

Se consideró como caso no reactivo de leptospirosis cuando no se obtuvo reactividad serológica en la prueba utilizada al emplear una muestra de suero.

Para cada suero evaluado por MAT con título $\geq 1:160$, el serogrupo que mostró el título más alto se consideró como el

infectante presuntivo y cuando hubo más de uno con el mismo título alto, éste quedó como indeterminado (11).

En la evaluación de la protección de los hámsteres inmunizados con vax-SPIRAL® contra el reto de la cepa de Honduras se utilizaron 40 animales de 45-50 g de peso, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Los animales se inmunizaron por vía intramuscular, con dos dosis de 0,5 mL de vax-SPIRAL® (lote 8011), con un intervalo de seis semanas entre ambas, según el esquema propuesto por Naranjo y colaboradores (12). Después de transcurrir 14 días de completar el esquema, los animales se retaron por vía IP con 10 000 DL₅₀ de cada una de las cepas candidatas vacunales (*L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* y la cepa de Honduras), utilizándose 10 animales por cepa y 0,05 mL como volumen total del inóculo. Se emplearon como control 40 animales no inmunizados.

Los animales inoculados se observaron durante 14 días y aquellos que sobrevivieron en cada grupo se les aplicó la eutanasia y se les realizó un examen anatomopatológico macroscópico, así como el cultivo del hígado y los riñones en el medio EMJH, con el objetivo de determinar la prevalencia del microorganismo en los principales órganos diana de la infección por leptospira (13). Los cultivos de los órganos se observaron de forma periódica en un microscopio de campo oscuro y se consideró como un resultado negativo la ausencia de crecimiento después de 60 días de incubación a 30 °C bajo las condiciones estáticas del cultivo.

Resultados

La distribución demográfica de los 68 individuos investigados se muestra en la Tabla 1. Entre los sospechosos de leptospirosis, 40 (58,8%) eran hombres y 28 (41,2%) mujeres. Hubo una mayor participación del sexo masculino y de los individuos con edades comprendidas entre 15-49 años, que está dentro del grupo que habitualmente emplea el Ministerio de Salud Pública de Cuba (MINSAP).

Tabla 1. Distribución demográfica de la población investigada.

| Rango de edades(años) | Sexo | | Total N (%) |
|-----------------------|----------------|-----------------|-------------|
| | Femenino N (%) | Masculino N (%) | |
| 5-14 | 2 (7,1) | 6 (15) | 8 (11,8) |
| 15-49 | 20 (71,4) | 31 (77,5) | 51(75) |
| 50-64 | 5 (17,9) | 3 (7,5) | 8 (11,8) |
| ≥ 65 | 1(3,6) | 0 | 1 (1,4) |
| Total | 28 (100) | 40 (100) | 68 (100) |

Los tres municipios con un mayor número de casos fueron: San Pedro Sula, La Lima y Chamelecón, del Departamento de Cortés (Región Sanitaria III) (Tabla 2).

Los síntomas más frecuentes fueron: fiebre, cefalea, mialgias, malestar general, dolor de pantorrillas, artralgias y dolor abdominal (Tabla 3).

Tabla 2. Distribución de los individuos sospechosos de leptospirosis, según su municipio de residencia

| Municipio | N (%) |
|----------------|-----------|
| San Pedro Sula | 23 (33,8) |
| La Lima | 14 (20,6) |
| Chamelecón | 11 (16,2) |
| Choloma | 4 (5,9) |
| Yoro | 3 (4,4) |
| Villanueva | 2 (2,9) |
| Potrerrillo | 2 (2,9) |
| Pineda | 2 (2,9) |
| Santa Bárbara | 2 (2,9) |
| Baracoa | 2 (2,9) |
| El progreso | 1 (1,5) |
| Cabañas | 1 (1,5) |
| Fátima | 1 (1,5) |
| Total | 68(100) |

Tabla 3. Síntomas y signos clínicos presentes en los individuos sospechosos de leptospirosis

| Signos y síntomas | N (%) |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Fiebre | 60 (88,2) |
| Cefalea | 55 (80,8) |
| Malestar general | 51 (75) |
| Mialgias | 55 (80,8) |
| Dolor de pantorrillas | 49 (72,0) |
| Irritación conjuntival | 24 (35,3) |
| Irritación meníngea | 0 (0) |
| Diarrea | 19 (28,0) |
| Manifestaciones de insuficiencia renal (enuresis, oliguria, proteinuria) | 9 (13,2) |
| Ictericia | 25 (36,8) |
| Manifestaciones hemorrágicas (incluyendo intestinales y pulmonares) | 10 (14,7) |
| Arritmia/insuficiencia cardiaca | 1 (1,47) |
| Erupción cutánea (rash) | 15 (22,0) |
| Náuseas, vómitos | 38 (55,8) |
| Dolor abdominal | 42 (61,8) |
| Artralgias | 46 (67,6) |

En 55 personas (80,8%) se obtuvo el antecedente de la existencia de roedores en sus viviendas o en zonas cercanas a las mismas, 59 (86,7%) manifestaron contacto con aguas estancadas y 38 (55,8%) refirieron una relación reciente con animales domésticos. La distribución de los individuos investigados, según su ocupación fue la siguiente: 20 agricultores (29,4%); 19 amas de casa (27,9%); 8 escolares (11,7%) y 21 (30,8%) tenían otras actividades.

Dos hemocultivos fueron positivos (2,94%) y en uno, la clasificación serológica por MAT correspondió a una cepa del serogrupo *Icterohaemorrhagiae* con un título de 1:10240.

En el segundo hemocultivo no fue posible realizar la clasificación por contaminación del mismo (Tabla 4).

Tabla 4. Clasificación por MAT de la cepa aislada y evaluación de su virulencia

| No. de orden | Clasificación | | Virulencia |
|--------------|---------------------|----------------|------------|
| | Serogrupo | Título por MAT | |
| 19 | Icterohaemorrhagiae | 1: 10240 | AV |

MAT: Ensayo de aglutinación microscópica AV: Altamente virulenta

La evaluación cualitativa en los hámsteres mostró una alta virulencia. No hubo un incremento gradual de la mortalidad en función de la dosis aplicada (Figura 1).

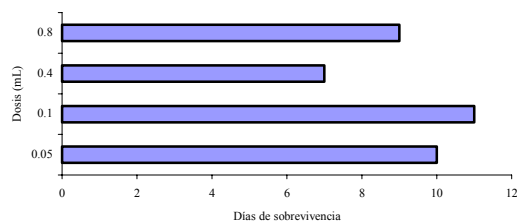


Figura 1. Virulencia de la cepa *L. icterohaemorrhagiae* en el modelo animal Hámster Sirio.

En 44 monosueros (64,70%) no se observó reactividad por MAT, mientras que 24 (35,29%) fueron reactivos y entre ellos, 9 tuvieron títulos mayores que 1:160, al menos a uno de los antígenos empleados y 15 mostraron títulos inferiores a 1:160.

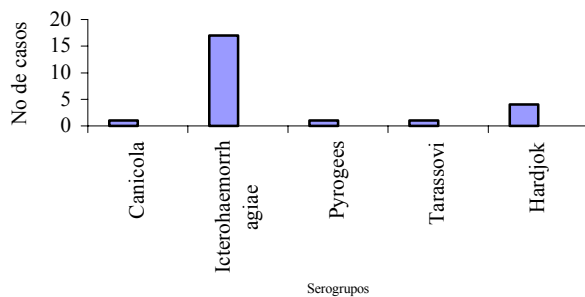


Figura 2. Serogrupos de leptosiras diagnosticados en las muestras de sueros provenientes de Honduras.

En los 24 casos reactivos por MAT se determinó el serogrupo presuntivo infectante y se encontraron los casos siguientes: 17 (44,4%) para *L. icterohaemorrhagiae*, 4 (22,2%) para *L. hardjo* y 1 (11,1%) para, *L. canicola*, *L. pyrogenes* y *L. tarassovi*, respectivamente (Figura 2)

Los resultados de la protección de los hámsteres

inmunizados con vax-SPIRAL® contra el reto de la cepa aislada se muestran en la Tabla 5. Se evidenció un 100% de protección entre los animales inmunizados y retados con las cepas vacunales, así como con la cepa proveniente de Honduras y un 100% de mortalidad en los controles (animales no inmunizados).

Tabla 5-. Resultado del reto de hámsteres vacunados con vax-SPIRAL® frente a 10 000 DL₅₀ de las cepas virulentas vacunales y la de Honduras.

| Grupos n = 20 | Serogrupos de reto | Vacunados n = 10 | No vacunados n = 10 |
|---------------|--------------------|------------------|---------------------|
| | | % S | % S |
| I | Canicola | 100 | 0 |
| II | Copenhageni | 100 | 0 |
| III | Mozdok | 100 | 0 |
| IV | Honduras | 100 | 0 |

% de sobrevivencia

El análisis macroscópico de los órganos de los animales inmunizados y que sobrevivieron al reto reveló en todos los casos, la ausencia de signos característicos de la infección (endurecimiento, hemorragias o ictericia). El cultivo de varias secciones de órganos en el medio EMJH mostró la ausencia de crecimiento microbiano, transcurridos 60 días de incubación.

Discusión

La situación climatológica, provocada por el huracán Micht, unida a otros factores, favoreció la emergencia de numerosas enfermedades y entre ellas la leptospirosis, entidad clínica que no se notificaba frecuentemente en Honduras, vinculado con deficientes sistemas de vigilancia epidemiológica, con dificultades para detectar, investigar y confirmar los casos de leptospirosis, así como por la existencia de escasos conocimientos sobre los aspectos clínicos epidemiológicos de esta enfermedad. Además de los factores ya señalados, se añade una red de laboratorios no preparada para confirmar el diagnóstico de los casos sospechosos de leptospirosis.

La leptospirosis como entidad clínica es difícil de diagnosticar, su agente etiológico puede afectar diferentes órganos, comportamiento que conlleva a una gran variedad de manifestaciones clínicas y motiva diagnósticos clínicos erróneos, tales como: influenza, meningitis aséptica, encefalitis, gastroenteritis, hepatitis y dengue. El diagnóstico de la leptospirosis es esencial e importante para aplicar una terapéutica específica inmediata, medidas que contribuyen a una mejor evolución clínica de los casos (11).

Los resultados sobre la caracterización demográfica de la población sospechosa de leptospirosis de este estudio coinciden con los descritos por otros autores de Cuba que señalan una mayor prevalencia de leptospirosis en el sexo masculino (80%), así como un mayor número de casos en la población comprendida entre 15-44 años (65,9%) (14). Los síntomas anictéricos más frecuentes de los individuos de este

brote, igualmente coincidieron con los observados por Cruz y colaboradores (14), quienes refieren la presencia de fiebre (99,5%), cefaleas (92,2%), mialgias (91,4%) y artralgias (86,4%). Además, al igual que en este estudio, la principal fuente de infección se relacionó con obreros agrícolas de terrenos húmedos y con alta infestación de ratones (39,7%). Los municipios con un mayor número de enfermos pertenecen a las zonas más afectadas por el huracán y con mayor pobreza, donde la elevada presencia de roedores y animales domésticos propician la diseminación de la leptospirosis y la infección en el hombre.

La confirmación de la leptospirosis por pruebas de laboratorio constituye un reto. La detección de anticuerpos aglutinantes por diferentes métodos serológicos y el aislamiento de las cepas se afecta por la indicación temprana y agresiva del tratamiento, aunque la respuesta individual de cada individuo influye en la detección de las inmunoglobulinas (8). El comportamiento de la respuesta inmune de la leptospirosis varía. Cuando una persona se pone en contacto por primera vez con cepas de leptospirosis, desarrolla una gran diversidad de síntomas y signos que pueden estar vinculados con la virulencia del microorganismo y su carga antigénica (15). El ensayo definitivo para el diagnóstico serológico es el MAT, método desarrollado en Estados Unidos por el Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades (CDC). Esta técnica consume tiempo, es laboriosa, requiere de técnicos expertos y del mantenimiento de múltiples serovares vivos (5). La infección del hombre puede producirse por más de un serogrupo circulante y debido a las características del MAT debe emplearse una batería de antígenos con importancia epidemiológica en la región.

Por otro lado, el aislamiento de las cepas a partir del hemocultivo (“prueba de oro”), es de suma importancia para el diagnóstico de leptospirosis y aunque no ofrece un diagnóstico temprano de la infección, permite su confirmación retrospectiva y define con exactitud al serovar responsable (16). Se señala que la sensibilidad del hemocultivo es baja, requiere de un medio especial y más de seis semanas de incubación (16). En este trabajo se combinaron las dos técnicas con el propósito de brindar un diagnóstico e información más certera y de futura utilidad.

Los serogrupos observados en los casos clínicos estudiados en este trabajo coincidieron con los resultados de la mayoría de los identificados por MAT en Centroamérica, fundamentalmente, con las cepas del brote de Nicaragua del año 1995 (17). Los resultados obtenidos en Honduras, utilizando la combinación de técnicas serológicas y bacteriológicas, unido al diagnóstico clínico epidemiológico, permitieron la confirmación o la definición de los casos probables entre las personas sospechosas evaluadas.

Las vacunas antileptospirósicas de células enteras son eficaces en la protección contra la infección letal de los animales inmunizados, aunque su protección tiene una duración limitada, está restringida a los serovares que

integran la vacuna y a las cepas relacionadas desde el punto de vista antigénico (18). Sin embargo, al evaluar la eficacia de una vacuna contra estos microorganismos se debe distinguir entre la protección contra la infección letal y aquella contra el establecimiento del estado de portador (infección de órganos y leptospiruria). La ausencia de leptospirosis en los animales inmunizados no excluye la posibilidad de que estos sean portadores asintomáticos y puedan diseminar leptospirosis por la orina (19). Aunque, el estado de portador en el hombre es de corta duración tras la infección natural y usualmente no constituye una fuente importante de diseminación de leptospirosis, en los animales (ganado vacuno o porcino) el portador crónico asintomático puede persistir, constituyendo una fuente importante de infección (19). Es por eso que el establecimiento de una eficaz protección contra la infección letal y el estado de portador debe caracterizar a una buena vacuna profiláctica contra la leptospirosis.

En este estudio, el análisis macroscópico de los órganos, obtenidos de los animales inmunizados con vax-SPIRAL[®] y que sobrevivieron al reto, reveló la ausencia de signos característicos de la infección y el cultivo de varias secciones de esos órganos en el medio EMJH, la ausencia de crecimiento microbiano después de 60 días de incubación. La total protección contra el estado de portador conferida por vax-PIRAL[®] se corresponde con la obtenida después de aplicar otras vacunas antileptospirósicas adyuvadas (18) y al parecer desempeña un papel fundamental la respuesta inmune celular potencializada por el hidróxido de aluminio (20).

Estudios hechos en Cuba, después de inmunizar diferentes grupos de riesgo con vax-SPIRAL[®], demuestran una reducción del 60,4% del total de casos, incluso, señalan una protección cruzada contra serovares de leptospirosis no incluidos en la vacuna (21). Por lo expuesto anteriormente, se decidió demostrar en el modelo Hámster Sirio Dorado, la protección de vax-SPIRAL[®] frente a la cepa más abundante del brote de Honduras, prueba que fue satisfactoria. Uniendo ambas experiencias se puede asegurar que vax-SPIRAL[®] es una vacuna segura y poco reactogénica de amplio uso en Cuba y puede considerarse como una medida profiláctica de gran utilidad potencial en situaciones de inundaciones similares a las ocurridas en Honduras. Además, puede emplearse como vacuna profiláctica para las poblaciones de zonas de riesgo. Sin disponer aún de una vacuna antileptospirósica fabricada “a la medida” con las cepas de Centroamérica, la misma puede ofrecer una protección directa contra los serovares incluidos en su formulación, así como es capaz de inducir protección cruzada, algo demostrado en trabajos previos (22, 23).

Estudios posteriores confirmaron la presencia de un brote epidémico con 172 casos de leptospirosis, 28 de ellos se confirmaron por pruebas de laboratorio y el resto se notificó por un diagnóstico clínico epidemiológico, falleciendo siete personas (24).

Referencias

1. Barthi AR, Jarlath EN, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis. A zoonotic disease a global importance. *Lancet Infect Dis* 2003;3(12):757-71.
2. Levett P. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001;14(2):296-326.
3. OPS. Principales enfermedades infecciosas en Centroamérica durante 1998, antes y después del Mitch. *Rev Panam Salud Publica* 1999;6(6):1-30.
4. Sejvar J, Bancroft E, Winthrop K, Bettinger J, Bajan M, Braga S, et al. Leptospirosis in "Eco-Challenge" athletes, Malaysian Borneo, 2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9(6):702-7.
5. Terpstra WJ, Hartskeerl, RA, Smits, HL, and Korver, H. International Course in Laboratory Techniques for the Diagnosis of Leptospirosis. Royal Tropical Institute, Amsterdam, 2000.
6. Ellinghausen H, McCullough W. Nutrition of *Leptospira pomona* and growth of 13 other serotype: a serum-free medium employing oleic albumin complex. *Am J Vet Res* 1965;28: 39-44.
7. WHO-ILS. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. Malta: WHO; 2003.
8. Hartskeerl RA, Smits HL, Korver H, Goris MGA, Terpstra WJ, Fernández C, et al. International course on laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis. La Habana: Palcograf; 2006.
9. Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Prevención y Control de la leptospirosis humana. Cuba: MINSAP; 1998.
10. Effler PV, Dimen HY, Bragg SL, Aye T, Sasaki DM. Evaluation of the Indirect Hemagglutination Assay for Diagnosis of Acute Leptospirosis in Hawaii. *J Clin Microbiol* 2000;38(3):1081-4.
11. Naranjo M, Rodríguez Y, Oliva R, Jáuregui U, González M. Esquema de inmunización en hámsters frente al preparado vacunal antileptospirósico cubano. *Acta Fram Bonaerense* 1999;18:121-6.
12. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. Leptospira and leptospirosis. 2nd ed Melbourne: Edit MediSci; 1999.
13. Suárez M, Morera J, Díaz C y Sánchez JM. Brotes de leptospirosis animal y humana en la provincia de Ciego de Avila. *Rev Cub Med Trop* 2005;57(1):79-80.
14. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J, Fernández N, Enrique G. Importancia de la confirmación microbiológica en un brote de leptospirosis humana en la ciudad de Villa Clara. *Rev Cub Med Trop* 2003;55(2):96-9.
15. Bernasovskaia EP, Kondratenko VN, Melnitskaia EV. The connection of the antigenic activity of *Leptospira* to its virulence. *Mikrobiol. Z.* 1994; 56(6): 46-50.
16. Palmer MF, Zochowski WJ. Survival of leptospirosis in commercial blood culture systems revisited. *J Clin Pathol* 2000;53:713-14
17. Trevejo RT, Rigau-Perez JG, Ashford DA, et al. Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage-Nicaragua 1995. *J Infect Dis* 1998;178:1457-63.
18. Bolin C, Alt D. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *Am J Vet Res* 2001;62:995-1000
19. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis. 2nd ed Melbourne: Edit MediSci; 1999.
20. Brown R, Blumerman S, Gay C, Bolin C, Duby R, Baldwin C. Comparison of three different leptospiral vaccines for induction of a type 1 immune response to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *Vaccine* 2003;21:4448-58.
21. Martínez R, Pérez a, Quiñones M, Cruz R, Álvarez A, Armesto M, et al. Eficacia y seguridad de una vacuna contra la leptospirosis humana en Cuba. *Rev Panam Salud Pública* 2004;15:249-55.
22. González A, Rodríguez Y, Batista N, Valdés Y, Núñez JF, Mirabal M, González M. Inmunogenicidad y capacidad protectora en hámsters de vacunas antileptospirósicas monovalentes de células enteras del serogrupo Ballum. *Rev Argentina Microbiol* 2005;37:169-175.
23. González M, Batista N, Machado M, Sournin O, Saltarén A, Sanamne A, et al. Caracterización de cepas de *Leptospira Ballum* aisladas de casos clínicos. Inmunidad cruzada en hámsters vacunados con vax-SPIRAL[®]. *Biología Aplicada* 2004;21:77-81.
24. Secretaría de Salud de Honduras. Programa de Preparativos para Desastres, OPS/OMS. Serie Crónicas de Desastres. Huracán Mitch en Honduras 1998. Tegucigalpa M.D. C. Febrero de 1999.

Microbiological confirmation of a leptospirosis outbreak in Honduras after Mitch hurricane and prophylactic potentiality of vax-SPIRAL[®]

Abstract

Hurricane Mitch affected Central America with vast flooding caused by rainfall resulting in leptospirosis outbreaks. Honduras was one of the most affected countries, where a group of researchers worked in the isolation and confirmation of this outbreak. 68 patients from different locations of Puerto Cortes Department with suspicious symptoms of Leptospirosis were studied. All of them were taken a blood samples for hemoculture and serum obtaining. Microscopic agglutination technique (MAT) was used to identify leptospira strains and to evaluate the protection conferred by vax-SPIRAL[®] (Cuban leptospiral vaccine) against challenge with the isolated strain and verify the prevalence of leptospira in kidneys and liver. A predominance of male patients was observed in a group between 15-49 years. Municipalities of this department with greater number of cases were San Pedro Sula, La Lima and Chamelecón. The most frequent symptoms were: fever, headache, myalgias, general discomfort among others. More than 80% of individuals manifested presence of rodents in their housing and had contact with accumulated water and domestic animals. The isolated strain of the positive hemoculture was from serogrupo *Icterohaemorrhagiae*, very virulent in the animal model used. 100% protection of hamsters immunized with vax-SPIRAL[®] and challenged with the Honduras strain was evidenced while microscopic analysis of animal organs surviving to challenge revealed absence of signs characteristic of infection.

Keywords: Leptospirosis, serology, diagnosis, classification.

Recibido: Noviembre de 2007 Aprobado: Diciembre de 2007