



ISSN: 1561-3194

Rev. Ciencias Médicas. julio-dic. 1999; 3(2):61-68

ARTÍCULO ORIGINAL

Importancia de la titulación 1:50 en el diagnóstico serológico de la leptospirosis

Importance of titration 1:50 in the serological diagnosis of leptospirosis

Hidelfonso Cabezas Alfonso¹, Idania Barrios Perera², Lázara Mayra Díaz Álvarez³, Caridad Gorgoy Medina⁴.

¹Profesor titular. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

²Licenciada en Biología. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

³Licenciada en Bioquímica. Profesora Auxiliar. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

⁴Licenciada en Biología. Asistente. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

RESUMEN

Por primera vez en Cuba se incluyó la titulación serológica 1:50 para el estudio de pacientes presuntamente enfermos de Leptospirosis y por primera vez también se realiza con este fin una investigación en el país, utilizando la técnica de microaglutinación. En 1996, se investigaron 1200 sueros de pacientes procedentes de hospitales, policlínicos y consultorios de los distintos municipios de la provincia de Pinar del Río, los cuales fueron estudiados a partir de 1:50, con ocho serogrupos de leptospiras de referencia: leptospira Icterohaemorrhagiae, Canícola, Pomona, Australis, Tarassovi, Hebdomadis y Grippotyphosa. Estos antígenos poseían condiciones óptimas. En total 436 reacciones positivas de las cuales 194 fueron 1:50 (44,53 %) con rango de ocurrencia entre 39,2 _ 49,2. Hubo diferencia significativa $p < (0,05)$ entre Canícola y Tarassovi. Se concluyó que tiene gran importancia como nivel de corte primario pues detecta casos que se consideraban negativos cuando el título no llegaba a 1:100, incluso con clínica y epidemiología sugestiva de Leptospirosis. Por lo tanto esta debe ser la dilución de partida con esta técnica para este diagnóstico.

DeSC: LEPTOSPIROSIS/ LABORATORIO

ABSTRACT

For the first time in Cuba a serologic titration was included. The serologic titration 1:50 for the study of the patients supposedly having leptospirosis and for the first time a research is also made in the country. In 1996, 1200 sera of patients from hospitals, polyclinics and physician's offices of the different township of the province of Pinar del Rio were investigated. The patients were studied from 1:50, with eight serogroups of reference leptospira: leptospira Icterohaemorrhagiae, Canícola, Pomona, Australis, Tarassovi, Hebdomadis y Grippotyphosa. These antigens had optimum conditions. As a whole there were 436 positive reactions, 194 of them were 1:50 (44,53 %) with a range of occurrence between 39,2 - 49,2. There was a significant difference between Canicola and Tarassovi ($p < 0,05$). Conclusion was made that titration 1:50 had a great importance as primary cut level because it detects cases which were considered negative when titration did not arrive to 1:100, including clinical and epidemiologic data suggestive of leptospirosis. Therefore this should be the dilution point suggestive of this technique for the diagnosis.

DeSC: LEPTOSPIROSIS/ Laboratory

INTRODUCCIÓN

La Leptospirosis sigue siendo en la provincia de Pinar del Río, como en el resto del país y otros muchos países del mundo, un serio problema de salud.¹⁻⁷ Desde sus inicios el diagnóstico serológico en el hombre y en los animales ha revelado la presencia en la circulación de los diferentes serogrupos patógenos de leptospiras, los cuales han sido también aislados de estas fuentes, agua y suelos⁸ en todo el mundo.

En Cuba se han hecho aislamientos y tipificación de algunas sepas patógenas⁹ con anticuerpos monoclonales.

El diagnóstico tiene una gran trascendencia no solamente para apoyar el diagnóstico clínico o epidemiológico, sino para definir títulos de anticuerpos circulantes; particularmente la microaglutinación nos permite definir los serogrupos presentes incluso a partir de diluciones relativamente bajas.

En cuanto al diagnóstico existen reportes de que deben emplearse titulaciones de 1:50, según laboratorios.¹⁰ En Cuba siempre se había trabajado serológicamente a partir de la dilución de 1:100, de ahí en adelante duplicando los títulos cuando se utiliza la técnica de microaglutinación, dejando un gran vacío al considerarse diluciones más bajas como positivas, incluso habiendo indicios clínicos y epidemiológicos. En el programa nacional se menciona la titulación de 1:50 y es la primera vez que se comienza a trabajar en este sentido.

El objetivo principal de este trabajo es aportar conocimientos prácticos y teóricos sobre la importancia de que se trabaje en los laboratorios que utilizan la técnica de microaglutinación a partir de la dilución 1:50.

METODO

Durante el año 1996, se estudiaron 1200 sueros sanguíneos humanos procedentes de hospitales, policlínicos y consultorios de los 14 municipios de Pinar del Río, con reseñas preventivas de leptospirosis tanto clínicas como epidemiológicas.

Los sueros llegados al laboratorio de leptospirosis de la Facultad de Ciencias Médicas, fueron estudiados con la técnica de microaglutinación (TMA) recomendada por la OMS, como técnica de referencia e incluida en el programa nacional.

Se emplearon ocho serogrupos de leptospiras representados por ocho cepas de referencia leptospira *Icterohaemorrhagiae* (Cepas RGA), *Canicola* (Cepa Hond Utrecht IV), *Pomona* (Cepa Pomona), *Australis* (Cepa Jezbratislova), *Tarassovi* (Cepa Perepelitsín), *Hebdomadis* (Cepa Hebdomadis), *Autumnalis* (Cepa Akiyami A) y *Grippotyphosa* (Cepa Moskva V) de las genomoespecies *interrogans*, *santarosai*, *borpetersenii* y *meyers*.

Los antígenos poseían las características de concentración (100 150 células por campo microscópica) morfología y mortilidad propia. Los cultivos tenían entre 7 y 10 días de longevidad. Fueron estandarizados mediante suero fisiológico en cada caso. El medio de cultivo utilizado fue el Korthf.

Los sueros problemas fueron diluidos desde 1:50 hasta 1:12800. Las reacciones positivas fueron consideradas según metodología de la OMS, como máxima aglutinación 100 % (+ + + +), 75 % de aglutinación (+ + +), y aglutinación mínima positiva 50 % (+ +). En el caso de las diluciones 1:50, cuando

reaccionaban cruzadamente se hacían diluciones 1:50, 1:80, 1:90, 1:100, considerando la pertenecía al serogrupo en cuestión a medida que disminuía la aglutinación de los demás serogrupos con los cuales había reaccionado el suero.

Los estadígrafos empleados fueron el error típico del porcentaje según muestra positiva y serogrupos. Se calculo el rango de ocurrencia mínimo y máximo en cada caso, considerando dos errores típicos y se utilizo el test de comparación de proporciones entre serogrupos con una confiabilidad de Alfa=0,05.

RESULTADOS

En la tabla 1 se reflejan los principales resultados obtenidos destacándose que de 436 reacciones positivas 194 fueron a dilución de 1:50 (44,53 %), con un rango de ocurrencia de 39,2 - 49,2 veces por cada 100 casos positivos. Las cifras relativas expresan una mayor ocurrencia de este titulo con el serogrupo Australis (59,9 %) seguido del serogrupo Pomona (49,2 %), Tarassovi (46,0 %), Icterohaemorrhagiae (41,3 %) y la Canícola (31,3 %). Los rangos de ocurrencia considerando dos errores típicos varían en el mismo orden $13,2 \pm$, $14,8 \pm$, $11,30 \pm$, $8,52 \pm$ y $8,9 \pm$.

Solamente hubo diferencia significativa entre serogrupo Canícola y Australis ($p < 0,05$) al comparar entre sí, en todos los demás no lo fue ($p < 0,05$).

Tabla 1. Frecuencia absoluta de reacciones serológicas a los distintos serogrupos de leptospiras. 1996. Pinar del Río.

Serogrupos									
Títulos	Ict	Can	Pom	Aust.	Taras	Autum	Hebd	Grip	Total
1:50	55	21	62	28	23	1	3	1	194
1:100	27	18	29	9	4	-	-	-	87
1:200	20	8	12	6	10	-	-	-	56
1:400	16	8	8	5	3	-	-	-	40
1:800	9	5	6	4	2	-	-	-	26
1:1600	4	4	2	1	0	-	-	-	11
1:3200	1	1	2	2	3	-	-	-	9
1:6400	0	2	5	0	4	-	-	-	11
1:12800	1	0	0	0	1	-	-	-	2
Totales	133	67	126	55	50	1	3	1	436

Fuente: Laboratorio de Leptospirosis Facultad de Ciencias Medicas Pinar del Río.

Leyenda:

- Ict. Icterohaemorrhagiae
- Can. Canícola

- Pom Pomona
- Aust Australis
- Taras Tarassovi
- Autum Autumnalis
- Heb Hebdomadis
- Grip Grippytyphosa

Observemos los resultados de la tabla 2.

Tabla 2. Frecuencia relativa y rango de ocurrencia de las reacciones de los serogrupos más importantes de leptospiras (dilución 1:50).

Ocurrencia					
Serogrupos de Leptospiras					
	Icterohaemorrhagiae	Canícola	Pomona	Australis	Tarassovi
	X/N	X/N	X/N	X/N	X/N
	55/133	21/67	62/126	28/55	23/50
Porcentajes	41.35	31.34	49.21	59.90	46.00
Rango de ocurrencia	8.52 ±	11.30 ±	8.90 ±	13.20 ±	14.08 ±

Fuente: Laboratorio de Leptospirosis Facultad de Ciencias Medicas Pinar del Río.

Nota: Hubo significación estadística entre Canícola y Australis ($p < 0,05$) al comparar los porcentajes de ocurrencia.

DISCUSIÓN

Al analizar estos resultados es obvio la importancia que tiene la dilución 1:50 como punto de partida para el diagnóstico de la enfermedad desde el punto de vista serológico, ya que anuncia y coincide en gran medida con síntomas clínicos y datos epidemiológicos relacionados con esta en la muestra estudiada.

Es realmente trascendente que cuando se parte de esta dilución quedan dentro de las probabilidades de destacar como positivas muchos mas casos que al partir de una dilución 1:100. Cuando un caso sea negativo al titulo 1:50, dentro de los limites establecidos de detección de (IaM o IaG) para este método que es de 5 a 6 días después del debut de la enfermedad (puede ser menor a 4 días) y luego de hacer pareos de sueros en un intervalo de 5 -7 días de la primera muestra, no cabe dudas que el caso es negativo. Esta dilución cubre un espacio que va desde 0 hasta 100 diluciones del suero y puede descubrir el caso que dados ciertos factores esté en dicho rango.

Los factores a considerar son: En primer lugar que el enfermo no sea capaz de levantar o elevar sus títulos de anticuerpos protectores hasta un nivel de 100 diluciones; en segundo lugar, que la bacteria no tenga la suficiente virulencia como para provocar una tal respuesta inmune y otro tercer factor es que sus anticuerpos protectores sean precipitinas y no aglutininas en los niveles de 1:100 y se plan teen los casos como negativos serológicamente a pesar de todo el cortejo sistemático dado.

Por todo esto se concluye que es recomendable tomar como corte de diagnostico inferior esta dilución de 1:50, aumentando así el poder de sensibilidad de la técnica, (aunque haya que precisar en diluciones posteriores) su especificidad de serogrupos por algunas reacciones cruzadas que se presentan con otros serogrupos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cacciapuoti B, Ciceroni L, Pinto A, Apolleni M, Rondinella V, Bonanoci V, et al. Survey on the prevalence of leptospira infections in the Italian population. *European of Epidemiology* 1994; 10: 173-180.
2. Perolot MF. Aspects taxonomiques et diagnostiques de leptospira de la serotypie a l'Apprche moleculaire. *Annals de L' Institut Pasteur* 1993 ; 4 : 390-316.
3. Yan W, Pang J, Li C. An investigation on the distribution of leptospire interrogans in water and soil in southwest of Yunnan Province China. *Lin Hsing Ping Hsueh Tsa Ching* 1994; 2: 289-291.
4. Biegel E, Montensen H. Leptospirose. *Ugeskr Laeger* 1995; 2: 153-157.
5. Perolot MM, Morlat C. Double infection a *Listeria monocytogenes* et leptospira. *La presse medicale* 1993 ; 22 : 176-177.
6. Riedemans ZJ, Montesinos N, Cabezas X. Serological survey of human leptospirosis in high risk population in Chile. *Rev Med Chil* 1990; 3: 244-252.
7. Redondo M, Cabezas H, Hernández A, Gainza N, Boudet M, Reporte de anticuerpos leptospirales en Momo Macaca Artoides. *Torrocia* 1995; 40: 20-23.
8. Kauffnan AF, Sulzer KR, Steigerwalt AG, Brenner DJ. Deoxyribonucleic acid (DNA) relatedness between serovars in the family Leptospiraceae: epidemiologic and laboratory research implications emerging. *Bacterial and Mycotic Disease Branch, National Center for Diseases Control and Prevention Atlanta; Georgia*: 1994 pp. 2-24.
9. Cabezas H, Ananyina J, Primer reporte en Cuba de *Leptospira interrogans* serovar copenhageni. *Revista electrónica de Ciencias Medicas de Pinar del Rio* 1997; 1: 40-44.

10. Cermesoni M, Casciana G, Di Matteo L, Pizzocaro P. Leptospira infection risk in valcuvina: Istituto Zooprofilattico Sperimentale Delle Regioni Lazio e toscana; 1994 pp. 68-70.

Recibido: 14 de Julio de 1998
Aprobado: 17 de Julio de 1998

Dr. Hidelfonso Cabezas Alfonso. Profesor titular. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.