

# Frecuencia de anticuerpos para 14 serovariedades de *Leptospira spp* detectados por la prueba de microaglutinación en una serie de casos humanos de Antioquia, Colombia

Frequency of antibodies against 14 serovars of *Leptospira spp* detected by microagglutination in human cases from Antioquia, Colombia

PIEDAD AGUDELO-FLÓREZ<sup>1</sup>, MARCOS RESTREPO-ISAZA<sup>2</sup>

Forma de citar: Agudelo - Flórez P, Restrepo- Isaza M. Frecuencia de anticuerpos para 14 serovariedades de *Leptospira spp* detectados por la prueba de microaglutinación en una serie de casos humanos de Antioquia, Colombia. Rev CES Med 2007;21(2): 7-13

## RESUMEN ■

**L**a leptospirosis es una zoonosis de gran incidencia en regiones tropicales debido a factores ambientales, climáticos y sociales que favorecen su transmisión. La microaglutinación (MAT) es la prueba diagnóstica de referencia para la Organización Mundial de la Salud, la prueba se emplea además para estudios epidemiológicos por ser una prueba serovar específica, es decir, que puede precisar las serovariedades que están circulando en poblaciones humanas y animales, dato indispensable cuando se plantea establecer las bases para proponer medidas de control de la enfermedad. Se propuso determinar la frecuencia de anticuerpos para 14 serovariedades de *Leptospira*

---

<sup>1</sup> PhD en Ciencias Básicas Biomédicas. Docente Investigador, Instituto Colombiano de Medicina Tropical - Universidad CES (ICMT-CES) Grupo de Investigación Medicina Tropical. E- mail: pagudelo@ces.edu.co

<sup>2</sup> Especialista en Medicina y Laboratorio. Coordinador Grupo de Investigación Medicina Tropical. Asesor Científico, Instituto Colombiano de Medicina Tropical - Universidad CES (ICMT-CES).

**Recibido: 2 junio / 2007. Revisado: 8 agosto / 2007. Aceptado: 30 agosto / 2007**

spp en 49 individuos que consultaron al Instituto Colombiano de Medicina Tropical – CES, durante el periodo de 2000-2006, para confirmar el diagnóstico de leptospirosis. Los 49 individuos tuvieron una edad promedio de 34,2 años, el 53,8 % fueron hombres. El 70 % eran residentes en la ciudad de Medellín y otros municipios antioqueños, de los cuales el 30 % procedían del municipio de Apartadó en la región noroccidental del departamento. La prueba de MAT reveló que 67,34 % de los sueros aglutinaron con el serovar Grippotyphosa; 63,2 % para el serovar Copenhageni; 40,81 % pertenecían al serovar Icterohaemorrhagiae; 6,12 % para el serovar Tarassovi y 2,04 % presentaron aglutinaciones contra *L. biflexa*. Este estudio permitió establecer la presencia de *Leptospira* y las serovariedades que están infectando a la población humana residente en el departamento de Antioquia y demuestra que hay múltiples serovariedades circulantes en esta población.

## **PALABRAS CLAVE**

Leptospirosis

Test aglutinación

Antioquia

Zoonosis

## **SUMMARY**

*Leptospirosis is a zoonotic disease of great incidence in tropical regions due to environmental, climatic and social factors that favor its transmission. The microagglutination test (MAT) is the reference diagnostic for the World Organization of the Health, test is also used for epidemic studies to be a test serovar specific, it can specify the serovars that are circulating in human and animal populations, indispensable fact when is necessary to establish the bases to propose measures of control of the illness. To determine the frequency of antibodies for 14 serovars of *Leptospira* spp in 49 individuals that consulted to the Colombian Institute of Tropical Medicine-CES, during the period of 2000-2006, to confirm the leptospirosis diagnosis. The 49 individuals had an age*

*34.2 year-old average, 53,8 % was men. 70 % was residents in the Medellín city and other Antioquia municipalities, of which 30 % came from Apartadó in the region North West of Antioquia state. The MAT revealed that 67,34 % of the serums agglutinated with the serovar Grippotyphosa; 63,2 % for the serovar Copenhageni; 40,81 % belonged to the serovar Icterohaemorrhagiae; 6,12 % for the serovar Tarassovi and 2,04 % presented agglutinations against *L. biflexa*. This study allowed the presence of *Leptospira* and the serovars that are infecting the population from Antioquia state and it demonstrates that there are several circulating serovars.*

## **KEY WORDS**

Leptospirosis

Agglutination test

Antioquia

Zoonoses

## **INTRODUCCIÓN**

La leptospirosis, que en su forma más grave es conocida como enfermedad de Weil, es una infección zoonótica re-emergente producida por espiroquetas pertenecientes a las especies patógenas del género *Leptospira*. La enfermedad es de gran incidencia en regiones tropicales debido a factores ambientales, climáticos y sociales que favorecen la transmisión. Es considerada la zoonosis de mayor distribución en el mundo. El hombre se contagia a través del contacto con la orina de animales salvajes o domésticos infectados (1-3).

La infección puede ser asintomática con un periodo de incubación de 1-2 semanas y luego puede presentar desde un síndrome febril leve parecido a la influenza con conjuntivitis sin secreción purulenta, hasta manifestaciones clínicas donde

se observan fiebre recurrente, falla renal aguda, meningitis aséptica, hemorragia pulmonar, arritmias cardíacas y colapso circulatorio. Se han descrito cuatro categorías clínicas: a. Enfermedad leve similar a la influenza; b. Síndrome de Weil cuyas características clínicas básicas son: ictericia, falla renal, hemorragias, miocarditis y arritmias; c. Meningitis o meningoencefalitis; y d. Hemorragia pulmonar y falla respiratoria aguda. La letalidad por leptospirosis es de 5 al 15 % en quienes presentan las formas severas de la enfermedad (1,4,5).

En la práctica médica la leptospirosis es ignorada o mal diagnosticada porque con frecuencia las manifestaciones clínicas de la enfermedad son inespecíficas y el clínico no está en capacidad de determinarla sin un diagnóstico de laboratorio que lo respalde (5). Esto se hace difícil porque pocos laboratorios tienen pruebas diagnósticas disponibles. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la prueba de Microaglutinación (MAT) (6) como la prueba de oro para el diagnóstico, pero los laboratorios requieren de cultivos de cepas patrones de las serovariedades de *Leptospira* spp, para realizar esta prueba serológica. Debido a lo anterior se desconocen algunos aspectos claves de la epidemiología de la enfermedad en Colombia. El MAT, además de ser utilizada para el diagnóstico serológico en humanos y animales, se emplea para estudios epidemiológicos, por ser una prueba específica que permite precisar las serovariedades que están circulando en poblaciones humanas y animales, información indispensable para establecer las bases de un programa de control apropiado en una zona específica (6,7).

El presente estudio tuvo como propósito identificar las serovariedades de *Leptospira* spp en pacientes residentes en el departamento de Antioquia, Colombia, que fueron remitidos para diagnóstico de leptospirosis al ICMT-CES durante el período de 2000-2006. Además de establecer las serovariedades más frecuentes en esta población.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Pacientes**

Se realizó un estudio retrospectivo con el fin de determinar las serovariedades de *Leptospira* spp más frecuentes en los individuos con diagnóstico de leptospirosis en los laboratorios del ICMT-CES, de las sedes de Apartadó y Medellín entre los años 2000 y 2006. Las muestras de suero fueron remitidas al laboratorio con un formulario en el que se registró la identificación del individuo, edad, sexo y procedencia. Durante el período de estudio se diagnosticaron 49 casos de leptospirosis. Se estableció como criterio diagnóstico el presentar positividad de anticuerpos Ig M por la prueba de inmunofluorescencia indirecta (8). Estas 49 muestras de suero fueron utilizadas para la identificación de serovariedades de *Leptospira* spp circulantes y determinar su frecuencia de presentación.

### **Procedimientos serológicos**

Prueba de microaglutinación (MAT). El antígeno para la prueba se obtuvo del cepario disponible en el laboratorio de microbiología del ICMT-CES que está constituido por 14 serovariedades de *Leptospira* spp entre las que se cuentan, *L. interrogans*, *L. kirscheneri*, *L. borgpetersenii* y *L. biflexa*. En el cuadro 1 se incluyen datos de las cepas, serogrupo al que corresponden, serovariedades y fuente de aislamiento de la cepa original (9). Las cepas para realizar el antígeno para la prueba de MAT, se replicaron en medio líquido EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris) (Becton-Dickinson-Biosciences®), suplementado con 10 % de medio de enriquecimiento (Becton-Dickinson-Biosciences®). Los antígenos se obtuvieron de cepas incubadas a temperaturas entre 26 y 30 °C hasta cuando alcanzaron crecimiento igual al estándar 0,5 de MacFarland.

La prueba MAT se realizó según las recomendaciones de la OMS (6). Inicialmente se hizo un tamizaje género específico de todas las mues-

tras a una dilución de 1:50 de *Leptospira biflexa* cepa Patoc 1. A las muestras que resultaron positivas en este tamizaje, se les hicieron diluciones al doble a partir de la dilución original del suero hasta 1:3200 con todas las demás serovariedades que constituyen el cepario descritas en el cuadro 1. La prueba se leyó en el microscopio de campo oscuro con objetivo de 10x. El título de anticuerpos se fijó en la dilución

inmediatamente anterior a aquella en la cual se vio negativa la reacción de aglutinación. La prueba se interpretó como positiva cuando se observó aglutinación del 50 al 75 % de las leptospiras de cualquiera de las serovariedades probadas en una dilución del suero mayor o igual a 1:100. Se consideró coaglutinación cuando la misma muestra presentaba aglutinaciones de más del 50 % de las leptospiras de dos o más serovariedades.

**Cuadro 1. DATOS DE SEROGRUPO, CEPAS Y FUENTE DE AISLAMIENTO ORIGINAL DE 14 SEROVARIEDADES DE *Leptospira* spp USADAS EN EL ESTUDIO**

Especie	Serovar	Serogrupo	Cepa	Fuente original de aislamiento
<i>L. interrogans</i>	Grippotyphosa	9	Valbuzzi	Humano
	Copenhageni	11	M20	Humano
	Pomona	18	Pomona	Humano
	Icterohaemorrhagiae	11	RGA	Humano
	Hardjo	22	Hardjoprajitno	Humano
	Pyrogenes	19	Salinem	Humano
	Australis	1	Ballico	Humano
	Wolffi	22	3705	Humano
<i>L. borgpetersenii</i>	Canicola	5	Hond Utrecht IV	Perro
	Castellonis	3	Castellon 3	Ratón silvestre
	Bratislava	1	Jez Bratislava	Erizo
<i>L. kirscheneri</i>	Tarassovi	24	Perepelitsin	Humano
	Cynopteri	7	3522 C	Vampiro
<i>L. biflexa</i>	Patoc	28	Patoc 1	Agua

### Análisis estadístico

Se tabuló la información en el programa Microsoft® Excel 97 de las 49 muestras de suero positivas para leptospirosis. A las variables cuantitativas se les calculó media y desviación estándar y a las variables cualitativas, medidas de frecuencia absoluta y relativa. Se consignaron datos sobre procedencia, sexo y edad de las personas de quienes se obtuvieron las muestras. Se realizó la distribución de la frecuencia de las 14 serovariedades de *Leptospira* spp probadas por MAT.

### RESULTADOS

El 70 % de las 49 muestras de humanos incluidas en el estudio procedían de Medellín y otros municipios antioqueños y el 30 % de Apartadó. La edad promedio fue de 34,2 años (rango entre 1-77 años). La mitad de ellos tenían entre 20 y 30 años de edad. El 53,8 % eran muestras de hombres.

El procesamiento de los sueros positivos por la prueba de MAT determinó que el 67,34 % de los sueros aglutinaron con *L. interrogans* serovar

Grippotyphosa. Dos serovariedades del serogrupo Icterohaemorrhagie fueron evaluadas: el serovar Copenhageni con frecuencia de 63,2 % y el serovar Icterohaemorrhagiae cepa RGA que estuvo presente en el 40,81 % de las muestras de suero. La más baja positividad se registró con el serovar Tarassovi (2,04 %). Tres muestras (6,12 %) aglutinaron con la cepa Patoc 1 de *L. biflexa*, en títulos mayores de 1:400 y como no mostraron aglutinaciones mayores a 1:100 con ninguna de las otras especies probadas, se definieron como muestra positiva por "serovar patógeno no determinado". En el cuadro 2 se presentan los resultados serológicos obtenidos para cada una de las cepas. El 61,22 % de las muestras presentó coagulación con más de tres serovariedades de *Leptospira* spp.

**Cuadro 2. PORCENTAJES DE POSITIVIDAD EN UNA SERIE DE CASOS HUMANOS DETECTADOS POR LA PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN PARA 14 SEROVARIEDADES DE *Leptospira* spp**

Especie	Serovar	% Positividad
<i>L. interrogans</i>	Grippotyphosa	67,34
	Copenhageni	63,2
	Pomona	42,85
	Icterohaemorrhagiae	40,81
	Hardjo	30,61
	Pyrogenes	20,40
	Australis	10,20
	Wolffi	8,16
	Canicola	6,12
<i>L. borgpetersenii</i>	Castellonis	32,65
	Bratislava	26,53
	Tarassovi	2,04
<i>L. kirscheneri</i>	Cynopteri	6,12
<i>L. biflexa</i>	Patoc	6,12

## DISCUSIÓN

Este estudio permitió determinar las serovariedades de *Leptospira* spp que están infectando a la

población que consulta al ICMT-CES y por lo tanto confirma la circulación de *Leptospira* en los humanos del departamento de Antioquia. Por primera vez se establece un registro de 14 serovariedades de *Leptospira* spp mediante la prueba de MAT y demuestra que múltiples serovariedades circulantes provenientes de diferentes fuentes animales y ambientales, son responsables de la etiología de la leptospirosis humana en esta región de Colombia.

La información sobre la leptospirosis humana en Antioquia es fragmentaria, se conoce poco sobre los factores de riesgo para la enfermedad. Diferentes reportes de casos clínicos han demostrado la presencia de *L. interrogans* serovar Pomona y serovar Canicola (10). En grupos ocupacionales de una región antioqueña de producción lechera se estableció que el 22,4 % de los operarios tenían títulos para *Leptospira*, principalmente de las serovariedades Pomona, Bratislava y Hardjo (11). En la población estudiada por Sebek et al, 1989 (12), procedente de 5 localidades colombianas, incluyendo Medellín, reportan para esta ciudad una seropositividad del 11,9 %. Estos resultados de seropositividad son bastante altos, considerando que las muestras provenían del banco de sangre, cuya población es catalogada como clínicamente sana. El último estudio realizado en la región del Urabá antioqueño por Agudelo-Flórez et al, 2007 (13) encuentra una seroprevalencia en población general para la zona del 12,5 %. Es de anotar que tanto en los reportes de Sebek et al 1989, en el de Agudelo-Flórez et al 2007, como en el presente estudio, las serovariedades de *Leptospira* más frecuentes fueron Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa.

Antioquia, área considerada de inferencia del presente estudio, tiene las condiciones ambientales, que favorecen la diseminación de *Leptospira* de las serovariedades generalmente asociadas con roedores que son Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa. Entre estas condiciones señalamos, el clima, áreas inundables y propensas a desastres en épocas de lluvia, áreas rurales, ur-

banas y suburbanas con poco saneamiento ambiental y con presencia de roedores cerca o en el domicilio.

La presencia de casos clínicos de la enfermedad en humanos y el hallazgo de anticuerpos contra la bacteria, muestran la necesidad de identificar los reservorios naturales, como son las especies de roedores y otros animales que estén en contacto con el hombre. Estas circunstancias orientan a definir el riesgo de la población humana tanto urbana como rural para así modificar los posibles factores que lleven a la infección. Además es importante disponer de diagnóstico apropiado en el laboratorio, para detectar oportunamente la población afectada y desplegar medidas de intervención apropiadas. Los datos obtenidos de la presente serie de casos, enfatizan la importancia de emprender estudios que permitan la oportuna identificación de poblaciones humanas y zonas de riesgo para leptospirosis.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al laboratorio de Leptospirosis y Borreliosis de la Universidad Nova de Lisboa-Portugal, por la donación de las cepas de referencia. Esta investigación fue financiada por "The Academy of Sciences for the Developing World" (TWAS) y el Instituto Colombiano de Medicina Tropical-CES. Los investigadores declaran no tener conflictos de interés.

## **REFERENCIAS**

1. Vinetz JM. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2001; 14: 527-538.
2. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al. Peru-United States Leptospirosis Consortium. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 2003; 3: 757-771.
3. Meites E, Jay MT, Deresinski S, Shieh WJ, Zaki SR, Tompkins L, et al. Reemerging leptospirosis, California. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10: 406-412.
4. Segura ER, Ganoza CA, Campos K, Ricaldi JN, Torres S, Silva H, et al. Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with quantification of leptospiral burden. *Clin Infect Dis.* 2005; 40:343-351.
5. Tappero JW, Ashford DA, Perkins BA. *Leptospira* Species (Leptospirosis). En: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (ed) Principles and practice of infectious diseases, 5th edition. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000. p. 2495-2501.
6. World Health Organization, International Leptospirosis Society. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control 2003. [Último acceso en mayo 05 de 2005]. Disponible en <http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/ilspage.html>.
7. Agudelo-Flórez P. Leptospirosis: diagnóstico serológico. *Revista CES medicina.* 2005; 19:37-41.
8. Agudelo-Flórez P, Restrepo M, Lotero MA. Evaluación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de leptospirosis humana. *Biomédica.* 2006; 26: 216 – 223.
9. *Leptospira* Molecular Genetics Server. The *Spirochaete* group at the Institut Pasteur. Último acceso en abril 12 de 2007. Disponible en <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/serovars.html>.
10. Bravo C, Restrepo M. Leptospirosis en Antioquia: II Leptospirosis en perros y cerdos. *Antioquia Médica.* 1970; 20: 19-23.
11. Ochoa JE, Sánchez A, Ruiz I. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de

- producción pecuaria. Rev Panam Salud Pública. 2000;7: 325-331.
12. Sebek Z, Sixl W, Valova M, Marth E, Dock M, Reinthaler FF. Serological investigations for leptospirosis in humans in Columbia Geogr Med Suppl 1989; 51-60.
13. Agudelo-Flórez P, Restrepo BN, Arboleda M. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. Cad Saúde Pública. 2007;23 (9): 2094-2102.

