

Resultados preliminares de la evaluación del primer sistema látex en el diagnóstico rápido de la leptospirosis humana en Cuba

Lic. Ana Margarita Obregón Fuentes,¹ Dra. Carmen Fernández Molina,² MSc. María del Carmen Batlle,³ Téc. José Rodríguez,⁴ Lic. Islay Rodríguez⁵ y Lic. Idalmis Hernández⁶

Para contribuir al perfeccionamiento del diagnóstico microbiológico de la leptospirosis en Cuba se han desarrollado técnicas serológicas sencillas, de fácil ejecución y con aceptables valores de sensibilidad y especificidad, las cuales constituyen los objetivos fundamentales del laboratorio nacional de referencia de leptospiras del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

El látex de aglutinación para la detección de anticuerpos generoespecíficos de leptospira es el método de laboratorio más rápido reportado internacionalmente, con amplio uso en la confirmación microbiológica de casos sospechosos de leptospirosis humana.¹

Se extrajo, por el método de ebullición, el antígeno termorresistente (TR) a partir del concentrado celular de la cepa Patoc I del serovar patoc del serogrupo Semaranga, correspondiente a la especie *Leptospira biflexa*.² Este antígeno se acopló a partes iguales con partículas de látex coloreadas de 0,8 μm y fueron comercializadas por Sigma. Se ensayaron 2 tiempos de incubación para la conjugación: el primero de 10 segundos a temperatura ambiente y el otro de 30 min a 37 °C. Se utilizó como bloqueador albúmina bovina fracción V (BSA) al 10 %. El conjugado se incubó durante 12 h a 4 °C, para permitir su adsorción.

Se comprobó la reactividad del látex frente a sueros controles positivos y negativos. Un volumen de 10 μL de látex se unió a la misma cantidad de cada suero control. Se realizó un estudio comparativo con el látex comercial leptodri dot (*Organon Technika - Biomeriux*).³

Se tomó como criterio de positividad la presentación de una aglutinación franca en sobrenadante claro, lo que hizo a esta más visible, en algunos casos en el borde de la gota. La reacción se realizó sobre una lámina de fondo oscuro. El tiempo máximo para determinar un resultado positivo fue de 3 min.

La dilución óptima del leptospira - látex - IPK fue 1/80. El sistema así diseñado fue capaz de reconocer diferentes títulos de anticuerpos totales leptospirales en 100 sueros controles positivos evaluados, y la sensibilidad del leptospira - látex - IPK fue del 86,6 %.

Un total de 200 sueros controles negativos fueron usados para determinar la especificidad del leptospira - látex - IPK, la cual resultó de un 88,7 %.

El índice de coincidencia entre el leptospira - látex - IPK y el leptospira dri dot (estuche comercial) fue de un 85 %.

Al aplicar el método estadístico de X^2 , no existieron diferencias significativas entre el leptospira - látex - IPK, MAT (*gold standard*) y la hemaglutinación pasiva. Nuestro sistema reconoció la misma clase y cantidad de anticuerpo IgM que la HA. Se presentaron algunos sueros no reactivos por la HA y sí por el leptospira - látex - IPK, MAT y leptospira dri dot, lo que demuestra el reconocimiento por estos sistemas de anticuerpos de la clase IgG. El sistema látex en el diagnóstico de la leptospirosis humana es capaz de reconocer infección activa y pasada.³

Leptospira - látex - IPK sirvió para el diagnóstico rápido de la leptospirosis. Este método sencillo puede aplicarse en cualquier laboratorio, incluso donde lo más importante no sea la tecnología y aunque el personal no esté altamente adiestrado.

En Cuba, el sistema deberá ser evaluado en el terreno para determinar nuevos parámetros, entre ellos, la estabilidad y la reproducibilidad.

Referencias bibliográficas

1. Smits HL, van der Hoorn MAW, Goris MGA, Gussenhoven GC, Yersin DM, Sasaki D, et al. A simple latex agglutination assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. *J Clin Microbiol* 2000;38:1272-5.
2. Obregón AM, López C, Nieblas Y. Evaluación de las técnicas de aglutinación en lámina con el antígeno TR y el 2-mercaptoetanol. *Bol Soc Ven Microbiol* 1994;14(2):6-9.
3. Leptospirosis dri dot - KIT Biomedical Research, Royal Tropical Institute. Amsterdam, The Netherlands, 2002.

Recibido: 12 de marzo de 2005. Aprobado: 28 de abril de 2005.

Lic. Ana Margarita Obregón Fuentes. Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospira, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Email: amobregon@ipk.sld.cu

¹ Máster en Microbiología. Investigadora Auxiliar.

² Máster en Veterinaria. Investigadora Auxiliar.

³ Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

⁴ Técnico en Microbiología.

⁵ Máster en Microbiología. Investigadora Agregada.

⁶ Máster en Microbiología. CPHE de Santiago de Cuba.