

Comunicación breve

***Lepto tek lateral flow*: un método para el diagnóstico rápido de la leptospirosis humana en Cuba**

[Téc. Beatriz Martínez Salgueiro,¹ Lic. Ana Margarita Obregón Fuentes,² Dra. Carmen Fernández Molina,³ Téc. José Rodríguez⁴ y Lic. Islay Rodríguez⁵](#)

Resumen

La técnica de *Lepto tek lateral flow* (LF) en el diagnóstico serológico y rápido de casos graves con sospecha clínica y epidemiológica de leptospirosis humana se introdujo y se aplicó en el Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras (LNRL). Se emplearon las técnicas convencionales de laboratorio (microaglutinación [MAT] y hemaglutinación indirecta [HA]) en la confirmación de los casos en estudio. Se estudiaron 40 muestras de sueros correspondientes a 33 pacientes sospechosos de leptospirosis humana, de las cuales se obtuvo positividad en 21 de ellas mediante LF, que representa un 52,5 %. Al aplicar comparativamente las técnicas de LF y HA en 26 monosueros y 7 pares de sueros, se obtuvieron 11 y 5 casos positivos respectivamente. La coincidencia entre ambas fue de un 73 % al estudiar los monosueros y del 71,0 al estudiar los pares de sueros. Al aplicar la MAT en 9 casos sospechosos, resultaron 7 positivos. Los serogrupos más frecuentes encontrados fueron: *icterohaemorrhagiae*, y *canicola*. Se detectaron solo 5 casos positivos por las 3 técnicas aplicadas. La coincidencia entre las técnicas de MAT y LF fue del 89 % y la de HA y la MAT del 100,0. La aplicación de la MAT y la HA ofreció confiabilidad en los resultados obtenidos y se evidenció la gran sensibilidad del LF. Se demostró la importancia del uso de sueros pareados para el diagnóstico certero de esta enfermedad.

Palabras clave: Leptospirosis, diagnóstico, serología.

A partir del año 2000 se produjo y comercializó mundialmente un estuche para el diagnóstico serológico de la leptospirosis humana, conocido como *Lepto tek lateral flow* (LF). El Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras (LNRL) del IPK estableció en el año 2001, como objetivo de trabajo, utilizar esta tecnología de avanzada en el diagnóstico de los casos graves con sospecha de leptospirosis humana.

El LF consiste en presentar un antígeno de leptospira específico, fijado en una membrana de nitrocelulosa porosa localizada en la zona *test*. Como una línea discreta, está fijado en la zona control otro antígeno no específico de un amplio rango de reactividad. La membrana está incluida dentro de una tablilla plástica conocida como soporte. El LF posee un reactivo de detección que consiste en un grupo de partículas coloidales rojas móviles unidas a un anticuerpo anti- IgM humana.

Cuando la muestra de sangre o suero es añadida a la portamuestra, se coloca junto al *buffer* que contiene anti-IgM humana, lo que permite la difusión a través de la membrana que va transportando la muestra paulatinamente.

Al añadir posteriormente el reactivo de detección, este se une a los anticuerpos IgM de la muestra y ambos se mueven a través de la membrana porosa hacia la zona *test*. Si el anticuerpo es específico para leptospira, se une al antígeno y aparece una línea roja bien definida en la mencionada zona. Si la muestra no contiene ningún anticuerpo IgM, específico para leptospira, la muestra y el reactivo de detección pasan por encima de la zona *test* y no aparece la línea coloreada. Con cualquier muestra debe aparecer en la zona control una línea coloreada. El control asegura que el conjugado está aún activo.1-2

La estrategia de trabajo en esta investigación consistió en utilizar el LF como técnica rápida de diagnóstico en casos graves con sospecha de leptospirosis humana y confirmar estos resultados con las tecnologías convencionales de MAT (*gold standard*) y HA.

Se estudiaron 40 muestras de sueros, procedentes de 33 pacientes graves con sospecha de leptospirosis. Las técnicas de MAT y HA se realizaron según los procedimientos descritos en los lineamientos para el control de la leptospirosis, editado por el comité de expertos de la OMS (Faine S, WHO. Guidelines of the control of leptospirosis, 1982. Publicación No. 67). Para la técnica de LF, se depositaron 5 L de suero, sobre los cuales se le agregaron 130 L del *buffer* de corrida. La lectura se realizó a los 10 min.1-2

De las 40 muestras de sueros estudiadas, 21 (52 %) resultaron positivas por LF. De 26 monosueros, 22 fueron no reactivos por HA y 15 negativos por LF, en tanto que 8 y 3 monosueros, respectivamente, fueron débiles positivos por LF. De un total de 4 monosueros que manifestaron reactividad con diferentes títulos por HA, todos fueron positivos por LF, con una fuerte coloración. Sólo un suero se comportó como débil positivo por LF, con un título por HA de 1/10. La coincidencia entre las técnicas de LF y la HA, con el uso de monosueros, fue del 73 %.

Al estudiar 7 pares de sueros, 2 casos fueron negativos por HA y LF. 3 fueron negativos por HA y positivos por LF, mientras 2 fueron positivos por ambas técnicas. Los títulos obtenidos en la HA fluctuaron desde 1/10 hasta 1/160. La coincidencia entre HA y LF mediante el uso de pares de sueros, resultó del 71 %.

Los serogrupos más frecuentes encontrados por MAT fueron: *Icterohaemorrhagiae* y *Canicola*. 2 casos reactivos por HA resultaron igualmente reactivos por MAT y positivos por LF. De 3 casos no reactivos por HA, 2 fueron negativos y el otro fue positivo por LF. Otros 4 casos restantes representados por sueros pareados, fueron 1 negativo y 3 positivos por HA y por LF. Los resultados de la MAT en estos casos fue el siguiente: un caso no reactivo y 3 reactivos con títulos a *canicola* 1/40, *Icterohaemorrhagiae* 1/320 y *Canicola* 1/2560, respectivamente. La coincidencia entre MAT y LF fue de 89 %.

Por LF se obtuvo un mayor número de casos positivos atribuible, entre muchos factores, a la sensibilidad de la técnica, lo que demostró una de las principales ventajas de esta tecnología. Además, se constató que es un proceder rápido, ya que en menos de 10 min se obtuvieron los resultados finales y no requirió de equipamiento sofisticado. Este sistema detectó específicamente anticuerpos de la clase IgM, lo que hace superior a los métodos convencionales, incluyendo HA. Realmente no fue un proceder técnico complejo, y el resultado final se brindó de forma sencilla, que podían leer personas

inexpertas, quienes no tenían experiencia acumulada de laboratorio. Se demostró finalmente que es un proceder bien estandarizado y reproducible a escala de laboratorio.

Durante nuestro estudio logramos obtener las fechas aproximadas de inicio de los primeros síntomas y de la toma de muestra de los pacientes involucrados. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, estos coinciden con los descritos en la literatura, lo cual confirma que el LF comienza a detectar anticuerpos IgM aproximadamente al quinto día. Esto explica que unas 19 muestras resultaron negativas, ya que procedían de pacientes con corto período de evolución clínica. Sin embargo, al parear estos primeros sueros con una segunda muestra, pasados los 10 días después de los primeros síntomas se observó una mayor intensidad en la coloración por el LF. Es de suma importancia señalar que la Organización Mundial de la Salud recomienda que las tomas de muestras destinadas al examen serológico deben ser realizadas en el mismo laboratorio, teniendo en cuenta numerosos factores que hacen difícil estandarizar el diagnóstico.² Con estos resultados se confirmó la importancia del estudio de muestras pareadas cuando el uso del monosero resulta negativo (Faine S, WHO. Guidelines of the control of leptospirosis. WHO 1982; Publicación No. 67).

Hasta el presente no encontramos reportes internacionales que apliquen la tecnología de LF para el diagnóstico rápido de la leptospirosis humana.

La presencia en nuestros resultados de los serogrupos *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae*, coinciden con los reportes realizados por el LNRL desde el año 1996. Ambos serogrupos se encuentran dentro de los más frecuentes reportados en Cuba y esto responde fundamentalmente a la no erradicación de los reservorios, como los perros y las ratas, donde el microorganismo permanece de forma inalterable y es diseminado cuando las condiciones son favorables.

Se concluye que se introdujo la tecnología de LF como método de diagnóstico rápido en la confirmación de casos graves de leptospirosis humana, a nivel del LNRL, en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Se confirmó y compararon los resultados del LF con los métodos convencionales de MAT y HA. Las tecnologías utilizadas en nuestra investigación aportaron importantes elementos a la vigilancia y control de la enfermedad en Cuba. Se debe continuar aplicando en un mayor número de casos la técnica de LF, al nivel del LNRL del IPK y de centros asistenciales primarios de salud.

Summary

Lepto tek lateral flow: a method for the rapid diagnosis of human leptospirosis in Cuba

The Lepto Tek Lateral Flow technique (LF) in the serological and rapid diagnosis of severe cases with clinical and epidemiological suspicion of human leptospirosis was introduced in and applied by the National Laboratory of Leptospirosis Reference (NLLR). Conventional lab techniques (microagglutination MAT and indirect hemagglutination HA) were used in the confirmation of cases under study, 40 serum samples corresponding to 33 patients suspected of human leptospirosis were studied. Of them, 21 samples proved to be positive by LF, accounting for 52.5 %. On comparatively applying the LF and HA techniques to 26 monosera and 7 pairs of serum, 11 and 5 positive cases were obtained, respectively. The coincidence between them was 73 % on

studying monosera and 71.0 on studying the pairs of serum. On applying MAT to 9 suspected cases, 7 of them yielded positive. The most frequently found serogroups were: Icterohaemorrhagiae and Canicola. Only 5 positive cases were detected by the 3 applied techniques. The coincidence between MAT and LF techniques was 89 % and that between HA and MAT was 100.0. The application of MAT and HA offered reliability to the obtained results and it was evidenced the high sensitivity of LF. The importance of the use of matched sera for the accurate diagnosis of this disease was demonstrated.

Key words: Leptospirosis, diagnosis, serology.

Referencias bibliográficas

1. Smiths HL, Hoorn MWG, Goris MGA, Gussenhoven GC, Yersin C, Sasaki DM, et al. Simple lateral flow assay for rapid diagnosis of human leptospirosis. J Clin Microbiol 2000;38(2):1272-75.
2. Terpstra WJ, Goris MGA, Hartskeerl RA . International course in laboratory techniques for the diagnosis of leptospirosis. KIT. Amsterdam, The Netherlands; 2002. Disponible en: www.organonteknika.com

Recibido: 4 de noviembre de 2004. Aprobado: 15 de diciembre de 2004.

Téc. *Beatriz Martínez Salgueiro*. Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). E-mail: beatrizmscu@yahoo.com

[1 Técnica en Microbiología.](#)

[2 Máster en Microbiología. Investigadora Auxiliar.](#)

[3 Máster en Veterinaria. Investigadora Auxiliar.](#)

[4 Técnico en Microbiología.](#)

[5 Máster en Microbiología. Investigadora Agregada.](#)