

## COMUNICACIONES BREVES

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

### Lepto dipstick: resultados de su aplicación al diagnóstico rápido de la leptospirosis humana

Lic. Islay Rodríguez,<sup>1</sup> Dra. Carmen Fernández,<sup>2</sup> Lic. Celia Llerena,<sup>3</sup> Lic. Berta Victoria,<sup>4</sup> Téc. José E. Rodríguez<sup>5</sup> y Lic. Ana M. Obregón<sup>6</sup>

#### RESUMEN

Se estudiaron 41 sueros provenientes de pacientes en estado grave con sospechas de leptospirosis humana, mediante la prueba comercial *Lepto dipstick* y haciendo uso paralelamente de la microaglutinación de serogrupos con antígenos vivos (MAT). Se obtuvieron diferentes niveles de reactividad por el *dipstick* en 26 de las muestras investigadas. Este ensayo y la MAT coincidieron en 85,4 % de los resultados. Se comprobó que el *Lepto dipstick* reconoce anticuerpos contra diferentes serovares de leptospirosis, y que el grado de intensidad de la tinción de las bandas se corresponde con el nivel de anticuerpos detectados por la MAT. La aplicación del *Lepto dipstick* al diagnóstico de la leptospirosis humana, permitió ofrecer una respuesta rápida al personal médico de asistencia de los casos estudiados. Esto demostró que se trata de un método rápido de realizar y de fácil lectura e interpretación.

**DeCS:** LEPTOSPIROSIS/diagnóstico; LEPTOSPIROSIS/microbiología; TESTS DE AGLUTINACIÓN; IBM/inmunología; TESTS SEROLOGICOS.

El diagnóstico de la leptospirosis humana es un hecho complejo, en el que debe considerarse la epidemiología, los factores de riesgo, los signos clínicos, las lesiones y los hallazgos de laboratorio. El diagnóstico microbiológico constituye un aspecto determinante en esta entidad, porque durante la infección se producen variadas formas clínicas.<sup>1, 2</sup>

El diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis humana se basa fundamentalmente en métodos bacteriológicos y serológicos; estos últimos son los de mayor aplicación al nivel internacional. La microaglutinación de serogrupos (MAT) es la

técnica de referencia, la cual permite la detección de anticuerpos grupo-específicos con una alta sensibilidad. Tiene la desventaja de que está restringida a laboratorios que sean capaces de mantener cepas para la preparación de los antígenos vivos. Se describen otros métodos alternativos como: hemaglutinación indirecta, ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta; pero estos requieren de personal calificado, son caros y requieren de tiempo, independientemente de que se hace necesario el uso de sueros pareados para el testaje.<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup> Máster en Bacteriología-Micología. Licenciada en Microbiología. Aspirante a Investigadora. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

<sup>2</sup> Máster en Ciencias. Doctora en Medicina Veterinaria. Investigadora Auxiliar. IPK.

<sup>3</sup> Licenciada en Microbiología. Centro Municipal de Higiene, Epidemiología y Microbiología de 10 de octubre. Ciudad de La Habana.

<sup>4</sup> Licenciada en Bioquímica. Aspirante a Investigadora. IPK.

<sup>5</sup> Técnico en Microbiología. IPK.

<sup>6</sup> Máster en Bacteriología-Micología. Licenciada en Microbiología. Investigador Auxiliar. IPK.

Recientemente se desarrolló un nuevo método conocido como *dipstick*, disponible comercialmente, el cual es muy sencillo de realizar, rápido y permite la detección de anticuerpos IgM específicos a *Leptospira*, sin necesidad de un equipamiento especial. Consiste en una tira que contiene 2 bandas horizontales: una banda constituida por un antígeno de *Leptospira* de amplia reactividad (banda inferior) y una banda de control interno (banda superior) constituida por un anticuerpo anti-IgM humano. El ensayo se basa en la unión de los anticuerpos IgM específicos con el antígeno de *Leptospira*, unión que es específicamente detectada por un conjugado anti-IgM humana, y que se visualiza mediante una tinción al revelar las bandas. La intensidad de la tinción es importante para la interpretación de los resultados. La banda de control interno permite comprobar la integridad de los reactivos de detección y la presencia de suero.<sup>4, 5</sup>

En el presente trabajo, el propósito fue mostrar los resultados obtenidos al aplicar este paquete comercial al diagnóstico rápido de la leptospirosis, en el Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”.

## MÉTODOS

### MUESTRAS

Fueron estudiados 41 sueros procedentes de individuos con sospechas clínico-epidemiológicas de leptospirosis humana en estado de gravedad.

### MÉTODOS ANALÍTICOS

*Lepto dipstick*: fue usado un paquete comercial (*Organon Teknika*). El procedimiento técnico así como la interpretación de los resultados se realizó según las instrucciones del productor.

MAT: se realizó según se describe en los *Lineamientos para el Control y Prevención de la Leptospirosis*, editado por el Comité de Expertos

de la OMS,<sup>2</sup> a partir de la dilución 1:10 del suero problema como única modificación.

## RESULTADOS

Al aplicar el *Lepto dipstick* a las muestras de suero en estudio se encontró que para todos los casos el sistema funcionó, porque se obtuvo la banda de control interno con una intensidad de 2+.

En la tabla 1 se reflejan los resultados obtenidos tanto por el *Lepto dipstick* como por la MAT en este universo de trabajo. Como se puede observar, coincidieron los resultados de ambos métodos en 35 muestras de sueros (85,4 %).

**TABLA 1.** Resultados de la aplicación del *Lepto dipstick* y la MAT a los sueros en estudio

		MAT		Total
		+	-	
Lepto dipstick	+	21	5	26
	-	1	14	15
Total		22	19	41

Al analizar los patrones de intensidad de la tinción de las bandas obtenidas, se encontró la distribución que aparece reflejada en la tabla 2, donde se puede observar que las reactividades fueron mayormente moderadas y débiles en los sueros estudiados. También se comprobó la correlación que existía entre la intensidad de la tinción de las bandas con los títulos obtenidos por MAT, y se observó que a mayor intensidad, mayores eran los niveles de anticuerpos detectados por MAT (tabla 3).

**TABLA 2.** Distribución del número de sueros respecto a los patrones de intensidad de la tinción de las bandas antígeno en el dipstick

Sueros analizados	Intensidad de la tinción de las bandas antígeno*				
	0	1+	2+	3+	4+
41	15	8	14	4	0

\* 0: no reactivo, 1+: débil reactivo, 2+ reactividad moderada, 3+ y 4+: reactividad fuerte.

**TABLA 3.** Relación de la intensidad de la tinción en el *dipstick* con los niveles de anticuerpos detectados por MAT

<i>Lepto dipstick</i> Intensidad de la tinción	MAT Rango de títulos de anticuerpos
0	0
1+	160 - 640
2+	320 - 640
3+	320 - 640

## DISCUSIÓN

El diagnóstico microbiológico de la leptospirosis humana requiere de métodos rápidos y sencillos de realizar, que ofrezcan resultados en un breve tiempo, pues en ocasiones la vida de muchas personas depende de estos ensayos, dada la gran variedad de formas clínicas en que se puede manifestar esta entidad, la cual puede llegar a confundirse con otras patologías de origen viral, que no necesitan de un tratamiento con antibióticos.

El ensayo de *Lepto dipstick* utilizado, según el patrón de su banda de control interno, permitió realizar el diagnóstico serológico a los sueros en estudio, pues demostró la funcionalidad del sistema y se correspondió con lo reportado en la literatura.<sup>4,5</sup> Además, permitió valorar el grado de intensidad del resto de las bandas, o sea, de las que indicaron la presencia de una reacción antígeno-anticuerpo específico para *Leptospira*.

Se reporta que el *dipstick* comienza a detectar anticuerpos usualmente entre los 5-10 d del comienzo de la enfermedad, lo que pudiese justificar las muestras no reactivas encontradas, las cuales procedían de pacientes ingresados con poco tiempo de evolución. Cuando se obtiene reactividad en sueros colectados en esta etapa, generalmente la intensidad de la reacción es débil (1+).<sup>4</sup> En estos casos se hace necesario el estudio de una segunda muestra.

En trabajos realizados por diversos investigadores se han reportado para esta técnica valores de sensibilidad que oscilan desde 60 hasta 93 %, y de especificidad desde 88 hasta 94 %, en dependencia de la etapa en que se encuentre el paciente. De forma general se ha comprobado que este ensayo combina una alta especificidad con una alta sensibilidad.<sup>4,6</sup>

La intensidad moderada y débil de la tinción de las bandas obtenidas se relaciona con el momento en que fueron tomadas las muestras. Por otra parte, cuando los pacientes reciben un tratamiento temprano este puede interferir en el desarrollo de una respuesta inmune fuerte, lo que afecta la sensibilidad del serodiagnóstico, especialmente cuando las muestras de sueros son colectadas en una fase temprana de la enfermedad.<sup>4</sup>

Este estudio ha permitido reafirmar, además, que el ensayo *lepto dipstick* es capaz de reconocer anticuerpos producidos contra diferentes cepas de leptospirosis, pues a través de la MAT se pudo encontrar serorreactividad a diferentes serogrupos como *Canicola*, *Ballum*, *Pomona* y *Sejroe*.<sup>4,6</sup>

La aplicación del *Lepto dipstick* al diagnóstico de la leptospirosis humana, permitió ofrecer una respuesta rápida al personal médico de asistencia de los casos estudiados, demostró que se trata de un método rápido de realizar y de fácil lectura e interpretación, y que es útil al trabajar con monosueros, aunque se recomienda trabajar con los pares de sueros para demostrar mediante una tinción fuerte, una seroconversión o un aumento de la intensidad de la tinción, la presencia de una leptospirosis activa.

## SUMMARY

Forty one serum specimens from critical patients who were suspected of having human leptospirosis were studied by using simultaneously conventional test Lepto-dipstick and serogroup microagglutination test (MAT) with live antigens. Different reactivity levels were reached in 26 tested samples by Lepto-dipstick. This assay and MAT coincided in 85,4% of results. It was confirmed that Lepto-dipstick detects antibodies to various leptospiral serovars and that the degree of intensity of the band staining corresponded with the level of detected antibodies by MAT. The implementation of Lepto-dipstick in the diagnosis of human leptospirosis allows providing a rapid response to the medical staff in charge of the studied cases. This proved that Lepto-dipstick is a rapid method that is easy-to-read and interpret.

**Subject headings:** LEPTOSPIROSIS/diagnosis; LEPTOSPIROSIS/microbiology; AGGLUTINATION TESTS; IGM/immunology; SEROLOGIC TESTS.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14 (2):296-326.
2. Coto CE, Torres RA. Leptospiras y borrelias. En: Basualdo JA. Microbiología biomédica. Buenos Aires: Atlante 1996:410-14.

3. Faine S, ed. Guidelines of the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization, 1982.
4. Gussenhoven GC, van der Hoorn MAWG, Goris MGA, Terpstra WJ, Hartskeerl RA, Mol BW, et al. LEPTO dipstick, a dipstick assay for detection of *Leptospira*-specific immunoglobulin M antibodies in human sera. J Clin Microbiol 1997; 35(1):92-7.
5. Smits HL, Basahl MA, Díaz R, Marrodan T, Douglas JT, Rocha A, et al. Development and evaluation of a rapid dipstick assay for serodiagnosis of acute human brucellosis. J Clin Microbiol 1999;37(12).
6. Smits HL, Ananyina YV, Cheresky A, Dancel L, Lai A, Fat RFM, et al. International multicenter evaluation of the clinical utility of a dipstick assay for detection of *Leptospira*-specific immunoglobulin M antibodies in human serum specimens. J Clin Microbiol 1999;37(9):2904-9.

Recibido: 17 de septiembre de 2001. Aprobado: 15 de noviembre de 2001.

Lic. *Islay Rodríguez*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" Apartado Postal 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: islay@ipk.sld.cu