

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Sistemas serológicos rápidos utilizados para la pesquisa de leptospirosis humana en Cuba

*Dra. C. Ana Margarita Obregón Fuentes,<sup>1</sup> MSc. Carmen Fernandez Molina,<sup>1</sup> Dra. C. Isabel Martínez Motas,<sup>2</sup> Dra. C. Alina Llop Hernández,<sup>1</sup> MSc. Islay Rodríguez González,<sup>1</sup> Téc. José Rodríguez Silveira,<sup>1</sup> MSc. Yaindrys Rodríguez,<sup>1</sup> Téc. Yanais Valdés<sup>1</sup>*

### RESUMEN

**Introducción:** la leptospirosis humana necesita de un diagnóstico microbiológico rápido y oportuno por ser una enfermedad letal y frecuente en todo el mundo. **Objetivo:** incrementar la calidad del diagnóstico microbiológico de esta infección, ampliar el conocimiento sobre la circulación de serogrupos de leptospirosis en Cuba y demostrar la utilidad de un sistema de aglutinación con partículas de látex cubano y los sistemas inmunocromatogénicos comerciales LEPTO Dipstick, Lepto Tek Lateral Flow, Lepto Tek Dri Dot y SD Leptospira IgM-IgG. **Métodos:** en esta investigación descriptiva se utilizaron sueros de casos controles positivos y negativos para evaluar y medir el valor diagnóstico de los sistemas serológicos rápidos con respecto al método de referencia de microaglutinación (MAT). Todas las técnicas utilizadas en este reporte aparecen descritas en el Manual de Operaciones y Procederes del Laboratorio de Leptospiras, del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". **Resultados:** todos los sistemas estudiados presentaron aceptables valores de sensibilidad, especificidad y concordancia en comparación con el método de referencia internacional de microaglutinación con microorganismos vivos. Se constató la amplia selectividad (reactividad antigénica) y la fiabilidad diagnóstica de los sistemas, se destacan en particular el látex mezclado de producción nacional, el LEPTO Dipstick y el SD Leptospira IgM-IgG. **Conclusiones:** ninguno de los procedimientos utilizados fue superado en cuanto a su sencillez, rapidez, simplicidad técnica y grado de ejecución al compararse con los métodos tradicionales, incluido el de referencia, y todos resultaron útiles en la pesquisa de anticuerpos frente a leptospirosis.

**Palabras clave:** leptospirosis humana, sistemas serológicos rápidos, pesquisa y diagnóstico microbiológico.

### INTRODUCCIÓN

La leptospirosis humana, clínicamente se ubica entre las zoonosis más conocidas en el mundo, y se identifica como una infección sistémica, aguda y transmisible, producida por un gran número de bacterias helicoidales invasivas, incluidas en el complejo patogénico denominado *Leptospira interrogans* sensu lato. Esta entidad se clasifica como una enfermedad emergente, por el número elevado de brotes epidémicos que ocasionan las múltiples serovariedades de leptospirosis que afectan sobre todo a los países tropicales y subtropicales.

En los últimos 10 años la leptospirosis se asocia con el síndrome hemorrágico pulmonar que afecta a los países latinoamericanos y el continente asiático.<sup>1,2</sup>

De acuerdo con los datos ofrecidos por la Sociedad Internacional de Leptospirosis (ILS, sigla en inglés) existen en nuestra región, países como Brasil que notifica 3 638 casos confirmados por año. Sin embargo, en otros como Guatemala, Chile, El Salvador, Guyana y Nicaragua, el número es menor; existen naciones como Surinam y Panamá que no tienen definido ese indicador. Esta conducta demuestra que, para esta región, la

<sup>1</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Instituto Finlay. La Habana, Cuba.

leptospirosis puede considerarse como un prototipo de enfermedad “olvidada o desatendida”.<sup>3</sup>

Desde 1981, en Cuba se implementó el programa nacional para la prevención y el control de la leptospirosis, y desde entonces se ha observado que la enfermedad presenta un comportamiento endémico-epidémico con un carácter cíclico y estacional.<sup>4</sup>

La pesquisa de anticuerpos contra leptospiras se realiza por procedimientos de laboratorio convencionales y también mediante el uso de estuches comerciales, los que aparecen en el mundo con mayor disponibilidad durante el siglo xx y principios del xxi.<sup>5-8</sup> En Cuba, se conocen los sistemas inmunocromatogénicos de ventana LEPTO Dipstick, Lepto Tek Lateral Flow y el sistema de aglutinación con partículas de látex Lepto Tek Dri Dot, diseñados por Organon Tecknika en colaboración con el *Koninkluk Instituut voor de Tropen* (KIT), ambos de Holanda. Estos sistemas detectan de forma rápida, anticuerpos IgM o IgG, principalmente en los sueros de pacientes con leptospirosis. Desde finales de 2007, la empresa coreana *BIO LINE (SD) Standard Diagnostics*, Inc, comercializa también estuches serológicos inmunocromatogénicos conocidos como SD Leptospira, SD Leptospira-IgM y SD Leptospira IgM-IgG, utilizados para la búsqueda rápida de anticuerpos producidos contra las leptospiras o sus productos.<sup>9</sup>

El Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras (LNRL) del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK) investiga y desarrolla otros sistemas serológicos con características similares a los descritos internacionalmente, fortaleciendo así el sistema de vigilancia de la enfermedad a nivel nacional y el diagnóstico rápido en los pacientes graves y en otros asociados con brotes epidémicos o eventos epidemiológicos que ocurran en Cuba. En particular, en 2004 se diseñó la primera investigación que permitió obtener el primer sistema de aglutinación con partículas de látex autóctono, destinado para la pesquisa rápida de anticuerpos contra leptospira.<sup>10</sup>

En específico, el trabajo desarrollado en esta investigación evalúa 3 sistemas inmunocromatogénicos serológicos rápidos comerciales y aplica un sistema de aglutinación con partículas de látex cubano, para el pesquise de la leptospirosis

humana en Cuba, y también identifica los serogrupos de leptospiras en los casos clínicos positivos detectados por los sistemas rápidos y por los convencionales, descritos para la confirmación de leptospirosis humana.<sup>11</sup>

## MÉTODOS

### UNIVERSO DE TRABAJO Y MUESTRAS

Se realizó una investigación descriptiva, utilizando sueros de 125 casos positivos de leptospirosis (controles positivos), y como controles negativos, 46 pacientes con dengue, 22 enfermos con sífilis, 35 con hepatitis B o C y 20 con meningitis aséptica por enterovirus. Todos los casos fueron confirmados en los laboratorios de referencia de microbiología del IPK, empleando técnicas recomendadas, según los manuales de operaciones y procedimientos (MOP) de cada laboratorio, en cada caso.

Además, se emplearon sueros de 213 casos sospechosos de leptospirosis, ingresados en las unidades de cuidados intensivos de los hospitales clínicos-quirúrgicos de Ciudad de La Habana: “Enrique Cabrera”, “Salvador Allende” y del IPK, y de 446 enviados a nuestra institución como parte de la vigilancia microbiológica de leptospirosis (2005 y hasta finales de 2007) y de 2 brotes epidémicos ocurridos en 2005 en las provincias de Guantánamo y Santiago de Cuba.

Los sistemas serológicos rápidos, incluyendo el látex cubano,<sup>10</sup> se evaluaron en diferentes períodos. El sistema *Lepto Tek Lateral Flow*, fue evaluado desde septiembre de 2001 y hasta enero de 2002, de igual manera los sistemas *LEPTO Dipstick* y el *Lepto Tek Dri Dot*, se estudiaron desde enero de 2002 y hasta mayo 2002. Por otra parte la validación del látex cubano fue desde enero de 2002 y hasta noviembre de 2007 y la del SD Leptospira IgM-IgG, desde noviembre de 2007 y hasta febrero de 2008.

### PROCEDIMIENTO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN

La metodología empleada para la recolección, el procesamiento, la conservación de las muestras, la confirmación de los casos, así como la identificación de los serogrupos de leptospiras se realizó, según lo establecido en el MOP del LNRL del

IPK, norma vigente según el año de realización de cada uno de los estudios.

Las tecnologías serológicas rápidas comerciales (*LEPTO Dipstick*, *Lepto Tek Lateral Flow*, *Lepto Tek Dri Dot* y *SD Leptospira IgM-IgG*) se realizaron, según las recomendaciones descritas por *Smits* y otros<sup>5-8</sup> y el protocolo de trabajo publicado por *BIO LINE SD Standard Diagnostics*, Inc.<sup>9</sup> La evaluación de cada uno de estos sistemas se realizó en diferentes períodos, en dependencia de la disponibilidad de cada estuche comercial en el medio cubano. El sistema de aglutinación con partículas de látex se hizo según recomendaciones reportadas por *Obregón* y otros.<sup>10</sup> Su producción se realiza sistemáticamente a pequeña escala en el LNRL. Se utilizó además, la técnica de microaglutinación con cepas de leptospiras vivas y patógenas (MAT), como prueba de referencia internacional, según lo establecido por *Hartskeerl* y otros.<sup>3</sup>

Los resultados se procesaron mediante el paquete estadístico Epidat versión 3.1, usando una base de datos en Microsoft Excel.

Los sueros controles (positivos y negativos) se utilizaron para medir el valor diagnóstico de los sistemas serológicos rápidos con respecto al método de referencia de MAT, y sus resultados sirvieron para calcular los porcentajes de la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y negativo, el índice de concordancia o validez, el grado de acuerdo o reproducibilidad (índice de Kappa); así como la razón de verosimilitud para la fiabilidad de cada sistema, para un intervalo de confianza (IC) de 95 % y  $p=0,05$ .

## RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados de los indicadores de desempeño de los 5 sistemas serológicos rápidos aplicados en esta investigación, utilizando los sueros de los casos controles positivos y negativos a leptospirosis. Se puede observar qué sistema de látex cubano presentó los porcentajes de sensibilidad (93,8 %), especificidad (90 %) y concordancia (91,4 %) más elevados;

**Tabla 1.** Indicadores de desempeño de los sistemas serológicos rápidos utilizando sueros de los casos de pacientes controles

Parámetros	<i>Lepto Dipstick</i>	<i>Lepto Tek Lateral Flow</i>	Sistemas <i>SD Leptospira IgM/IgG</i>	<i>Lepto Tek Dri Dot</i>	Látex cubano
Sensibilidad % (n +/ n total +) IC	92,86 (13/14) 75,80 100,00	88,89 (16/18) 71,59 100,00	89,29 (25/28) 76,04 100,00	85,71 (12/14) 63,81 100,00	93,85 (61/65) 87,23 100,0
VPP + % (n +/ total + por el sistema evaluado) IC	86,67 (13/15) 66,13 100,00	84,21 (16/19) 65,18 100,00	86,21 (25/29) 71,93 100,00	75 (12/16) 50,66 99,34	80,26 (61/76) 70,66 89,87
Especificidad % (n -/ n total -) IC	90 (18/20) 74,35 100,00	85,5 (17/20) 66,85 100,00	86,67 (27/30) 72,84 100,00	80 (16/20) 59,97 100,00	90,38 (141/156) 85,44 95,33
VPN - % (n -/total - por el sistema evaluado) IC	94,74 (18/19) 82,06 100,00	89,47 (17/19) 73,04 100,00	89,66 (26/29) 76,85 100,00	88,89 (16/18) 71,59 100,00	97,24 (141/145) 94,23 100,0
Concordancia % (+ y - / n total) IC	91,18 (31/34) 80,17 100,00	86,84 (33/38) 74,78 98,91	87,93 (51/58) 78,69 97,18	82,35 (28/34) 68,07 96,64	91,40 (202/221) 87,48 95,32
Índice de Kappa IC	0,83 0,64 1,02	0,74 0,53 0,95	0,76 0,59 0,93	0,66 0,40 0,91	0,84 0,77 0,92
LR + IC	9,29 2,47 34,86	5,93 2,06 17,04	6,70 2,67 16,83	4,29 1,74 10,56	9,76 6,01 15,85
LR - IC	0,08 0,01 0,53	0,13 0,03 0,49	0,12 0,04 0,36	0,18 0,05 0,66	0,07 0,03 0,18

MAT: microaglutinación con antígenos vivos y técnica de referencia utilizada (identifica los serogrupos); n: casos; +: positivos; -: negativos; %: porcentaje; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: razón de verosimilitud positiva; LR-: razón de verosimilitud negativa; IC: intervalo de confianza de 95 % para  $p \leq 0,05$ .

aunque *LEPTO Dipstick* presentó valores muy próximos a estos (sensibilidad (92,8 %), especificidad (90 %) y concordancia (91,18 %)). Los valores de *Lepto Tek Lateral Flow* fueron de 88,89; 85,5 y 86,84 %, respectivamente y para el sistema SD *Leptospira IgM/IgG* se detectaron porcentajes más bajos de sensibilidad (89,29 %), de especificidad (86,67 %) y concordancia (87,93 %). Cifras inferiores se observaron con *Lepto Tek Dri Dot* (85,71; 80 y 82,35 %, respectivamente). Todos los sistemas serológicos evaluados mostraron porcentajes superiores del valor predictivo negativo con respecto al positivo.

El valor diagnóstico más fiable lo mostraron los sistemas del látex autóctono mezclado (LR+ = 9,76 y LR- = 0,07) y *LEPTO Dipstick* (LR+ = 9,29 y LR- = 0,08), siguiéndole la técnica SD *Leptospira IgM/IgG* (LR+ = 6,70 y LR- = 0,12). Por su parte,

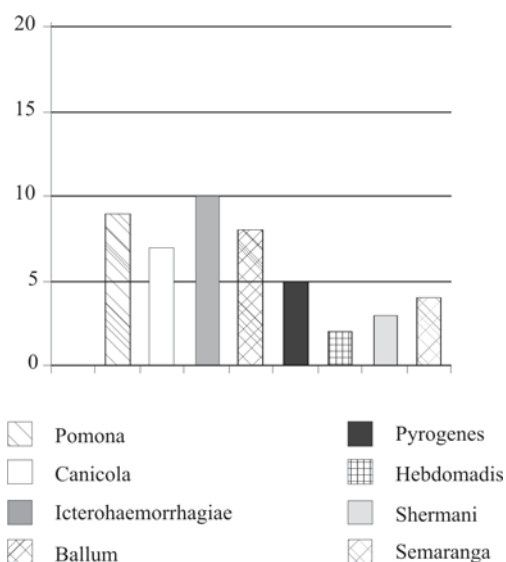
los sistemas *Lepto Tek Lateral Flow* y *Lepto Tek Dri Dot* mostraron ser semejantes en cuanto a este criterio (LR+ = 5,93 y LR- = 0,13; LR+ = 4,29 y LR- = 0,18, respectivamente) (tabla 1).

En la tabla 2 se presentan los resultados de la pesquisa de anticuerpos contra las leptospiras en los casos clínicos (sospechosos), mediante la utilización de los sistemas serológicos rápidos. Obsérvese que los ensayos *LEPTO Dipstick* y *Lepto Tek Lateral Flow* mostraron valores de positividad iguales o superiores a 93,62 %. Mientras que, con el sistema SD *Leptospira IgM/IgG* y *Lepto Tek Dri Dot*, los porcentajes resultaron entre 82,36 y 87,50 %, respectivamente. La sensibilidad de los sistemas *LEPTO Dipstick* y *Lepto Tek Lateral Flow*, fue mayor que la correspondiente a la que se obtuvo con SD *Leptospira IgM/IgG* y *Lepto Tek Dri Dot*. Por su parte el sistema de Látex

**Tabla 2.** Porcentajes de positividad identificados por los sistemas serológicos rápidos en los sueros de los casos sospechosos de leptospirosis

Sistemas	Origen de los casos (tiempo)	Positividad % (n+/ n total)
<i>LEPTO Dipstick</i>	Hospitales clínicos – quirúrgicos: “Enrique Cabrera”, “Salvador Allende” e IPK (2001-2008)	95 (38/40)
<i>Lepto Tek Lateral Flow</i>		93,62 (44/47)
SD <i>Leptospira IgM/IgG</i>		82,36 (28/34)
<i>Lepto Tek Dri Dot</i>		87,50 (35/40)
Látex cubano	Brote epidémico 1* (2005)	68,3 (28/41)
	Brote epidémico 2* (2005)	20 (1/5)
	Vigilancia (2005 - 2007)	21,1 (18/85)

MAT: microaglutinación con antígenos vivos y técnica de referencia utilizada (identifica los serogrupos); n: casos; +: positivos; %: porcentaje; \* Brote 1: Santiago de Cuba y Brote 2: Guantánamo.



**Fig.** Serogrupos de leptospiras identificados en los casos pesquisados (2005-2007) por el látex-cubano y confirmados por la técnica de microaglutinación (MAT).

**Tabla 3.** Serogrupos de leptospiras identificados por la técnica de microaglutinación en los casos clínicos de leptospirosis diagnosticados por los sistemas rápidos comerciales

Sistemas (cepa, serogrupo, serovar de la especie utilizada)	C	Serogrupo			Se
		Po	I	S	
		Positividad % (n+/ n total)			
<i>LEPTO DipStick</i> (Patoc I, Semarang, Patoc de <i>Leptospira biflexa</i> )	42,11 (16/38)	39,48 (15/38)	18,43 (7/38)	-	Nr
<i>Lepto Tek Lateral Flow</i> (Patoc I, Semarang, Patoc de <i>Leptospira biflexa</i> )	36,37 (16/44)	54,55 (24/44)	9,09 (4/44)	-	Nr
<i>SD Leptospira IgM/IgG</i> (Patoc I, Semarang, Patoc de <i>Leptospira biflexa</i> )	-	-	17,86 (5/28)	-	82,15 (23/28)
<i>Lepto Tek Dri Dot</i> (Lely 607, Sejroe, Hardjo de <i>L. interrogans</i> )	28,58 (10/35)	-	14,29 (5/35)	57,15 (20/35)	Nr

MAT: microaglutinación con antígenos vivos y técnica de referencia utilizada (identifica los serogrupos); n: casos; %: porcentaje; +: positivo; -: ninguno; Nr: no realizada; C: Canicola; Po: Pomona; I: Icterohaemorrhagiae; Se: Semarang.

cubano mostró entre 20 y 68,3 % de los casos positivos asociados a los brote epidémicos de Santiago de Cuba y de Guantánamo, así como de la vigilancia de laboratorio.

Los serogrupos de leptospiras identificados en los casos confirmados por la técnica de MAT desde el año 2005 al 2007, se muestran en la figura. Como se puede observar, se identificaron otros serogrupos (Ballum, Pyrogenes, Hebdomadis, Shermani y Semarang), que no están incluidos en la formulación del sistema de látex cubano, hecho que avala la amplia selectividad de este sistema.

La tabla 3 muestra los serogrupos de leptospiras identificados por los diferentes sistemas rápidos comerciales utilizados en los casos clínicos positivos. Obsérvese que, a pesar de no haber pesquisado por cada sistema el mismo número de casos, los porcentajes pertenecientes a los serogrupos Canicola, Pomona e Icterohaemorrhagiae predominaron en los resultados obtenidos con *LEPTO Dipstick* y *Lepto Tek Lateral Flow*. El serogrupo no patógeno Semarang, mostró un mayor porcentaje (82,15 %) en los casos positivos por *SD Leptospira IgM/IgG*. De igual forma, predominó el serogrupo Sejroe (57,15%) en los pacientes positivos por el ensayo *Lepto Tek Dri Dot*.

## DISCUSIÓN

Los sistemas serológicos rápidos que se evaluaron e introdujeron en Cuba, mostraron ventajas

técnicas cuando se les comparó con los métodos de referencia.<sup>11</sup> Ninguno de estos procedimientos fue superado en cuanto a su sencillez, rapidez, simplicidad técnica y grado de ejecución. La mayoría de las técnicas empleadas pueden realizarse por personas no experimentadas y sin la necesidad de requerir equipos sofisticados.

El diagnóstico de laboratorio se incrementó con el empleo de los sistemas rápidos. No obstante, es recomendable utilizarlos para la pesquisa de la leptospirosis humana en muestras extraídas después del quinto o sexto día del inicio de los primeros síntomas clínicos.<sup>11</sup>

La sensibilidad de los métodos serológicos rápidos se asocia con la cepa de leptospira acoplada al sistema. La mayoría de estos están integrados por la cepa no patógena de leptospira Patoc I, del serogrupo Semarang y serovar Patoc, microorganismo que posee todos los antígenos que comparten la mayoría de los serovares del género *Leptospira*.<sup>12</sup> Los sistemas con partículas de látex (*Lepto Tek Dri Dot* y látex cubano) tienen en su composición respectivamente las cepas patógenas de leptospiras Lely 607 (Sejroe-Hardjo), y las combinaciones en partes iguales de M20 (Copenhageni-Icterohaemorrhagiae), Hond Utrech IV (Canicola-Canicola), 6 621 (Mozdok-Pomona), M 84 (Sejroe-Sejroe) las que demostraron su utilidad para la pesquisa de la enfermedad en los humanos.<sup>6,10</sup>

El porcentaje de sensibilidad de las pruebas serológicas depende del tipo de población o grupo de riesgo donde se apliquen, así como de la

situación clínica epidemiológica de la enfermedad. El tratamiento de la leptospirosis con antimicrobianos específicos afecta la respuesta inmune humoral, respuesta que suele ser aún más débil cuando se utilizan sueros extraídos en los estadios muy tempranos de la infección. Es por eso que, la mayoría de los autores señalan que la sensibilidad de los sistemas de diagnóstico rápido, es superior cuando se estudian los sueros correspondientes al décimo día posterior al inicio de la infección.<sup>12</sup>

La especificidad de los sistemas serológicos rápidos depende, en gran medida, de la prevalencia de la enfermedad. Se observa que, en las zonas con elevada endemicidad, la especificidad de los sistemas es muy baja, debido a que la población posee anticuerpos IgM producidos contra otros patógenos circulantes en la misma zona geográfica, que cruzan inespecíficamente en los sistemas para leptospirosis. *Smits* refiere que la especificidad del sistema *Lepto Tek Dri Dot* se reduce a 8,9 %, cuando se aplica en poblaciones con una elevada prevalencia de citomegalovirus, dengue, HIV y malaria (comunicación personal de *Smits HL. Koninkluk Instituut voor de Tropen. Amsterdam, The Netherlands; 2005*).

No existen en la literatura internacional consultada, trabajos que describan la obtención de un sistema con partículas de látex similar al descrito en esta investigación, aunque se revisó el estudio publicado por *Mc Bride* y otros, quienes evalúan 4 sistemas de látex, utilizando las células completas de leptospirosis como antígenos.<sup>13</sup>

Entre los casos clínicos incluidos en este trabajo, no hubo aislamientos de leptospirosis, ni se les extrajo (a la mayoría de los individuos) un segundo suero. Estos pacientes tuvieron una evolución clínica promedio entre 6 a 7 d, después de iniciados los primeros síntomas y signos de la enfermedad y todos cumplieron con la condición de que las muestras (sueros) se extrajeran durante el estadio agudo de la infección, lo que permitió detectar, por los diferentes sistemas ensayados, la presencia de IgM específicas contra leptospirosis.

En las evaluaciones de los sistemas *Lepto Tek Lateral Flow* y *Lepto Tek Dri Dot* realizadas por *Smits* y otros, se identificaron los serogrupos de leptospirosis presentes en los pacientes positivos. En estos trabajos y con respecto al primer sistema, se identifican como predominantes los serogrupos de

*Australis, Bataviae, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Pomona, Sejroe, Shermani, Tarassovi* y en el segundo se detectan, *Australis, Bataviae, Canicola, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Shermani, Grippotyphosa, y Tarassovi*. Estos resultados mostraron la amplia selectividad de los sistemas serológicos analizados, al reconocer anticuerpos presentes en los sueros de los individuos con la enfermedad e infectados por otros serogrupos de leptospirosis no presentes en la formulación de cada sistema.<sup>7,8</sup>

Se sabe que los sistemas *LEPTO Dipstick, Lepto Tek Lateral Flow* y *SD Leptospira IgM/IgG* están integrados por la cepa no patógena *Patoc I*, del serogrupo *Semarang*, serovar *Patoc*, mientras que el *Lepto Tek Dri Dot*,<sup>6</sup> está constituido por la cepa *Lely* del serogrupo *Sejroe*, serovar *Hardjo*. Se debe destacar el alto porcentaje de casos clínicos positivos por *SD Leptospira IgM-IgG* y *Lepto Tek Dri Dot* identificados por la técnica de *MAT* frente a las cepas *Patoc I* (80 %), del serogrupo *Semarang*, serovar *Patoc* y *Lely* (50 %) del serogrupo *Sejroe*, serovar *Hardjo*, respectivamente, lo que muestra también la amplia selectividad de estos sistemas en las muestras obtenidas de los pacientes cubanos.

Las tecnologías serológicas rápidas de pesquisa de anticuerpos contra leptospirosis continuarán perfeccionando la vigilancia microbiológica del laboratorio y brindarán una orientación oportuna a la asistencia médica, sobre la infección por leptospirosis, ejerciendo también así su papel de forma directa en la prevención y el control de la leptospirosis en Cuba. Además, teniendo en consideración estos resultados, se pretende en un futuro inmediato dirigir la producción en mayor escala del sistema de látex autóctono, de manera que pueda utilizarse en la pesquisa de la leptospirosis en Cuba; para ello es necesario su registro y comercialización.

### **Rapid serological diagnosis systems for human leptospirosis screening in Cuba**

#### **ABSTRACT**

**Introduction:** human leptospirosis requires rapid and early microbiological diagnosis since it is a common lethal disease worldwide. **Objectives:** to increase the quality of microbiological diagnosis of this infection, to expand the knowledge on the

circulation of groups of leptospiras in Cuba and to show the benefits of an agglutination assay using Cuban latex particles and of commercial immunochromatogenic systems LEPTO Dipstick, Lepto Tek Lateral Flow, Lepto Tek Dri Dot and SD Leptospira IgM-IgG. **Methods:** this descriptive research used sera from positive and negative control cases to evaluate and measure the diagnostic value of rapid serological diagnosis systems with respect to the microagglutination method of reference (MAT). All the techniques used in this report are described in the Manual of Operations and Procedures of the Leptospira Lab in "Pedro Kourí" Institute of Tropical Medicine. **Results:** all the studied diagnosis systems exhibited acceptable values of sensitivity, specificity and agreement when compared to the international microagglutination method of reference with live microorganisms. The great selectivity (antigen reactivity) and the diagnostic reliability of the diagnostic systems were confirmed; particularly the mixed Cuban-made latex, the LEPTO Dipstick and the SD Leptospira IgM-IgG. **Conclusions:** the procedures used in this research work exceeded the traditional methods including the microagglutination method of reference in terms of easiness, rapidity, technical simplicity and level of performance, and all were useful for the screening of antibodies to leptospiras.

**Key words:** human leptospirosis, rapid serological diagnosis systems, screening and microbiological diagnosis.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ko AI, Goarant C, Picardeau M. Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:736-47.
2. Stark K, Niedrig M, Biederbick W, Merkert H, Hacker J. Climate changes and emerging diseases. What new infectious diseases and health problem can be expected? *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2009;52:699-714.
3. Hartskeerl RA. Leptospirosis: a prototype neglected infectious disease. [disertación]. Citado en: Congreso 70 Aniversario del IPK, VII Congreso/Cubano de Microbiología y Parasitología y IV Congreso Nacional de Medicina Tropical. Palacio de Convenciones. Ciudad de La Habana. Cuba; 2009.
4. Verdasquera D. Algunos estudios de campo sobre Leptospirosis realizados en la Ciudad de La Habana como parte del TCC [disertación]. Citado en el Congreso 70 Aniversario del IPK, VII Congreso/Cubano de Microbiología y Parasitología y IV Congreso Nacional de Medicina Tropical. Palacio de Convenciones. Ciudad de La Habana, Cuba; 2009.
5. Smits HL, Hartskeerl RA, Terpstra WJ. International multicentre evaluation of a dipstick assay for human leptospirosis. *Trop Med Int Health.* 2000;5:124-8.
6. Smits HL, van der Hoorn MAWG, Goris MGA, Gussenhoven GC, Yersin C, Sasaki DM, et al. Simple latex agglutination assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 2000;38:1272-5.
7. Smits HL, Eapen CK, Sugathan S, Kuriakose M, Gasem MH, Yersin C, et al. Lateral Flow assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8:166-9.
8. Smits HL, Chee HD, Eapen K, Kuirakose M, Sugathan S, Gasem MH, et al. Latex based, rapid and easy assay for human leptospirosis in a single test format. *Trop Med Int Health.* 2001;6:114-8.
9. BIO LINE Standard Diagnostics INC. Corea. SD Leptospira IgM-IgG [citado en el Taller Internacional de Laboratorio para el Diagnóstico de Leptospirosis humana, Ciudad de Tegucigalpa, Honduras, 15 de mayo de 2007]. Disponible en: [www.standardia.com](http://www.standardia.com)
10. Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J, Martínez B, Balbis Y. Sistema de aglutinación con látex para el diagnóstico rápido de leptospirosis en Cuba. *Pan J Public Health.* 2004;16(4):259-65.
11. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:296-320.
12. Goris MGA, Wagenaar JFP, Sakundarno Adi, Engelberts MFM, van de Ven AWED, Hartskeerl RA. Prospective evaluation of Lepto Tek Lateral Flow and Lepto Tek Dri Dot in the serodiagnosis of human leptospirosis. KIT-Indonesia; 2009. Disponible en: <http://www.kit.nl>
13. McBride AJ, Santos BL, Queiroz A, Santos AC, Hartskeerl RA, Reis MG, et al. Evaluation of four whole-cell leptospira based serological tests for diagnosis of urban leptospirosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14:1245-8.

Recibido: 16 de diciembre de 2010. Aprobado: 11 de abril de 2011.  
 Ana Margarita Obregón Fuentes. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía, Km 6 ½. Lisa. La Habana, Cuba. AP 601. CP 17100. Correo electrónico: [amobregon@ipk.sld.cu](mailto:amobregon@ipk.sld.cu)