

DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR POR LA TECNICA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS (C.I.E.)

Ernesto Montoro, Raúl Díaz, Fe Crespo, Caridad Ferrá, Miguel Echemendía, José A. Valdivia.

Laboratorio Nacional de Referencia de Mycobacterias y Tuberculosis. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se estudiaron por la técnica Contrainmuno-electroforesis (CIE) 3 grupos de sueros, los cuales incluyeron 56 de pacientes con tuberculosis pulmonar, 50 con otras patologías pulmonares y 75 de individuos supuestamente sanos.

Se utilizaron en dicha técnica 2 extractos antigénicos celulares crudos de las cepas *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra y *Mycobacterium bovis* BCG elaborados según Rojas - Espinoza y Quesada - Pascual; se discute la utilidad de la CIE para el diagnóstico serológico de la tuberculosis reportando una sensibilidad de 80,35% y una especificidad de 93,33%.

Palabras Claves: Contrainmuno-electroforesis, Tuberculosis Pulmonar, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis

ABSTRACT

Serodiagnosis of Tuberculosis by Counterimmunoelectrophoresis (CIE) test

The Counterimmunoelectrophoresis (CIE) test was evaluated for the serodiagnosis of Pulmonary Tuberculosis using 2 antigenic extract prepared from a BCG suspension and *Mycobacterium tuberculosis* H37a. The specificity of this test was 93,33% in 75 sera from healthy donors. The sensitivity was 80,35% as determined in 56 sera from Pulmonary Tuberculosis. 50 sera from patients with non tuberculosis diseases were also included in this study.

Key Words: Counterimmunoelectrophoresis, Pulmonary Tuberculosis, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis.

INTRODUCCION

La Tuberculosis continúa siendo un importante problema de salud pública mundial. De acuerdo a las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la Unión Internacional Contra la Tuberculosis (UIC), ocurren anualmente de 8 a 10 millones de nuevos casos y aproximadamente 3 millones de muertes en el mundo (1, 2, 3).

La baciloscopia constituye un método básico y es el más usado en el diagnóstico de la Tuberculosis, su especificidad es alta, pero su sensibilidad es baja (2). Otra forma de demostrar el microorganismo es a través de cultivos, pero presenta ciertas limitaciones debido a que los resultados se obtienen en forma tardía (4 a 8 semanas) y no alcanzan la sensibilidad suficiente para detectar todos los casos paucibacilares (2, 4, 5).

Los primeros estudios serológicos para el diagnóstico de la Tuberculosis se realizaron a finales del siglo pasado, pero no fue hasta la década de los setenta en que este procedimiento se consideró de utilidad con el desarrollo de métodos altamente sensibles para la detección de anticuerpos (2,4, 5).

En 1978 Rojas-Espinoza y cols. aplicaron la Contrainmuno-electroforesis (CIE) para detectar anticuerpos antimicobacterianos en sueros de pacientes con Tuberculosis, realizando otros estudios a partir de ese momento (5, 6).

En el presente trabajo utilizamos la técnica CIE en el diagnóstico serológico de la tuberculosis, empleando 2 extractos antigénicos celulares de micobacterias.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 181 muestras de sueros clasificados en 3 grupos:

Grupo I: 56 sueros de pacientes con Tuberculosis pulmonar confirmada por diagnóstico clínico, radiológico y bacteriológico.

Grupo II: 50 sueros de pacientes con otras patologías pulmonares (5 con neoplasia, 13 con micosis profun-

Este trabajo recibió ayuda financiera de la agencia sueca SAREC como parte del proyecto "Improvement of Novel Technology for Diagnostic and Research on Tuberculosis and other mycobacteriosis".

das, 22 con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), 5 con neumopatía inflamatoria y 5 con micobacteriosis). En este grupo se siguieron los criterios clínico, radiológico y a todos se les realizó coloración de esputo para la detección de bacilos ácido - alcohol resistentes (BAAR), obteniéndose resultados negativos.

Grupo III: 75 sueros de individuos supuestamente sanos, de diferentes edades, sexo y raza, de los cuales 65 correspondían a donantes de sangre y 10 a niños de 11 años de edad con huella de cicatriz y certeza de vacunación con BCG.

Como fuente de antígenos micobacterianos se emplearon extractos antigénicos celulares crudos, obtenidos a partir de la cepa avirulenta *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra y *Mycobacterium bovis* BCG, ambas pertenecientes al cepario del Laboratorio Nacional de Referencia de *Mycobacteria* y Tuberculosis del IPK. El procedimiento empleado para la elaboración fue el reportado por Rojas-Espinoza y Quesada-Pascual (5, 6).

Como soporte de la reacción se utilizó agarosa de alta electroendosmosis (Pharmacia-LKB), al 0,7%, colocando en el pozo cercano al ánodo, 13 ul de suero a analizar; como solución reguladora para la corrida se usó barbiturato sódico pH 8,6; se empleó una cámara de electroforesis (LKB - Multiphor II) conectada a la fuente de poder (LKB Macro Driver 5) y se administró una corriente eléctrica de 30 mA durante 15 minutos.

Posteriormente se depositó un volumen de 13 ul de los antígenos en el pozo cercano al cátodo y se reanudó la corrida por un tiempo de 70 minutos. Todos los sueros fueron analizados frente a los 2 extractos antigénicos elaborados, se aplicó en cada lámina sueros controles positivos y negativos. La corrida se efectuó a 20°C.

Se tomó como criterio de positividad la aparición de bandas de precipitación con uno u otro antígeno o con ambos extractos.

RESULTADOS Y DISCUSION

De los 56 sueros de pacientes con tuberculosis pulmonar (grupo I), 45 resultaron positivos con uno u otro antígeno o con ambos extractos, no comportándose de forma homogénea y obteniéndose mejores resultados con el extracto elaborado a partir de la cepa *M. tuberculosis* H37Ra, para un 80,35% de sensibilidad.

Al analizar los 50 sueros de pacientes con otras afecciones pulmonares, pertenecientes al grupo II, 5 resultaron positivos; 2 correspondían a sueros de pacientes

con bronquiectasia (EPOC), 2 con neoplasias y uno con neumopatía inflamatoria, resultando 45 sueros negativos.

De las 75 muestras estudiadas, de individuos supuestamente sanos, 5 resultaron positivos pertenecientes a donantes de sangre, por su parte los 10 niños analizados fueron negativos, obteniéndose un 93.33% de especificidad para este grupo.

Al comparar los resultados con los obtenidos por otros autores, en cuanto a los parámetros cualitativos de sensibilidad y especificidad, tenemos que Rojas - Espinoza (1978), en un primer estudio obtuvo 76,7% y 100% y en un segundo reporte 82% y 100% respectivamente (6).

Quesada Pascual (1983), en su primer estudio, obtuvo 84% de sensibilidad y 100% de especificidad, en un segundo grupo de sueros analizados reporta 69% y 100% respectivamente (5).

De acuerdo a estos parámetros podemos decir que la sensibilidad lograda en este trabajo es muy parecida a la obtenida por ambos autores y que la especificidad es más baja, aunque razonablemente aceptable, lo que nos hace pensar que estos individuos supuestamente sanos, pertenecientes al grupo III de estudio, en algún momento de sus vidas estuvieron en contacto con el bacilo tuberculoso, sin llegar a tener manifestaciones aparentes de la enfermedad.

Otros autores reportan que el 40% de las infecciones se producen durante los 4 primeros años de la vida y el 80% antes de los 15, en términos globales, y de manera muy genérica, se estima que el paso de infección a enfermedad se efectúa aproximadamente en el 10% de los casos: un 5% durante el período de los 5 años siguientes a la infección y el otro 5% a lo largo de la vida (7). Otros estudios reflejan, que el antecedente de vacunación con BCG no interfiere en los resultados obtenidos para la detección de anticuerpos micobacterianos en sueros (7, 8, 9). Estos reportes apoyan nuestros resultados, ya que los sueros estudiados de niños, todos resultaron negativos, esto se corresponde igualmente con los hallazgos obtenidos por Rojas Espinoza (1978) y Quesada Pascual (1983), los cuales incluyeron en sus estudios sueros de individuos vacunados con BCG. (6, 5).

La razón de incluir en el presente trabajo, sueros de pacientes portadores de otras enfermedades pulmonares, se debe a la dificultad del diagnóstico clínico diferencial por la similitud de los síntomas presentes en estas patologías; además se observan con frecuencia las reacciones cruzadas entre los antígenos de micobacte-

rias y otros géneros bacterianos como *Nocardia*, *Corynebacterium* y algunos de los agentes de las micosis profundas (5).

En relación a la sensibilidad de la CIE para el diagnóstico de la tuberculosis, probablemente varios factores son responsables de obtener un porcentaje de sueros no reactivos en casos confirmados. Diferentes autores han postulado la existencia de un espectro inmunológico en la tuberculosis pulmonar, basado en varios parámetros (5, 10, 11, 12).

Por la utilidad que reporta el método de la CIE, con respecto a la rapidez de los resultados (90 minutos), buena especificidad, económica y no requerimiento de personal especializado, se recomienda su uso para el diagnóstico serológico de la tuberculosis.

(aceptado para publicación el 11-04-94)

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Casal R. 1990. Microbiología clínica de las enfermedades por micobacterias. 1era. ed. Edit. AC Madrid, 1 - 18.
- 2.- Sada-Díaz E. 1988. Inmunología de Tuberculosis. Métodos diagnósticos. En: V Seminario Regional de Tuberculosis. Public. Cient. OPS. No. 511, 36 - 44.
- 3.- Sudre P, Dam Ten G, Kochi A. 1982. Tuberculosis: a global overview of the situation today. Bull. of the World Health Organization. 70 (2): 149 - 159.
- 4.- Barrera L, Ritacco V, Eisele C, y cols. 1989. Evaluación del enzimoimmunoensayo para el diagnóstico rápido de la Tuberculosis paucibacilar del adulto. Medicina (B. Aires). 49: 561 - 566.
- 5.- Quesada P. F. 1983. Diagnóstico inmunológico de la Tuberculosis. Salud Publ. de México. 25: 6, 601 - 611.
- 6.- Rojas E. O., Quesada P. F., Anaya N, Estrada P. S. 1978. Antimycobacterial antibodies in Tuberculosis. 1 The Counterimmunoelectrophoresis (CIE). Test. Rev. Invest. Clin. (Mex.) 30: 121 - 126.
- 7.- Lara G. L., López D. A. 1990. Manual de Tuberculosis en atención primaria de salud. Junta de Andalucía. Consejería de Salud, 9 - 15.
- 8.- Neveu P. J., Buscot N, Soullion J. P., 1980. Dissociation between humoral and cellular responses to PPD after BCG vaccination. Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol. 62: 409 - 414.
- 9.- Turner M., Van Vooren J. P., Nyabende J, et al. 1988. The humoral immune response after BCG vaccination in humans: consequence for the serodiagnosis of Tuberculosis. Eur. Respir. J. 1: 589 - 593.
- 10.- Brostoff J. 1981. Immune complexes in the spectrum of Tuberculosis. Tubercle. 62: 169 - 173.
- 11.- Daniel T. M., Oxtoby M. J., Pinto M. E., Moreno S. E. 1981. The immune spectrum in patients with pulmonary tuberculosis. Am. Rev. Respir. Dis. 123: 556 - 559.
- 12.- Daniel T. M. 1986. Circulating Immune Complexes in Tuberculosis. Am Rev. Respir. Dis. 134: 199 - 200.