

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

"DIAGNOSTICO INMUNOLOGICO DE LA TUBERCULOSIS"

**(Uso de Contrainmunoelectroforesis en el
diagnóstico de tuberculosis)**

Estudio prospectivo de 100 pacientes con tuberculosis pulmonar realizado durante el mes de Mayo de 1985 en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de CIENCIAS MEDICAS de la Universidad de San Carlos de Guatemala

REYNALDO JOSE GONZALEZ MONCADA

GUATEMALA, AGOSTO DE 1985

PLAN DE TESIS

- I.- INTRODUCCION
- II. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA
- III. REVISION BIBLIOGRAFICA
- IV. MATERIALES Y METODOS
- V. RESULTADOS
- VI. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS
- VII. CONCLUSIONES
- VIII. RECOMENDACIONES
- IX. RESUMEN
- X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
- XI. APENDICES

INTRODUCCION

La tuberculosis, enfermedad muy frecuente en Guatemala con una morbilidad del 8.3% y una mortalidad del 9.79%, para cuyo diagnóstico actualmente se efectúan pruebas tales como: Tuberculina, BCG test, cultivo de tejido o de esputo, baciloscopía, siendo de todos éstos en nuestro medio los más sensibles, el cultivo, pero que requiere un tiempo de 4-6 semanas para lograr que crezca el *Mycobacterium tuberculosis* y la baciloscopía de esputo, que para ser positiva se necesitan más de 5,000 bacilos por mm cúbico.

Por todo lo anterior es necesario en nuestro medio tener una alternativa de diagnóstico de tuberculosis pulmonar o extrapulmonar, fácil, económica, sensible, específica y que no requiera de personal sumamente especializado, cuando los métodos bacteriológicos no sean aplicables. El presente estudio fué enfocado a determinar la eficacia de la contrainmunoelectroforesis como medio diagnóstico de infección tuberculosa y a la respuesta del hospedero contra el *M. tuberculosis* y específicamente a la presencia de anticuerpos precipitantes, usando como antígeno BCG en placas de agarosa.

En los resultados obtenidos en el estudio, se observó un 78% de sueros positivos de pacientes tuberculosos y 0% en los sueros del grupo control, éstos datos son similares con los de otros autores y estudios de otros países. (28,31)

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA:

La tuberculosis es una enfermedad infecto-contagiosa frecuente en Guatemala, cuya morbilidad es de 8.3% y la mortalidad es de 9.79%. (17)

Nuestro interés está enfocado en la respuesta del hospedero contra el Mycobacterium tuberculosis y específicamente a la presencia de anticuerpos precipitantes que se pueden evidenciar con la aplicación de la contrainmunoelectroforesis (CIE).

Se sabe por revisión de la literatura mundial que la respuesta inmune del hospedero al bacilo tuberculoso es de la siguiente manera: Los individuos que tienen tuberculosis miliar o sistémica presentan altos títulos de anticuerpos y los que tienen tuberculosis localizada presentan bajos títulos o no tienen.

Nuestro interés es observar lo efectivo de un método que determina anticuerpos precipitantes, que es rápido y no necesita de materiales muy caros y equipo sofisticado.

Para éste estudio se tomaron del Sanatorio Antituberculoso San Vicente a 100 pacientes hospitalizados, con diagnóstico de tuberculosis a quiénes se les extrajo una muestra de sangre (3 cc), luego se efectuó la técnica de la CIE para evaluar la respuesta de anticuerpos precipitantes.

REVISION BIBLIOGRAFICA

ENERALIDADES:

La tuberculosis es conocida desde hace más de 4,000 años en el siglo pasado Villemin demostró que correspondía a un proceso infecto-contagioso. (18)

En el año 1,917 Ranque postula los tres estados de acción tuberculosa. (18)

En estudios realizados, la prueba de Mantoux dió resultados positivos en un alto porcentaje, pero la baciloscopía solo fue positiva en menos del 50% (3,11,15,20,21), sin embargo otros autores encontraron un porcentaje más alto. (16)

En pacientes con tuberculosis pulmonar los estudios realizados para identificar el bacilo, no dan el 100% de positividad por medio de baciloscopía de esputo y/o cultivos. (7)

En años recientes se ha venido utilizando el BCG test, dicho método consiste en aplicar 0.1 ml (0.75) de BCG intradérmico, con jeringa tipo tuberculina y aguja No. 26 ó 27 bisel corto, en la región deltoidea derecha, dicha prueba es leída a las 48-72 horas y la presencia de una pápula, nódulo, induración o pústula mayor de 5mm se toma como positiva. (3,19,22,24)

En otros estudios, se ha dicho que ciertos medicamentos o drogas pueden reducir la induración de la prueba de tuberculina, por lo menos en 1mm (9), dicha prueba puede dar resultados negativos falsos aún en pacientes con tuberculosis y/o que presentan otra patología. (1,25,35)

El BCG test es más sensible que la prueba de Tuberculina según estudios recientes en nuestro medio. (1)

La (OMS) Organización Mundial de la Salud basada en los informes epidemiológicos mundiales sobre esta enfermedad, estimó que en el año 1,974 existían 7,000.000 de pacientes con tuberculosis, el 75% de ellos se

encontraban en los países subdesarrollados. (28)

La erradicación de la tuberculosis en los países subdesarrollados está aún distante debido en gran parte a la escasez de recursos financieros, materiales y físicos. (28)

En el caso de la tuberculosis el único método confirmativo es el cultivo e identificación del agente etiológico ya que, por ejemplo, una placa radiográfica proporciona la imagen de la zona afectada pero en ningún momento confirma una infección por *Mycobacterium*. (28)

El retardo en la administración del tratamiento se asocia con un mal pronóstico, lo que significa que un diagnóstico rápido y un tratamiento adecuado y oportuno son esenciales para aumentar las posibilidades de sobrevida y disminuir las complicaciones y secuelas del padecimiento. (28)

Otra de las formas de tuberculosis extrapulmonar que frecuentemente no es diagnósticada, debido fundamentalmente a la dificultad que ello implica, es la tuberculosis genital. (28)

Klein y Cols. en un estudio de 20 pacientes con esta forma de tuberculosis de los cuales 10 son de origen mexicano hace suponer que la incidencia de la tuberculosis genital en este país no es baja (28). Los métodos clásicos más frecuentes recomendados para el diagnóstico de la tuberculosis genital son la histerosalpingografía, la biopsia endometrial y el cultivo de la sangre menstrual. (28)

Para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar el método que sin duda se utiliza con mayor frecuencia es el de la baciloscopía de esputo; sin embargo, para que esta prueba resulte positiva es necesario que el esputo contenga por lo menos 5,000 bacilos por mm cúbico, ya que de lo contrario los bacilos pueden ser muy pocos y la baciloscopía resultará negativa. Es decir puede haber bacilos en el esputo pero no pueden evidenciarse microscópicamente. (1,28)

Boyd y Marr encontraron que de 100% de las muestras estudiadas con cultivo positivo, sólo el 22% mostraron una baciloscopía positiva. (2)

Los métodos inmunológicos para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, han sido empleados desde hace muchos años y desde entonces han sido reconocidos y aceptados. La especificidad, rapidez y economía de estos métodos los han situado como una ayuda invaluable en prácticamente todos los laboratorios de diagnóstico. Existen un gran número de técnicas serológicas para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. (32)

El criterio de elección para una técnica dada debe ser conformado por varios aspectos: facilidad para su realización, rapidez en la obtención de resultados, economía, sensibilidad, especificidad y disponibilidad de equipo. Hay muchas técnicas de serodiagnóstico que se han empleado para el diagnóstico de la tuberculosis, entre ellas tenemos: la aglutinación de látex de Duboczy y White (8), el anticuerpo fluorescente con antígeno soluble de Toussaint y Cols (36) y otros.

La sensibilidad de cada una de las pruebas indicadas es diferente, entendiendo como sensibilidad la capacidad del método para dar un resultado positivo en individuos que se sabe padecen de la enfermedad. El problema común en la mayoría de ellos es el de la especificidad, que se define como la capacidad de la prueba para dar un resultado negativo en individuos que se conoce no padecen la enfermedad en cuestión. (28)

En 1,976 Rojas-Espinosa y Cols. usaron la técnica de la contrainmunolectroforesis (CIE) para detectar anticuerpos antimicobacterianos en los sueros de pacientes con lepra lepromatosa. Posteriormente, en 1,978, por primera vez Rojas E.O. y Cols. aplicaron el mismo método para el diagnóstico inmunológico de la tuberculosis. (31)

La técnica de la CIE fue descrita por Bon y Swaborn y se basa en que bajo condiciones adecuadas de pH, fuerza iónica del regulador, medio de difusión adecuado y una corriente eléctrica controlada, los antígenos con carga eléctrica negativa migran hacia

el ánodo positivo mientras que los anticuerpos contenidos en la fracción gamma globulina del suero migran en dirección opuesta (contra) como resultado del flujo endosmótico del regulador. De esta manera, si en el medio de reacción existen uno o varios sistemas antígeno-anticuerpo complementario, en un tiempo muy corto se pueden observar una o varias líneas de precipitación en el punto de equilibrio antígeno-anticuerpo. En general, la técnica se considera como una prueba rápida, sensible, confiable y económica para detectar reacciones antígeno-anticuerpo. Es cien veces más sensible y veinte veces más rápida que la clásica doble difusión o método de Ouchterlony. (32)

Algunos autores en estudios recientes encontraron un 76.7% de positividad con extracto antigenógeno de BCG. En relación al grupo control, ninguno (0%) de los sueros dió resultado positivo en la prueba. Es de importancia mencionar que de los 40 individuos usados como control 21 (52%) habían sido vacunados en la infancia con BCG y de ellos, 17 (81%) presentaron reacción positiva a una prueba intradermica con PPD (3 U.I). De los 19 restantes ninguno había sido vacunado con BCG pero 11 de ellos (58%) dieron resultado positivo al PPD. Todos estos individuos hacen un total del 70% del grupo control que dieron reacción positiva al PPD. (31)

En cambio otros autores encontraron que el suero de pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar confirmada bacteriológicamente da resultado positivo a la aglutinación de látex-histoplasma, esto puede implicar una reacción cruzada entre los antígenos de *Mycobacterium* y los antígenos de histoplasma. Chaparas y Cols. también encontraron lo que parece ser reacciones cruzadas entre *Mycobacterium* e *Histoplasma* usando para ello una prueba in vitro de transformación blastoide. (5)

El hecho de que algunos de los sueros de estos pacientes que padecen de tuberculosis reaccionaran con varios de los extractos de especies diferentes de *Mycobacterium* no es sorprendente, ya que es bien conocida la existencia de reacciones cruzadas entre los antígenos de especies diferentes del género *Mycobacterium*. (28)

La CIE se ha comparado con otros métodos y es aparentemente menos sensible que el método de Duboczy y White (90% de positividad en tuberculosis pulmonar y 16.6 % de positividad en pacientes no tuberculosos), es más sensible que el método de Middlebrook y Dubos modificado por Froman y Cols. (8,14)

Bhardwaj y Cols encontraron 50% de positividad en sueros de pacientes con tuberculosis extrapulmonar cuando aplicaron el método de anticuerpo fluorescente con antígeno soluble. (36)

Utilizando la técnica de hemoaglutinación pasiva para buscar anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo contra mycobacterias, Ching-Tsai-Kuo informa de 98% de positividad en líquido cefalorraquídeo de meningitis tuberculosa. (6)

INMUNOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS:

La respuesta inmune se puede presentar en dos formas:

- 1.- Humoral y
- 2.- Celular

La humoral está representada por anticuerpos especialmente de la clase Ig G, que se pueden detectar a partir o después de 10 días y persisten por algunos meses; estas inmunoglobulinas tienen poca utilidad, pues dada la gran cantidad de ceras en la pared del bacilo, afectan las fuerzas de interrelación antígeno-anticuerpo y los anticuerpos se desprenden fácilmente de su pared. (27)

La inmunidad celular es la más importante para el control de la enfermedad, aparece entre 3 y 8 semanas después del estímulo antigenógeno inicial. Al parecer la inmunidad celular tiene como función localizar y eventualmente destruir a los bacilos. (27)

La penetración y multiplicación en el organismo de bacilos vivos determina una sensibilización de la serie linfocitica timodependientes, que posee memoria celular. Estos linfocitos pueden detectar una infección por bacilos de Koch y determinar la transformación de los monocitos en macrófagos activados con

capacidad para destruir los bacilos fagocitados. (1,26)

Mycobacterium tuberculosis produce el factor cordón (ácido trehalosa 6, 6 dimicólico) que inhibe la migración de los macrófagos los cuales se unen entre si formando las células multinucleares (Laghans), formando un granuloma que con el tiempo llega a calcificarse. (27)

En los individuos en los que no hay inmunidad a la tuberculosis, como en los casos de primo-infección, se observa con más frecuencia la generalización de la enfermedad como en el caso de la tuberculosis miliar y meningitis. (27)

Las manifestaciones sintomáticas de la tuberculosis son claramente una función del estado inmunológico del hospedero y los linfocitos T sensibilizados, vienen a ser un arma de doble filo, pues activan a los macrófagos y éstos en su afán de fagocitar y destruir los bacilos generalmente dañan y lesionan los tejidos vecinos por liberación de sus enzimas proteolíticas. (27)

Los llamados mecanismos de protección o defensa se pueden dividir en específicos y no específicos. Estos últimos, durante la evolución de los organismos multicelulares, fueron los primeros en aparecer; y los específicos, de más reciente adquisición, casi siempre reforzan o amplifican la acción de los no específicos. Los mecanismos no específicos actúan fundamentalmente por medio de barreras mecánicas y químicas, por la acción de substancias microbicidas y por la fagocitosis. La mayoría de los microorganismos que logran penetrar al cuerpo son eliminados por estos mecanismos. (10)

En lo que respecta a la fagocitosis, en la actualidad se le puede dividir en varias etapas, desde la adherencia de la célula fagocítica que viaja en la sangre a las paredes del vaso sanguíneo y su salida al tejido, pasando por el fenómeno de quimiotaxis, hasta la endocitosis de los microorganismos y su muerte en el interior de la vacuola digestiva. Es obvio que cualquier falla en el proceso puede tener como consecuencia la no destrucción de los gérmenes y por tanto la posibilidad de la implantación de una infección. (10)

Recientemente se ha encontrado que son tres los principales mecanismos de muerte de un microorganismo en el interior de un fagocito. El primero consiste en la producción de agua oxigenada y superóxidos que tienen acción letal sobre muchos gérmenes. El segundo es una combinación de la acción de la mieloperoxidasa, que con los superóxidos y halógenos (cloro y yodo) activa a éstos para convertirlos en agentes capaces de combinarse con las proteínas microbianas (halogenación) y modificarlas, con la consecuente perdida de la función de estas. El tercer mecanismo se debe a que al endocitarse los gérmenes los lisozomas funden su membrana con la vacuola y descargan su contenido enzimático. Muchas de estas enzimas pueden matar microorganismos y facilitar su digestión. (10)

LA RESPUESTA INMUNE ESPECIFICA:

La respuesta inmune específica involucra tanto mecanismos humorales como celulares y puede ser activa y pasiva. Las células responsables de la especificidad son los linfocitos y estos se pueden subdividir en dos grandes grupos dependiendo del sitio donde fueron capacitados. En las aves, en donde ésta dicotomía está más clara, los linfocitos al igual que en los mamíferos se generan en la médula ósea y de ahí la gran mayoría van a dos órganos linfoideos centrales o primarios, el timo y la bolsa o burza de Fabricio.

Tanto en el timo como en la burza los linfocitos se capacitan y a su egreso pueden ya realizar una serie de funciones muy importantes.

Cuando un microorganismo penetra a los tejidos si no es eliminado rápidamente por los mecanismos no específicos, pueden inducir una respuesta inmune humoral o celular, o ambas. Los mecanismos humorales están fundamentalmente representados por los anticuerpos y el sistema del complemento, que conjuntamente pueden destruir microorganismos por lisis o por la facilitación de la fagocitosis (opsonización). Este tipo de inmunidad es muy importante para gérmenes piógenos y su ausencia o severa disminución condicionan infecciones de repetición por gérmenes tales como estafilococos, estreptococos y neumococos. (10)

El macrófago activado mata gérmenes que ningún otro mecanismo inmunológico (específico y no específico) podía hacerlo, de tal suerte que se convierte en la célula efectora más importante para la eliminación de gérmenes intracelulares como las micobacterias, listerias, levaduras y ciertos protozoarios. (10)

Aquí es importante señalar que la destrucción severa además de afectar negativamente a la inmunidad no específica tiene acción muy importante también sobre la inmunidad celular.

Por otra parte, los mismos mecanismos arriba citados que conducen a la protección del huésped en determinadas circunstancias pueden ocasionar daño en los tejidos (alergia, hipersensibilidad). Este daño ha sido clasificado por los investigadores Coombs y Gell en cuatro tipos: Tipo I o mediado por reaginas; Tipo II con dos variantes, una mediada por anticuerpos citotóxicos y otra cuya acción depende de anticuerpos capaces de estimular células (estimulitorio); Tipo III mediado por complejos inmunes y el tipo IV mediado por células. Además, los fenómenos de hipersensibilidad dependiendo del tiempo en que aparecen y de los efectores que participan (anticuerpos y complemento o células) se clasifican en dos tipos: hipersensibilidad inmediata e hipersensibilidad tardía. (10)

En la tuberculosis es muy probable que participen varios de los tipos de hipersensibilidad indicados anteriormente, pero indudablemente la hipersensibilidad tardía o tipo IV de la clasificación de Coombs y Gell (mediada por células) es una de las que juegan papel principal como mediadora del daño. (10)

En este momento es muy importante señalar que aunque la hipersensibilidad y la protección generalmente coexisten y por lo tanto hay buena correlación entre intradermorreacción y PPD positiva y protección, esto no siempre es así y puede haber protección sin intradermorreacción. En la tuberculosis la hipersensibilidad es un arma de dos filos. Su aparición casi siempre representa que se ha generado un mecanismo de protección, pero por otra parte las lesiones más importantes en este padecimiento, especialmente en la tuberculosis pulmonar, son debidas a este fenómeno. (10)

LA INFECCION POR EL BACILO DE LA TUBERCULOSIS EN EL HUMANO.

En general los gérmenes ácido-alcohol resistentes patógenos como *Mycobacterium tuberculosis* encuentran poca resistencia a su llegada al organismo ya que los mecanismos de defensa no específicos poco pueden hacer contra ellos y la inmunidad humoral tampoco es efectiva. Aquí, es pertinente recordar que los anticuerpos presentes en los pacientes con tuberculosis no protegen y que la transferencia de suero de un animal inmunizado (cobayo) no modifica el curso de una infección iniciada en otro animal, con *M. tuberculosis*. Bajo estas condiciones, la primoinfección por vía aérea se inicia con una multiplicación casi sin restricción del bacilo en los lóbulos inferiores del pulmón. Esta multiplicación bacilar se acompaña de un proceso inflamatorio formado por neutrófilos y monocitos y es muy interesante que casi no hay síntomas ni daño importante. Después de esta etapa los bacilos pueden llegar por vía linfática hasta los ganglios regionales y pasar al torrente sanguíneo. Durante este tiempo hay oportunidad de que los antígenos del bacilo entren en contacto con el sistema inmune y se desarrollen inmunidad e hipersensibilidad contra el germen. (10)

La inmunidad importante es la de tipo celular y bajo estas nuevas condiciones los macrófagos que han sido activados por las linfocinas (MIF) de los linfocitos T empiezan a tener la capacidad de destruir a los bacilos. Esto da como resultado que el bacilo ya no se siga multiplicando y que en un tiempo relativamente corto se reseque el proceso pulmonar así como otros focos extrapulmonares. El foco inicial pulmonar puede calcificarse y dar la imagen característica de la primoinfección tuberculosa. (10)

Cuando un sujeto tuberculino positivo vuelve a entrar en contacto con el bacilo ya sea por reinfección exógena o endógena, el curso del padecimiento es totalmente distinto ya que debido a la hipersensibilidad va a existir daño tisular muy importante. El proceso inflamatorio se caracteriza en este caso por la formación de granuloma seguido de necrosis con calcificación. Esta destrucción de tejido es debida a los fenómenos de hipersensibilidad, fundamentalmente por la muerte de macrófagos y liberación de enzimas que destruyen los tejidos. El proceso puede

terminar en fibrosis pulmonar con calcificación. La reinfección puede facilitarse por cualquier enfermedad debilitante, desnutrición y por la disminución en la respuesta inmune que va aparejada con la edad avanzada. (10)

MATERIALES Y METODOS

A.- Materiales

1.- La población objeto de este estudio fueron 100 pacientes con tuberculosis pulmonar del Sanatorio Antituberculoso San Vicente.

El grupo control fueron 100 estudiantes sanos de la carrera de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

B.- Metodología

1.- A cada uno de los 100 pacientes con tuberculosis se le efectuó una encuesta clínico-epidemiológica como primer paso, luego se les extrajo una muestra de sangre (3 cc) la cual sufrió una serie de pasos antes de evaluar la respuesta de anticuerpos precipitantes*. El mismo proceso sufrió el grupo control, o sea que, a los 100 estudiantes de medicina tomados al azar se les pasó una encuesta clínico-epidemiológica para luego extraerles 3cc de sangre la cual sufrió el mismo proceso que la de los pacientes tuberculosos.

La edad de los pacientes estaba comprendida entre los 15-79 años y la de el grupo control entre los 19-30 años.

LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS (CIE)

Se utilizó BCG perteneciente al Laboratorio Multidisciplinario de la Universidad de San Carlos de Guatemala el cual tenía 5 años de haberse vencido, el BCG se sometió a ultrasonido a fin de romper los bacilos (9.5 Amps). Para este fin se utilizó el sonificador del laboratorio del INCAP. Para evitar un exceso de calentamiento del BCG este proceso se realizó en frío (4 C) a intervalos cortos hasta completar 60 minutos de exposición al ultrasonido. Luego se procedió a centrifugar el BCG (500 cc)** a 10,000 rpm durante 30 minutos, se colectó el sobrenadante y se dializó en frío contra dos cambios de una solución reguladora de

salina borato con pH de 8.6; finalmente se ajustó al extremo antigenico a una concentración de 1.5 mg de proteína por ml por el método de Lowry.

Como soporte para la reacción de la CIE se utilizó agarosa disuelta en regulador (0.7%) de barbituratos con pH 8.6; la agarosa fundida se colocó en láminas de vidrio de 11x9 cms y se dejó solidificar. Luego se hicieron perforaciones de 3 mm de diámetro una en frente de la otra y a una distancia de centro a centro de 10 mm.

En los orificios cercanos al ánodo (positivo) se colocó el antígeno en los orificios cercanos al cátodo (-) se colocó el suero de los pacientes tuberculosos (0.025 ml), los sueros se descomplementaron calentándolos a 60°C para evitar reacciones inespecíficas las placas con los sueros y el antígeno se dejaron reposar por 60 minutos en frío. Después de transcurrido el tiempo se colocaron una cada vez en una fuente de poder para electroforesis y se les pasó una corriente eléctrica de 30 mA durante una hora. Los resultados se pueden observar por medio de bandas de precipitación inmediatamente después de transcurrido el tiempo indicado, algunas bandas se pueden observar mejor dejando las placas en frío durante 8-10 horas; si el resultado es positivo se formaran las bandas de precipitación, estas bandas de precipitación se pueden conservar tñiendo las láminas secas con azul brillante.

* Ver Contrainmunoelectroforesis (CIE).

** Se utilizaron 1,000 ampollas de BCG.

PRESENTACION DE RESULTADOS

mina borrosa con pH de 7.0. Se diluyó la muestra antigénica a una concentración de 100 µg/ml. Se realizó el método de Lowry.

Como soporte para la reacción se usó un gel de agarosa disuelta en refrigerador (0.7%) de lactato amio, en el cual se vierte fundida la colada en líquido de cultivo de 10 ml , que se dejan solidificarse. Tiempo de incubación para desarrollo de la reacción una en frío de 1 hora y otra a temperatura ambiente de 10 min .

En las reacciones de control se observó que el antígeno en concentración de 100 µg/ml se detectó en 78% de los pacientes con tuberculosis pulmonar y se descompuso completamente en 72% y en 100 % en las reacciones específicas con el suero de controles y en 100 % con reposo por 80 minutos en frío. Desarrollo de la reacción se realizó en placas de plástico de $10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ que se colocaron en una caja de polietileno y se cubrieron con una lámina de celofán y se dejaron en un horno de 37°C durante una hora. Los resultados se observan en la figura 1. Las bandas de precipitación se observaron después de 24 horas. El tiempo indicado significa bandas se pueden observar mejor. Repetir las placas en frío durante $8-10$ horas. Los resultados se presentan al formarse las bandas de precipitación. Se considera que si las bandas se pueden observar bien se considera que es positivo.

* Una tira de celofán adherida a la placa.

** Se estimaron 1.000 en cada uno de los 100.

CUADRO No. 1

RESULTADOS Y PORCENTAJE POR CONTRAINMUNOELCTROFORESIS DE 100 PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR

	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NUMERO	78	22	100
PORCENTAJE	78%	22%	100%

FUENTE: Datos recabados por el autor, "Sanatorio Anti-tuberculoso San Vicente y Laboratorio Multidisciplinario", Facultad de CIENCIAS MEDICAS, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1985.

CUADRO No. 2

**RELACION ENTRE CULTIVO Y RESULTADO DE CIE
DE 100 PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR**

CULTIVO	POSITIVO	NEGATIVO
(+)	37	7
(-)	10	5
(*)	31	10
TOTAL	78	22

FUENTE: Datos recabados por el autor, "Sanatorio Anti-tuberculoso San Vicente y Laboratorio Multidisciplinario", Facultad de CIENCIAS MEDICAS, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1985.

(+): Positivo, (-): Negativo, (*): NO TENIA EL RESULTADO.

CUADRO No. 3

**RELACION ENTRE LA BACILOSCOPIA DE ESPUTO Y
EL RESULTADO DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS
DE 100 PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR**

BACILOSCOPIA DE ESPUTO	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
(+)	63	14	77
(-)	4	4	8
(*)	11	4	15
TOTAL	78	22	100

FUENTE: Datos recabados por el autor, "Sanatorio Anti-tuberculoso San Vicente y Laboratorio Multidisciplinario, Facultad de CIENCIAS MEDICAS, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1985.

(+): Positivo, (-): Negativo, (*): NO TENIA EL RESULTADO.

CUADRO No. 4

RELACION ENTRE LA PRESENCIA O AUSENCIA DE CICATRIZ DE BCG Y EL RESULTADO DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS DE 100 PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR.

CICATRIZ BCG	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
SI	24	9	33
NO	54	13	67
TOTAL	78	22	100

FUENTE: Datos recabados por el autor, “Sanatorio Anti-tuberculoso San Vicente y Laboratorio Multidisciplinario”, Facultad de CIENCIAS MEDICAS, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1985.

CUADRO No. 5

RELACION ENTRE LA PRESENCIA O AUSENCIA DE CICATRIZ DE BCG Y EL RESULTADO DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS DE 100 ESTUDIANTES SANOS DE LA CARRERA DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

CICATRIZ DE BCG	CONTRAINMUNOELECTROFORESIS NEGATIVA
SI	93
NO	7
TOTAL	100

FUENTE: Datos recabados por el autor, “Laboratorio Multidisciplinario”, Facultad de CIENCIAS MEDICAS, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1985.

ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

La muestra del presente estudio estuvo constituida por 100 pacientes hospitalizados y con diagnóstico de tuberculosis. El grupo control estuvo constituido por 100 estudiantes sanos de la carrera de Medicina de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Tanto a la muestra como al grupo control se le extrajo 3cc de sangre, la cual después de centrifugarla y extraido el suero se almacenó a -4°C hasta ser utilizada, como antígeno se utilizó BCG.

CUADRO No. 1

Como se puede apreciar en el presente cuadro, se obtuvo el 78% de positividad por CIE en 100 pacientes con diagnóstico de tuberculosis, lo cual concuerda con datos de otros autores. Quesada Pascual (28) encontró el 75% de positividad en pacientes con tuberculosis pulmonar y Rojas Espinosa (31) usando la misma técnica encontró el 76.7% de positividad, datos similares obtenidos en nuestro estudio.

Estos datos nos indican que la CIE es una prueba muy sensible para evaluar anticuerpos precipitantes en pacientes tuberculosos.

CUADRO No. 2

En este cuadro se hace la relación de los resultados del cultivo con la CIE. Del total de 100 muestras de las cuales 78 fueron positivas por CIE, el 44% tenían cultivo positivo, lo cual es muy bajo para un centro que está destinado a diagnosticar y tratar este tipo de enfermedad. Pero aún más crítico es que el 41% de los pacientes no tenía en su expediente el resultado del cultivo el cual es un examen de rutina en estos centros. El 15% de los pacientes tenían cultivo negativo y 10 de estos resultaron positivos por CIE lo cual es indicio de foco extrapulmonar.

Rojas Espinosa (31) en su estudio encontró que el 47.3% tenía cultivo positivo y el 13% con cultivo negativo.

CUADRO No. 1

CULTIVO	CIE	CULTIVO
SI	86	SI
NO	14	NO
TOTAL	100	TOTAL

El primer dato es similar al obtenido en nuestro estudio, en el segundo dato este autor encontró un porcentaje más bajo que el nuestro.

CUADRO No. 3

En este cuadro se hace la relación entre la baciloscopía de esputo y la CIE. Aquí se observa que tanto la baciloscopía de esputo como la CIE dieron resultados positivos similares, 77% y 78% respectivamente. Pero en este caso a como en el cuadro anterior se observa que el 15% de los pacientes no tenían el resultado de la baciloscopía.

Pero estos pacientes tenían diagnóstico de tuberculosis y con tratamiento antituberculoso con tres drogas.

En la bibliografía consultada no se encontraron datos con respecto a la baciloscopía de esputo, esta relacionada a la contrainmunoelectroforesis.

CUADRO No. 4

En el cuadro No. 4 se relaciona la presencia o ausencia de cicatriz de BCG con la CIE. El 67% de los pacientes tuberculosos no tenían cicatriz de BCG, de los cuales el 54% tuvieron la CIE positiva. Esto nos demuestra una vez más que la vacuna BCG no protege en el 100% de los casos.

CUADRO No. 5

El cuadro número 5 que corresponde al grupo control de 100 estudiantes sanos de la carrera de Medicina de la Universidad de San Carlos de Guatemala se hace la relación de la presencia o ausencia de cicatriz de BCG con la CIE, obteniéndose un 93% de estudiantes vacunados y 100% negativos por CIE. Rojas Espinosa (31) y Quesada Pascual (28) en sus estudios encontraron un 50% de vacunados con BCG. Esto nos demuestra lo específico de la prueba y lo cual concuerda con estudios extranjeros. (28,31)

CONCLUSIONES

- 1.- La prueba de la contrainmunoelectroforesis es eficaz como medio diagnóstico de infección tuberculosa.
- 2.- El 15% de la muestra tenía cultivo negativo y de estos, 10 pacientes resultaron positivos por CIE, lo que demuestra que estos pacientes presentan enfermedad activa.
- 3.- El BCG vencido puede utilizarse como antígeno en la prueba de contrainmunoelectroforesis.
- 4.- La técnica de la contrainmunoelectroforesis es un medio diagnóstico económico, sencillo y que no requiere de personal especializado para efectuarla.

RECOMENDACIONES

- 1.— Efectuar la contrainmunoelectroforesis en aquellos casos en que los métodos bacteriológicos no sean aplicables y se sospeche enfermedad tuberculosa.
- 2.— Efectuar estudios en otros grupos y otras formas de infección tuberculosa.
- 3.— Evaluar lo específico de la contrainmunoelectroforesis efectuando estudios en pacientes con infecciones a especies diferentes del género *Mycobacterium*.
- 4.— Implementar el uso de la contrainmunoelectroforesis en los servicios de Salud, destinados al diagnóstico de la tuberculosis.

RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad que causa elevada morbi-mortalidad en nuestro país y continua siendo un problema de salud importante.

El diagnóstico de la tuberculosis es uno de los problemas en el control de esta enfermedad, el motivo de este estudio fue CIE y observar su efectividad en el diagnóstico de dicha enfermedad.

Los resultados fueron los siguientes: 78% de sueros positivos por contrainmunoelectroforesis de pacientes con tuberculosis pulmonar y ninguno (0%) negativos del grupo control, que fueron 100 estudiantes sanos.

Otros datos importantes de este estudio es que el 41% de los pacientes tuberculosos no tenían el informe de cultivo en su expediente en cambio la baciloscopía de espuma fue positiva en el 77% de los casos, dato muy cercano al obtenido por CIE (78%).

Con respecto a la vacunación con BCG, el 67% de los pacientes con tuberculosis no tenían la cicatriz del BCG en contra del 93% del grupo control que si la tenían.

Por lo cual creemos que este método es económico, seguro y efectivo para el diagnóstico de la tuberculosis en nuestro medio y recomendamos su uso en las entidades de salud pública.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arauz Mendoza, D. *BCG Test y Tuberculina como medios diagnósticos de tuberculosis.* Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1983. 44p
2. Boyd J.C. and J.J. Marr. Decreasing reability of acid-fast smear technique for detection of tuberculosis. *Ann Intern Med* 1975 Apr; 82(4):489-92
3. Bustamante Mays, C.R. *Diagnóstico de tuberculosis pulmonar por baciloscopía de esputo.* Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1978. 45p.
4. Celada Quezada, R.E. *Estudio comparativo de dos técnicas de vacunación BCG y su viraje tuberculínico.* Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1975. 40p
5. Chaparas, S.D. et al. Correlation of human skin reactivity with lymphocyte transformation induced by mycobacterial antigens and histoplasmin. *Am Rev Respir Dis* 1979 Jan; 101(1):67-73
6. Ching-Tsai-Kuo. The diagnosis of tuberculous meningitis by immunologic reaction of cerebrospinal fluid. *Am Rev Respir Dis* 1969 Oct; 100(4):565-68
7. Diaz Reyna, O.M. *Baciloscopía vrs rayos x en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar.* Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala. 1981. 38p
8. Duboczy B.C. and F.C. White. Futher studies with the direct latex agglutination test in tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1969 Sep; 100(3):364-71
9. Espina Ruano, R. *Efecto del ácido acetilsalicílico sobre la prueba de tuberculina.* Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala. 1979. 38p.

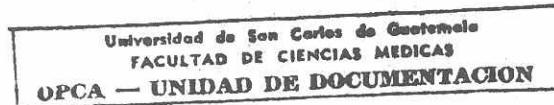
10. Estrada Parra, S. La respuesta inmunológica y la tuberculosis. *Salud Pública Mex* 1983 jul-ago; 25(4):403-9
11. Flores Sandoval, F.A. *Características diagnósticas de la baciloscopía de esputo en tuberculosis pulmonar*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1978. 51p
12. Frankel, Sam et al. *Clinical laboratory methods and diagnosis*. 7th. ed. Saint Louis, Mosby, 1970. t.1 (pp. 641-42)
13. Frankel, Sam, et al. *Clinical laboratory methods and diagnosis*. 7th. ed. Saint Louis, Mosby, 1970. t.2 (p. 1474)
14. Gálvez Braham, F. *Diagnóstico de tuberculosis en el año 1977 en los puestos de salud del Departamento de Jalapa*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1978. 39p
15. González Bustamante, E.F. *La tuberculosis como problema socio económico y su diagnóstico, Municipio San Jacinto Chiquimula*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1977. 63p
16. Granados Gallardo, A. *Métodos bacteriológicos más comunes para el diagnóstico de tuberculosis*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1983. 38p
17. Guatemala. Dirección General de Servicios de Salud. División de Tuberculosis. *Memoria anual de Labores*. 1983 20p (p 20)
18. Gutiérrez Hernández, W. L. *Baciloscopía como método diagnóstico en la tuberculosis pulmonar*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1978. 48p

19. Illingworth, R.S. and Lorber, J. Miliary meningeal tuberculosis; difficulty in the diagnosis. *Lancet* 1956 Sept 29; 2(6994):646-49
20. Lau Chang, G. *Demostración bacteriológica e incidencia de tuberculosis en sintomático respiratorio*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1978 51p
21. León Villagrán, O.A. de. *Diagnóstico de tuberculosis en Zapotitlán, Jutiapa 1977*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1978. 51p
22. Lothe, P.A. et al. Evaluation of BCG as a diagnosis test in tubercular meningitis. *Indian Pediatr* 1973 Jul; 10 (7):419-21
23. Martínez Durán, C., *¿Qué es la tuberculosis? su historia en Guatemala y el mundo*. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas, Fase II, 1976. 4p (Mimeografiado)
24. Oliva González, E.A. *Uso de BCG como una nueva prueba para el diagnóstico de tuberculosis*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1978. 55p
25. Ovando Luna, A. *Hipersensibilidad a la tuberculina en pacientes vacunados con BCG al nacer y que actualmente presentan cualquier patología*; trabajo realizado en 10 niños mayores de 2 meses de edad, del Hospital General San Juan de Dios. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1982. 50p
26. Pastor Cojulum, C.A. *diagnóstico de tuberculosis pulmonar en 116 niños vacunados con BCG*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1981. 42p

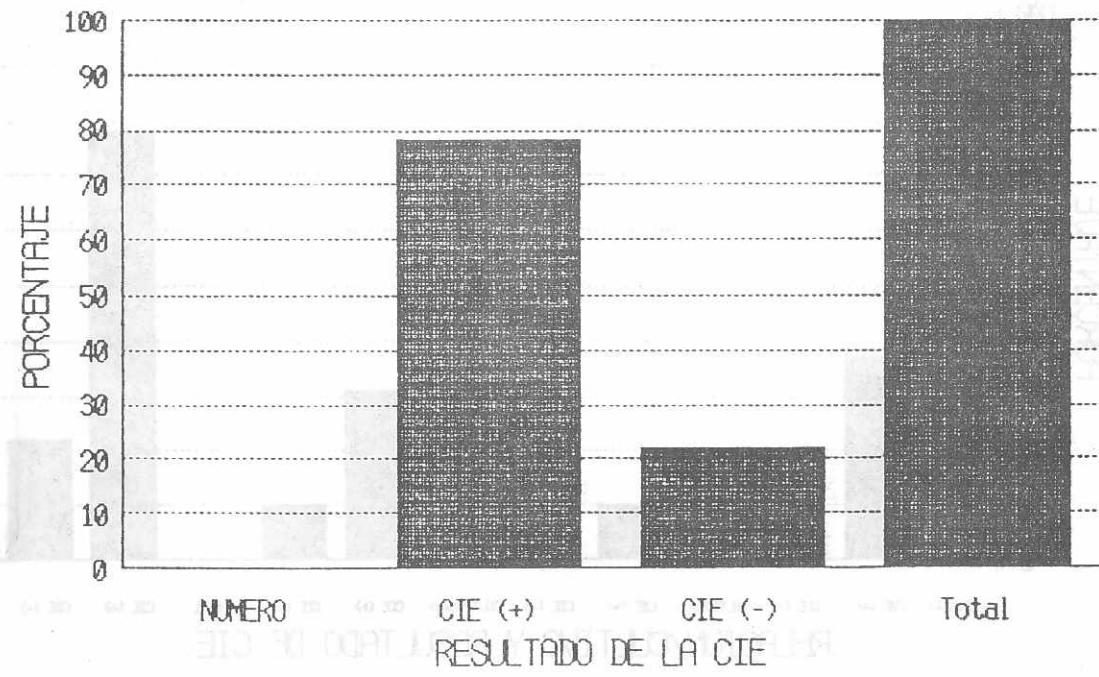
27. Pinto, M.R. *Inmunología de la tuberculosis*. Guatemala, Universidad de San Carlos, Fase II, 1983, 3p. (Mimeoografiado)
28. Quesada Pascual, F. Diagnóstico inmunológico de la tuberculosis. *Salud Pública Mex* 1983 Nov-Dic; 35(6):601-11
29. Reneau Gaitán, L.N. *Tuberculosis pulmonar*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1981. 55p
30. Rivas Murga, M. *El valor diagnóstico de la prueba de la tuberculina en una población rural menor de 5 años de edad*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1977. 37p
31. Rojas, E. O. et al. Antimycobacterial antibodies in tuberculosis. I. The counterimmunoelectrophoresis (CIE) test. *Rev Invest Clin (Méjico)* 1978 abr-jun; 30(2):121-26
32. Rytel, M. W. Rapid diagnostic methods in infections diseases. *Adv Intern Med* 1975; 20:37-60
33. Santizo Rosal, C. W. *valor de baciloscopía positiva de acuerdo al tiempo de recolección del esputo*; estudio retrospectivo de muestras baciloscópicas durante los meses de Marzo-Abril de 1982, en el Hospital Rodolfo Robles, Quetzaltenango. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1982. 46p
34. Sentíes, V. R. y G. Cano P. La vacunación indiscriminada con BCG en México. *Salud Pública Mex* 1971 sep-oct; 13(5):677-82

35. Son Batz, A. E. *La prueba de tuberculina en la tuberculosis pulmonar confirmada*. Tesis (Médico y Cirujano)—Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1980. 43p
36. Toussaint, A. J. et al. A soluble antigen fluorescent antibody test in serodiagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infections. *Amer J Clin Pathol* 1969 Dec; 52(6):708-13

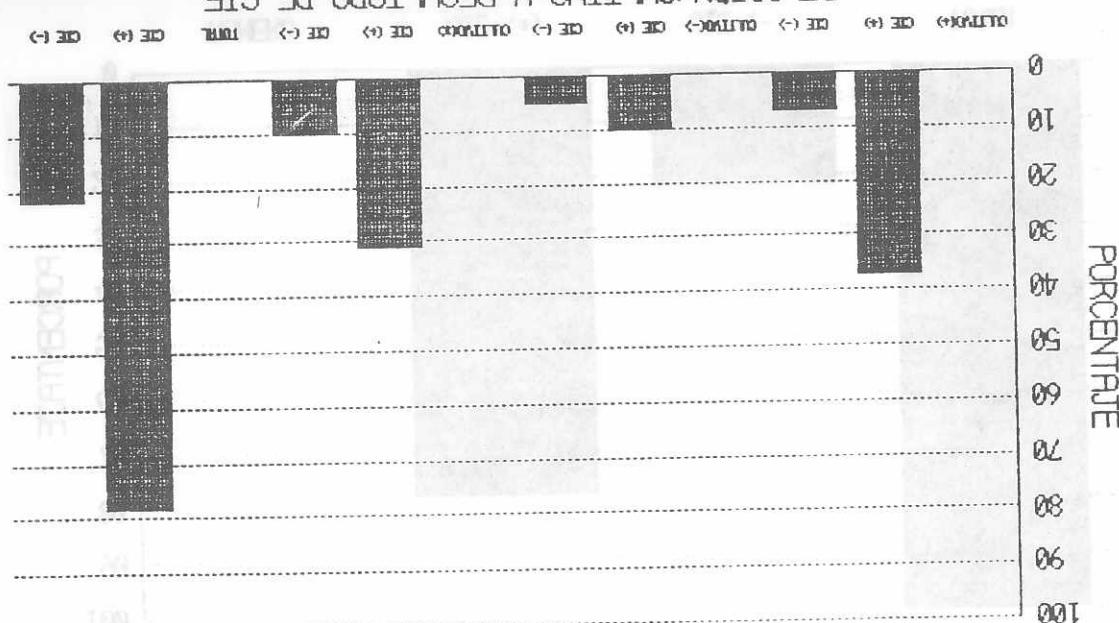
*Do Bo
E Sugardelos*



GRAFICA NUMERO 1 DEL CUADRO NUMERO 1.

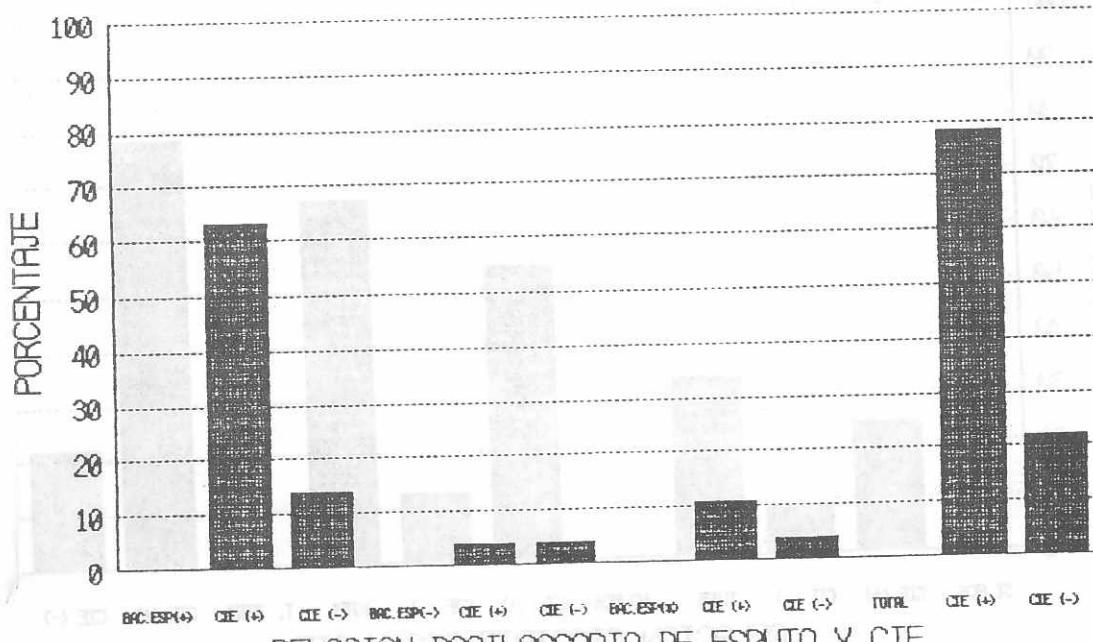


RELACION/CULTIVO Y RESULTADO DE CIE.



GRAFICA NUMERO 2 DEL CUADRO NUMERO 2

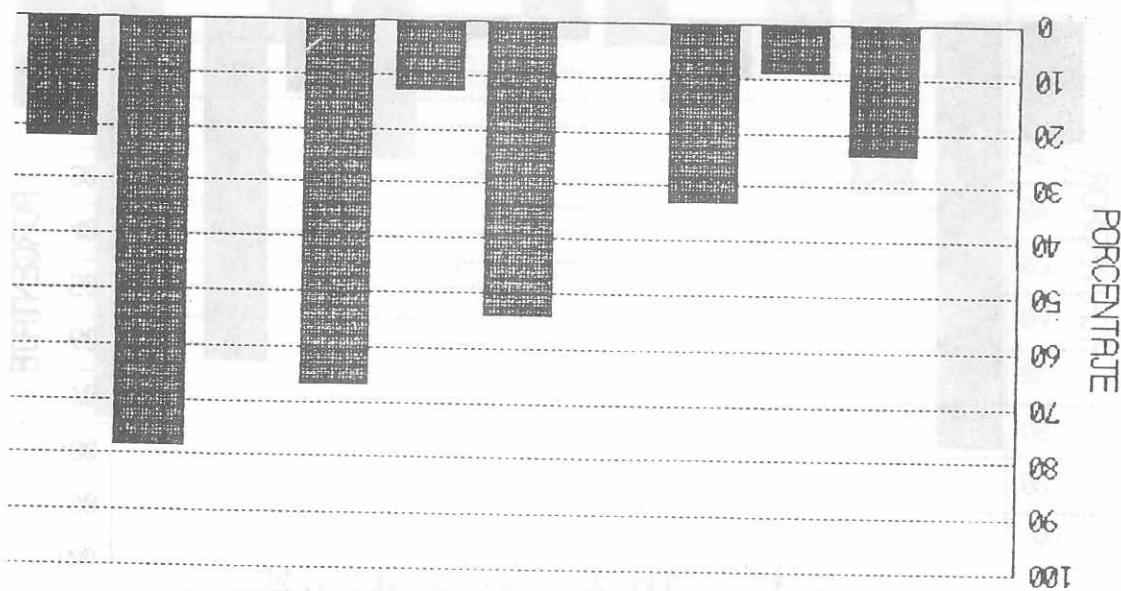
GRAFICA NUMERO 3 DEL CUADRO NUMERO 3.



RELACION BACILOSCOPIA DE ESPUTO Y CIE.

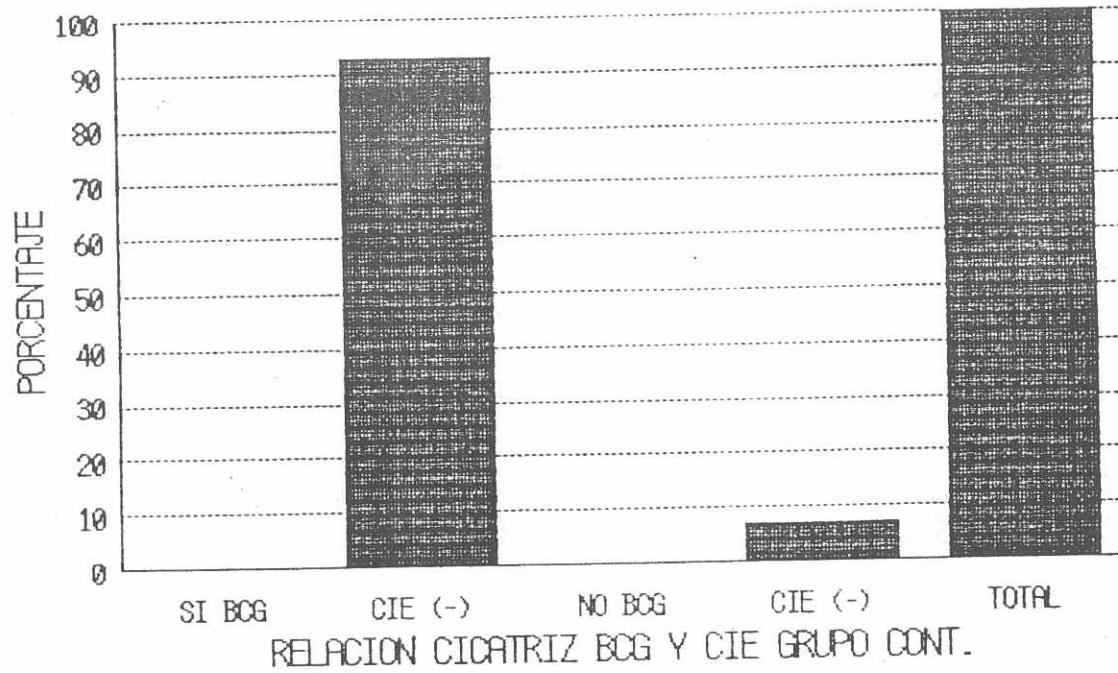
RELACION CICATRIZ BOG Y CIE.

SI BOG CIE (+) CIE (-) TOTAL NO BOG CIE (+) CIE (-) TOTAL T. TOTAL CIE (+) CIE (-)

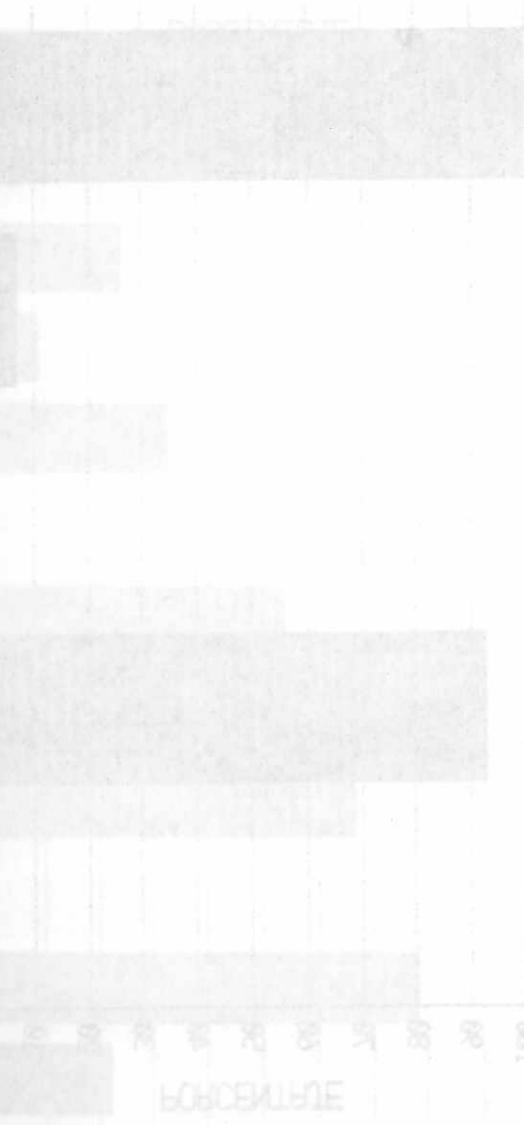


GRAFICA NUMERO 4 DEL CUADRO NUMERO 4.

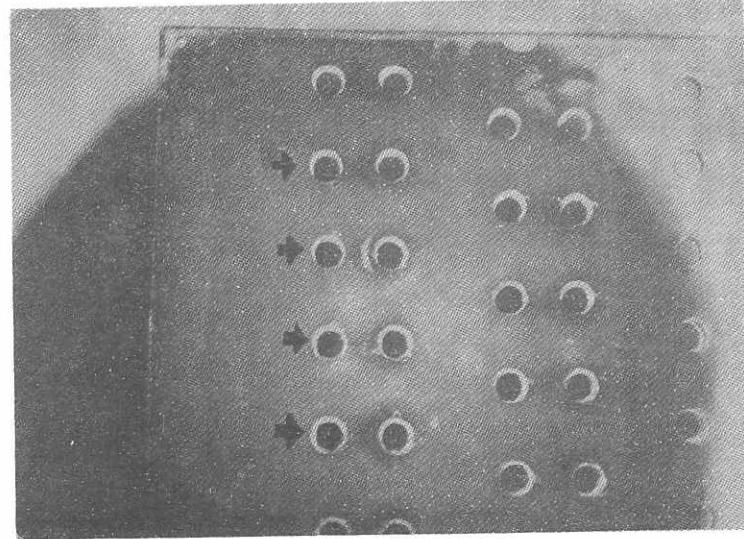
GRAFICA NUMERO 5 DEL CUADRO NUMERO 5.



RELACION CICATRIZ BOG Y CIE GRUPO CONT.

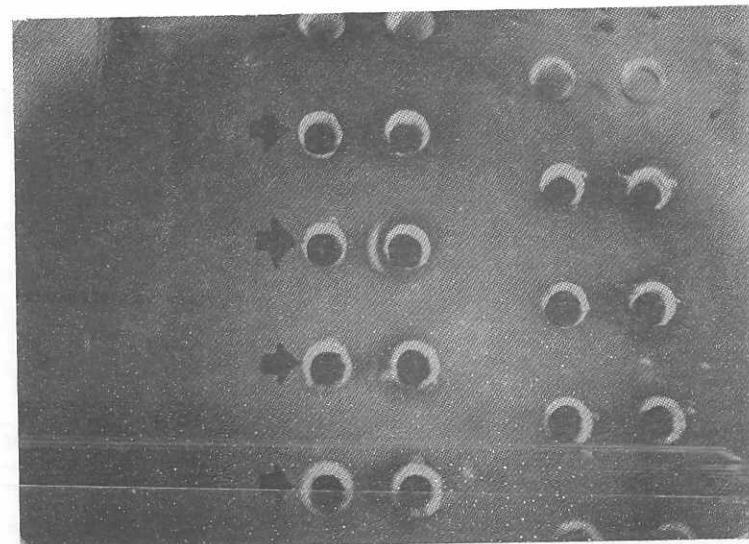


2. GRÁFICO DE LA RELACION ENTRE ALTIBAROSA Y PRECIPITACION.

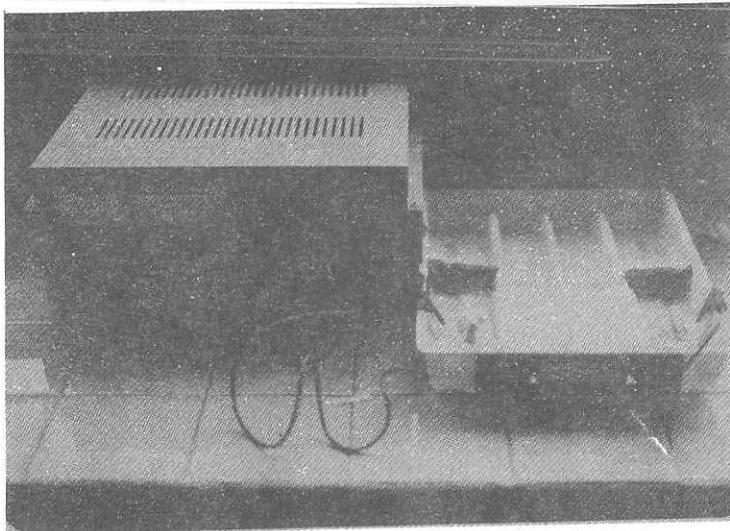


Fotografias numero 1 y 2.

Señaladas por las flechas se observan las bandas de precipitación, dichas bandas solo se deben de formar si el resultado es positivo.

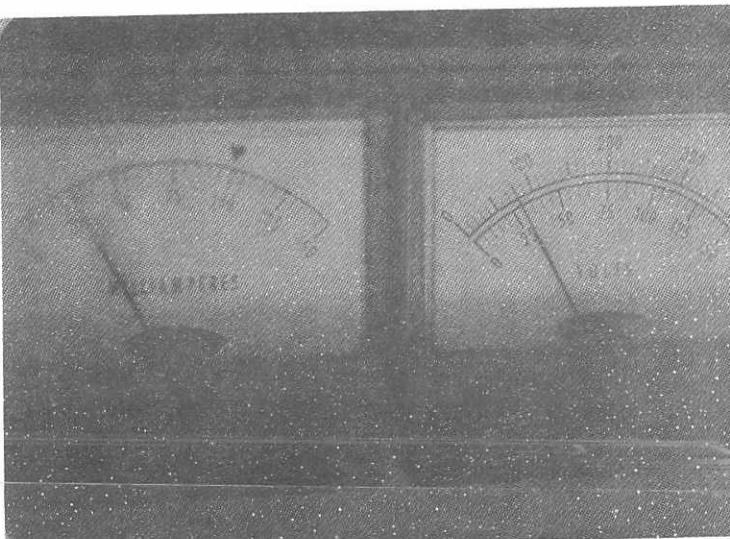


10 y 1 ósmosi, en la parte
superior se observa la fuente de poder para
electroforesis utilizada en el estudio, abajo se observa la
cantidad de electricidad utilizada (30 mA), si se pasa de
estos límites se corre el riesgo de que se funda la agarosa.



Fotografias numero 3 y 4.

En estas dos fotografías se observa la fuente de poder para electroforesis utilizada en el estudio, abajo se observa la cantidad de electricidad utilizada (30 mA), si se pasa de cantidad de electricidad utilizada (30 mA), si se pasa de estos límites se corre el riesgo de que se funda la agarosa.



ENCUESTA CLINICO-EPIDEMIOLOGICA

PACIENTES

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Procedencia: _____ Estado Civil: _____

Vacuna BCG (edad): _____ Cicatriz: Si _____ No _____

Inicio primeros síntomas: _____

Fecha de ingreso: _____

Tratamiento: _____ Inicio: _____

N de contactos: _____

N casos similares: _____

Baciloscopía de esputo.

Fecha: _____ Resultado: _____

Rayos x de Tórax.

Fecha: _____ Resultado: _____

ENCUESTA CLINICO-EPIDEMIOLOGICA

Grupo Control

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Procedencia: _____ Residencia: _____

Escolaridad: _____ Estado Civil: _____

Vacuna BCG (edad): _____ Cicatriz; Si: _____ No: _____

Antecedentes familiares: _____

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS

DE LA SALUD

(C I C S)

CONFORME:

M. Pinto
Dr. Mario R. Pinto,
Col. 1781 ASESOR,



SATISFECHO:

Carmen Vilagrán de Tercero
Dr. Carmen Vilagrán de Tercero
REVISOR.
Dra. Carmen Vilagrán de Tercero
MEDICO Y CIRUJANO
Colegiado 3177

APROBADO:

DIRECTOR DEL CICS



M. Moreno
Dr. Mario René Moreno Cambaya
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS.
U.S.A.C.

Guatemala, 5 de Agosto de 1985

Los conceptos expresados en este trabajo
son responsabilidad únicamente del Autor.
(Reglamento de Tesis, Artículo 44).