

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS**

**DETERMINACION SERIADA DE ANTIGENO DE
MICOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN SALIVA
Y SANGRE DE PACIENTES CON
TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSO**

*Estudio prospectivo realizado en 30 pacientes
adultos con tuberculosis pulmonar activa del
Sanatorio Antituberculoso "San Vicente"
durante los meses abril-mayo de 1,993.*

TESIS

*Presentada a la Honorable Junta Directiva
De La Facultad De Ciencias Médicas De La
Universidad De San Carlos De Guatemala.*

POR

RUDY ESTUARDO GALINDO SANCHEZ

En el acto de investidura de:

MEDICO Y CIRUJANO

GUATEMALA. JULIO DE 1,993

DL
05
7(6688)

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social



Sanatorio Antituberculoso "San Vicente"

Guatemala, C. A.

Fianza la Barbenza Zona 7.
Tel

Nombre
Ed. JAFV/ecra.

29 de junio de 1,993.


Doctor
Edgar de León Barillas
Oficina de Tesis
Facultad de Ciencias Médicas
Edificio.

Doctor De León:

Por este medio me dirijo a usted, para informarle que he revisado el trabajo de investigación titulado "DETERMINACION SERIADA DE ANTIGENO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN SALIVA Y SANGRE DE PACIENTES CON TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSO", elaborado por el Bachiller Rudy Estuardo Galindo Sanchez, carnet No. 8613009.

Considero que el trabajo, elaborado por Br. Galindo Sanchez cumple con los requisitos para su aprobación, ya que está basado en las normas científicas de una investigación.

Atentamente,


Dr. Juan Antonio Ferrifo Ventura
Jefe del Departamento de Docencia e
Asesor Investigación

Dr. Antonio Ferrifo Ventura
MEDICO Y CIRUJANO
Colegiado No 5252

C.C.
Depto. de Docencia
Interesado

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central





FORMA C

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Guatemala, 2 de julio
DIF-126-93

de 1993

Director Unidad de Tesis
Centro de Investigaciones de las Ciencias
de la Salud - Unidad de Tesis

Se informa que el: BACHILLER RUDY ESTUARDO GALINDO
Título o diploma de diversificado, Nombres y apellidos
SANCHEZ Carnet No. 86-13009
completos

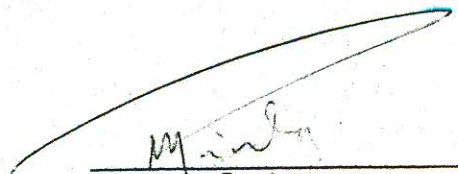
Ha presentado el Informe Final del trabajo de tesis titulado:
"DETERMINACION SERIADA DE ANTIGENO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN SALIVA Y SANGRE
DE PACIENTES CON TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSO"

y cuyo autor, asesor(es) y revisor nos responsabilizamos de los conceptos
metodología, confiabilidad y validez de los resultados, pertinencia de
las conclusiones y recomendaciones, así como la calidad técnica y cien-
tífica del mismo, por lo que firmamos conformes:


Firma del estudiante


Asesor
Firma y sello personal

Dr. Antonio Ferriño Ventura
MEDICO Y CIRUJANO
Colegiado No 5252


Revisor
Firma y sello

Registro Personal 8827

Mario Roberto Pineda
MEDICO Y CIRUJANO
COLEGIADO No. 1781

EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FORMA D

HACE CONSTAR QUE:

El Bachiller: RUDY ESTUARDO GALINDO SANCHEZ

Carnet Universitario No. 86-13009

Previo a optar al Título de Médico y Cirujano, en su Examen General
Público ha presentado el Informe Final del trabajo de tesis titulado:
"DETERMINACION SERIADA DE ANTIGENO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN
SALIVA Y SANGRE DE PACIENTES CON TRATAMIENTO ANTI-TUBERCULOSO"

Avalado por asesor(es) y revisor, por lo que se emite la presente
ORDEN DE EXERCICIO

Guatemala, 22 de julio de 1993

Dr. Edgar R. De León Barillas
Por Unidad de Tesis

Dr. Raúl A. Castilla Rodas
Director del Centro de Investigaciones
de las Ciencias de la Salud

IMPRIMASE:



Dr. Jafeth Ernesto Cabrera Franco
D E C A N O

RECONOCIMIENTO

A: UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A: Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A: Sanatorio Antituberculoso " San Vicente ".

A: Personal del Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a Doña Ruth.

A: Mi Asesor.
Dr. Juan Antonio Ferriño Ventura.

A: Mi Revisor.
Dr. Mario Roberto Pinto Mancilla.

INDICE

I.	INTRODUCCION.....	1
II.	DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA..	2
III.	JUSTIFICACION.....	3
IV.	OBJETIVOS.....	4
V.	REVISION BIBLIOGRAFICA.....	5
VI.	HIPOTESIS.....	17
VII.	MATERIALES Y METODOS.....	18
VIII.	PRESENTACION DE RESULTADOS.....	23
IX.	ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS..	30
X.	CONCLUSIONES.....	33
XI.	RECOMENDACIONES.....	34
XII.	RESUMEN.....	35
XIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	36
XIV.	ANEXOS.....	39

I. INTRODUCCION

La tuberculosis pulmonar es una enfermedad infecciosa crónica frecuente en los países subdesarrollados y que anualmente absorbe grandes cantidades de recursos económicos para el tratamiento de los pacientes que la padecen, pero ésta enfermedad en lugar de disminuir su incidencia, a aumentado a través del tiempo gradualmente en nuestro medio, ya que a pesar de los programas implantados para su erradicación, aún continua dentro de las diez primeras causas de morbilidad general de nuestro país, por lo que el desarrollar técnicas más sencillas y específicas de diagnóstico que las existentes, se ha constituido una necesidad para los países subdesarrollados, esta misma realidad ha llevado a los científicos a ensayar nuevos métodos de estudio y técnicas modernas que puedan ser útiles, sencillas y poco invasivas que ayuden a la detección temprana de la tuberculosis. Este estudio está basado en el Método de ELISA MODIFICADO, como técnica para la detección de antígeno de Mycobacterium tuberculosis, tanto en saliva como en suero sanguíneo de pacientes con tuberculosis pulmonar activa y que se encuentran con tratamiento antituberculoso, la muestra usada fue de 30 pacientes con diagnóstico confirmado por baciloscopía de esputo y radiografías, a quienes se les tomaron muestras seriadas cada semana durante dos meses tanto de saliva como de sangre para seguir el patrón y evolución de los títulos del antígeno micobacteriano, los resultados obtenidos fueron interpretados a través de los Índices de Densidad Óptica (IDO) de cada una de las muestras procesadas con la técnica de ELISA MODIFICADO y leídos por un espectrofotómetro electrónico, siendo así que los valores superiores a una densidad óptica de 0.337 en suero sanguíneo y 0.320 en saliva fueron considerados positivos para el estudio, logrando determinar que realmente el antígeno micobacteriano, disminuye inversamente proporcional al tiempo de tratamiento, lo que corrobora nuestra hipótesis, observándose también que el descenso fué más lento en la saliva. Por la forma de haber seleccionado la muestra (no aleatoria) los resultados solamente son aplicados al presente estudio.

II. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

La tuberculosis es una enfermedad persistente en los países subdesarrollados como el nuestro, en donde existen factores como: Bajo nivel socioeconómico, malas condiciones higiénicas, desnutrición y otras enfermedades concomitantes, que contribuyen en la predisposición y adquisición de esta enfermedad. La Organización Mundial de la Salud a prestado ayuda a los países tercermundistas como el nuestro, para crear programas que erradiquen ésta enfermedad y que proporcionen también los tratamientos específicos, pero todos estos esfuerzos por encontrar nuevos métodos de estudio han sido infructuosos. Actualmente la ciencia médica se ha apoyado en la inmunología moderna y en sus técnicas nuevas, usadas para la detección de antígenos, las pruebas van desde las más baratas hasta las más caras y al igual que desde las más sencillas hasta las más sofisticadas; dentro de las más baratas y sencillas se encuentra el Método Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (7,8,10), éste método es altamente específico, sencible, rápido, no es sofisticado y es de gran ayuda diagnóstica en el estudio de la tuberculosis.

El interés del presente estudio estuvo enfocado en determinar la presencia del antígeno micobacteriano que se evidencia con el Método de ELISA; se sabe que los pacientes con tuberculosis pulmonar presentan títulos altos de antígenos, también este estudio nos ayudo a demostrar el comportamiento del antígeno después de iniciar la quimioterapia antituberculosa y evaluar también la efectividad del tratamiento empleado en pacientes de la muestra, durante la realización del presente estudio.

III. JUSTIFICACION

Desde hace aproximadamente 40 años en nuestro país se han tratado de introducir métodos de diagnóstico para muchas enfermedades, pero por la precaria situación económica anterior y actual del país, no ha permitido utilizar pruebas de laboratorio caras, que no están al alcance de toda la población en los centros asistenciales existentes, pero la necesidad de mejorar los diagnósticos hace que se haga un esfuerzo para introducir métodos de diagnóstico específicos, sensibles, accesibles y de fácil realización; por lo que se ha establecido que el método de ELISA MODIFICADO es idóneo para el estudio y determinación del antígeno micobacteriano en nuestro medio.

En el presente estudio se puede observar la efectividad y facilidad del método empleado en la detección del antígeno de Mycobacterium tuberculosis, en sangre y saliva de pacientes con tuberculosis pulmonar activa.

Este estudio también permitió evaluar la efectividad de los esquemas de tratamientos acortados de uso actual, en todos los centros asistenciales del país, todo lo anteriormente mencionado se fue correlacionando con la mejoría clínica y objetiva que cada uno de los pacientes fue presentando durante los dos meses que duró la presente investigación en el Sanatorio Antituberculoso "San Vicente".

IV. OBJETIVOS

A. GENERAL:

1. Determinar el patrón del antígeno de *Mycobacterium tuberculosis* en sangre y saliva de pacientes con tratamiento de tuberculosis.

B. ESPECIFICOS:

1. Identificar:
 - a) En que tiempo desaparece el antígeno micobacteriano en el suero sanguíneo de los pacientes con tuberculosis pulmonar activa, con tratamiento quimioterapéutico respectivo.
 - b) En que tiempo desaparece el antígeno micobacteriano en la saliva de los pacientes con tuberculosis pulmonar activa con tratamiento quimioterapéutico respectivo.
2. Determinar cual de los dos tipos de muestras evidencia ser más sensible y efectivo para el control y seguimiento micobacteriano en pacientes con tratamiento antituberculoso.
3. Comparar si los resultados obtenidos por el Método de ELISA MODIFICADO en las muestras de suero sanguíneo y saliva de pacientes con tuberculosis pulmonar activa, se relacionan con la mejoría clínica que presente el paciente al final del estudio.

V. REVISION BIBLIOGRAFICA

LA TUBERCULOSIS

DEFINICION:

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica, que es causado por especies de micobacterias del complejo de tuberculosis, principalmente de los tipos Mycobacterium tuberculosis y el Mycobacterium bovis en el hombre, aunque en la actualidad se han reportado casos de infección por otras micobacterias como la Abium, Marinum, etc.; principalmente se ven afectadas las personas inmuno deficientes como lo es en el caso del Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida. Los pulmones son los órganos que primeramente se ven afectados, pero la enfermedad puede diseminarse por vía hematógica a cualquier otro órgano del cuerpo (4, 8, 15, 27).

HISTORIA:

Esta enfermedad es tan antigua como la misma humanidad, ya que los hindúes escriben en sus Vedas sobre ella hace 6,000 años antes de Cristo, de igual forma lo han hecho los Griegos en las inscripciones de las Tablas Babilónicas (8, 18, 25); ellos también fueron los primeros en explorar enfermos y recoger datos de sus síntomas e Hipócrates fue quien la llamara Tisis; Galenos consideró a la tuberculosis como una enfermedad que provocaba úlceras en el pulmón, creyó que el tubérculo era un tumor, habló también de las enfermedades que en su época se transmitían de un sujeto a otro, mencionando a la Tisis entre estas. El tiempo siguió su curso y esta enfermedad se encuentra arraigada al hombre durante la historia de su existencia; cuando se produjo la Revolución Industrial surge también las grandes ciudades y con ellas las malas condiciones higiénicas en la población, el hacinamiento, la hambruna y la desnutrición, lo que fué propicio para la transmisión de la enfermedad a gran escala, tomando por consiguiente, carácter de epidemia y luego quedándose como endemia de alta prevalencia. En 1869 Richard Morton crea el término de tuberculosis; y no fue hasta 1882 cuando Koch evidencia por tinción, cultivo e inoculación el microorganismo causal Mycobacterium tuberculosis, de igual forma demuestra su condición patógena, estableciendo las bases científicas de la bacteriología de las enfermedades transmisibles, el mismo fue quién introdujo la tuberculina que sirvió como elemento vital del estudio de esta enfermedad y fuente de escrutinio diagnóstico, permitiendo así iniciar el conocimiento de la inmunología.

En 1897 Flugge demostró el contagio de la enfermedad por medio de gotas de saliva y de la expectoración de los pacientes. A finales del XIX y a principios del siglo XX Ghon describe adenopatía hiliares unidas a la lesión parenquimatosa pulmonar; en 1908 se da la aplicación del Mantoux que evoluciona hasta llegar a la actual PPD de incalculable valor en los estudios epidemiológicos y en 1921 Calmette y Guérin desarrolla la vacuna BCG. De forma simultánea a la evolución de los estudios de la tuberculosis inicia también la búsqueda de los tratamientos más efectivos iniciando desde: Brebajes, drogas, plantas, cambios de clima, alimentación abundante, el ejercicio y el aislamiento de los pacientes para evitar el contagio, e incluso se llegó a métodos más traumáticos como lo fue la resección del pulmón afectado. La era de la quimioterapia comenzó en 1945 con el descubrimiento de la Estreptomina por Waksman; en 1946 Lehman descubre el efecto del Ac. Paraaminosalicílico en los microorganismos bacilares de la tuberculosis; en 1946 Chorine descubre la acción de la Isoniacida, llegando a 1952 que es cuando se inicia a usar la combinación de dos medicamentos como tratamiento antituberculoso; surge en ese mismo año la Piracinamida; en 1961 surge el Etambutol, en 1967 la Capreomicina y Kanamicina aunque se había descubierto antes no fue sino hasta entonces cuando Wilson descubre su aplicación en el combate contra la tuberculosis y finalmente en 1968 la Rifampicina es descubierta por McCabe y Lorian. Con todos estos hallazgos se logra disminuir la letalidad de un 80% como lo fue en un principio y logrando finalmente una efectividad del tratamiento de un 100% e igual porcentaje de curación, si no existe otra enfermedad concomitante o inmunosupresora (8, 13, 14, 18, 19, 20, 21, 26).

ETIOLOGIA:

El bacilo tuberculoso pertenece al género *Mycobacterium*, que se clasifica en la familia de la *Mycobacteriaceae* del orden *Actinomycetales*, y se le conoce al causante de la tuberculosis como *Mycobacterium tuberculosis*; es un parásito intracelular obligado, que comparte con otras especies de micobacterias con una calidad de tinción característica, por lo que se le conoce también con el nombre de *Bacilo Ácido Alcohol Resistente*, nombre que toma por su resistencia a la coloración o decoloración por ácido alcohol cuando se tiñe con fucsina, esta reacción está vinculada al componente lípido de su pared celular, es aerobio estricto y vive mejor a una presión de oxígeno de 140 mmHg (15, 25). tiene forma de barra.

mide de 2-4 μm . de longitud y 0.3-0.6 μm . de diámetro, es resistente al secado si se mantiene en cultivo a 37°C y con los nutrientes adecuados, puede mantenerse viable y virulento por espacio de 12 años, y los que se encuentran en cultivos mueren en dos horas si se exponen al sol, pero los contenidos en esputo pueden mantenerse hasta 30 horas vivos antes de morir y si son desecados por el sol pueden mantenerse viables desde semanas hasta 6-7 meses; las gotas del esputo se adhieren a otras partículas en el aire y si son infecciosas de 8-10 días, generalmente es resistente a la desinfección por químicos, pero muere con la Pasteurización (8, 13, 21, 25). Las micobacterias poseen una gruesa pared lipoidal, la cual tiene efecto dual: Primero la pared le da impermeabilidad, protegiéndola de un ambiente adverso, como el que se encuentra dentro de las células fagocíticas o dentro de los tejidos que tienen drogas o anticuerpos. Segundo: Los componentes de la pared celular participan en la inducción de ciertas actividades, algunas de ellas participan ayudando al huésped en su esfuerzo de detener la progresión de la enfermedad y otros causan la destrucción tisular (6, 21). Las proteínas que tienen en su pared son las responsables de la respuesta a la tuberculina y además de provocar la formación de anticuerpos, en lo que respecta a los polisacáridos también de su pared, pueden producir hipersensibilidad de tipo inmediato e inferir con algunas reacciones antígeno-anticuerpo (15)

MODO DE TRANSMISION:

La principal fuente de transmisión es la vía aérea al inhalarse los bacilos tuberculosos contenidos en gotas de saliva y/o esputo, por personas infectadas al expectorar, hablar, estornudar o cantar; algunas de las gotas son tan pequeñas que son capaces de pasar la barrera de defensa del aparato respiratorio, se dice que al toser una vez se producen 3,000 gotas infectantes, hablando durante 5 minutos se pueden producir una igual y estornudando se puede producir una mayor (15, 25, 28). Puede existir infección por contacto directo, como en el caso de la tuberculosis cutánea, o bien con agujas contaminadas; años atrás también se daba por medio de alimentos contaminados y actualmente es más frecuente en personas susceptibles, en contacto con pacientes enfermos (28).

INMUNOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS:

La tuberculosis es un ejemplo clásico de la enfermedad causada por un parásito intracelular y la protección se logra por mecanismos de inmunidad mediada por las células antes que los debidos anticuerpos; la inmunidad puede ser Celular y Humoral, pero en uno u otro caso, es el macrófago el que sume la responsabilidad principal en la protección. La respuesta CELULAR es la más importante para el control de la enfermedad, aparece entre la 3a. y 8a. semana después del estímulo antigénico inicial, esta misma inmunidad tiene como función localizar y eventualmente destruir los bacilos. La lesión inicial se desarrolla en el pulmón como una respuesta al agente bacteriano en forma de una alveolitis, esto provoca una activación de los macrófagos alveolares, mononucleares, eosinófilos, basófilos y linfocitos B (9, 10, 27). La fagocitosis producida por los macrófagos puede ser dividida en varias etapas, desde la adherencia de la célula fagocítica que viaja en la sangre, a la pared del vaso sanguíneo y su salida al tejido pasando por el fenómeno de la quimiotaxis, hasta la endocitosis del organismo microscópico y su muerte en el interior de las vacuolas digestivas, si falla este sistema se puede implantar una infección; para lograr el fagocito la muerte del microorganismo, primeramente tiene que producir en su interior agua oxigenada y su peróxido se convierte en letal, seguidamente la acción de la mieloperoxidasa que con los superóxidos y halógenos (yodo y cloro) se ven activados, lo que produce halogenación con las proteínas microbianas y las modifica perdiendo así su función; como tercero y último paso, al momento de la endocitosis, los lisosomas funden sus membranas con las vacuolas y descargan su contenido enzimático, muchas de estas enzimas pueden matar microorganismos y facilitar así su digestión; todo lo anterior se puede resumir describiendo una interdependencia antígeno-macrófago-linfocitos y Linfocitos T-macrófagos-bacterias (9, 10, 15). En lo que respecta a la inmunidad HUMORAL se ha establecido que está presentada por antígenos especiales de la clase Ig G, que puede detectarse a partir de los 10 días y persisten por algunos meses; también puede afirmarse que esta proteína al enfrentarse con una proteína extraña también desencadena una elevación en los niveles de Ig A e Ig M, siendo la primera de estas la que ultimamente se ha relacionado con la extensión de la enfermedad y se observa que cuando existen títulos altos de anticuerpos específicos e inmunidad celular baja, es de mal pronóstico. Las inmunoglobulinas mencionadas tienen por utilidad proporcionar una gran cantidad de

grasa o ceras en la pared del bacilo, afecta la fuerza de interrelación antígeno-anticuerpo y los anticuerpos se desprenden fácilmente de su pared, pero también esto podría ser la causa del daño inflamatorio local, al activar el sistema de complemento y linfoquinas que a la larga son las responsables del daño tisular (25, 27).

EPIDEMIOLOGIA:

En Guatemala en 1983 se repórtó una morbilidad de 8.3 por 100,000 habitantes. En 1985 hubieron 5,209 casos nuevos y se reportaron también 207 muertes por tuberculosis; entre 1985 y 1987 según las estadísticas de la División de Tuberculosis de la Dirección General de Salud, se reportaron que los casos ascendieron a un total de 11,894 incluyendo a los casos con tratamiento, para 1988 se registraron 1,126 casos nuevos, se trataron 4,246 casos y se reportaron 11 defunciones; aunque esta incidencia está por debajo de la realidad nacional, porque existen muchos subregistros de los pacientes atendidos en los centros y puestos de salud de todo el país, lo que hace a que la información no sea completamente verdadera; otro problema es que existen pacientes con diagnósticos erróneos tanto en hospitales nacionales como en clínicas privadas y demás centros asistenciales, también cabe mencionar a todas aquellas personas que la padecen y que no consultan con un médico y por estas razones esta enfermedad aun se encuentra dentro de las diez primeras causas de morbimortalidad en nuestro país; otra de las causas del incremento de pacientes es porque desde hace 10 años la economía nacional se ha deteriorado cada vez más, haciendo cada vez más difícil la adquisición de alimento, la mejora de vivienda y con todo ello al incremento de los factores predisponentes de la enfermedad (22).

DIAGNOSTICO:

Establecer correcta y tempranamente el diagnóstico de la tuberculosis es crucial para instruir la terapia adecuada, pero existen muchas limitaciones para ello, ya que la enfermedad es reconocida en aquellos pacientes que la presentan avanzada. Algunas veces resulta muy difícil el obtener muestras de pacientes con poca extensión de la enfermedad, en niños o en pacientes con tuberculosis pulmonar o extrapulmonar, para ello se han creado varios métodos entre los que se pueden mencionar:

a. *Baciloscofia:*

Este es el método más usado con frecuencia, sin embargo, para que esta prueba resulte positiva es necesario que el esputo contenga como mínimo 5,000 bacilos por mm³ ya que de lo contrario los bacilos pueden ser muy pocos y la baciloscofia sería negativa, es decir que pueden haber bacilos en el esputo pero no pueden evidenciarse microscópicamente en la primera muestra, por ello es necesario repetirla varias ocasiones; este método presenta 0.6 de sensibilidad.

b. *Rayos X:*

La radiografía de tórax proporciona la imagen de la zona afectada, pero en ningún momento confirma una infección por micobacterias ya que las lesiones por tuberculosis pulmonar pueden simular otra enfermedad pulmonar crónica como: Histoplasmosis, coccidioidomicosis, abscesos pulmonares etc., por lo que es necesario tener en cuenta la historia clínica, antecedentes y otros datos clínicos. La radiografía es de primordial importancia para evaluar la respuesta al tratamiento.

c. *Prueba de Tuberculina:*

En 1891 Koch la crea creyendo que sería la cura de la enfermedad, actualmente ya no se usa o bien se utiliza muy poco; en 1939 la doctora Florence Seiber creó un derivado protéico al que actualmente se le conoce como PPD y no fue hasta 1952 cuando se adoptó por la Organización Mundial de la Salud, como la Tuberculina Standard Internacional (PPD-S). La prueba se utiliza como prueba diagnóstica para detectar infección tuberculosa reciente o remota, activa o inactiva y para determinar la prevalencia en un grupo de población. También se utiliza para establecer prioridades en el seguimiento de pacientes con terapia profiláctica con Isoniacida ; se inyecta en la cara interna del antebrazo derecho, se lee a las 48 ó 72 horas y se mide el área de induración y no de eritema, si es menor de 5 mm es negativa, si mide entre 5-10 mm es dudosa y se repite la prueba dos semanas después, si es mayor de 10 mm es positiva y si es mayor de 20 mm es fuertemente positiva (4, 8).

d. Cultivos:

Se pueden realizar cultivos de cualquier líquido corporal, es un método muy útil y uno de los más usados para la determinación del agente causal de la tuberculosis, pero su desventaja ante otros métodos diagnósticos, es que es muy caro y que además de ello requiere muchas semanas para su lectura o para identificar especies (5, 7, 16).

e. Serología:

Este método aparece inicialmente en 1898 y fué Arloig, el que desarrolló el Test de Aglutinación; en 19 68 Rojas y Cols., aplicaron la técnica de la contrainmunolectroforesis para el diagnóstico de la tuberculosis, esta se basa en que bajo condiciones adecuadas de pH, de fuerza iónica del regulador medio de difusión adecuado y de una corriente eléctrica negativa, migra hacia el ánodo positivo mientras que los contenidos de anticuerpos en la fracción gammaglobulina del suero, migran en dirección opuesta o en contra como resultado del flujo osmótico del regulador; de esta manera si en medio de la reacción existiera uno o varios sistemas de antígeno-anticuerpo, la técnica se considera como una prueba sensible y confiable para detectar este tipo de reacciones. Así como este método existen otros más , pero se ha comprobado también que en la actualidad aunque todos los métodos inmunológicos existentes son efectivos, algunos son muy caros y otros necesitan de equipo muy sofisticado que no se encuentra al alcance de todos los sistemas de salud de todos los países, otros requieren de mucha laboriosidad (hemoaglutinación y Consumo de Antigamaglobulina), el tiempo para obtener los resultados es muy prolongado (Doble Difusión), costos económicos (Radioinmunoensayo, Consumo Antígeno Soluble) y otros de falta de criterio uniforme y definido para su interpretación (Aglutinación). En la búsqueda del método ideal, específico, sensible, económico y que llene todo lo contrario de los métodos anteriormente mencionados Nasau y Cols. encuentran que el Método de ELISA llena todos estos requisitos e inician por ello su uso en el estudio de la tuberculosis.

f. El Método de ELISA:

El test de ELISA (*Enzime-Linked Immunosorbent Assay* ó *Análisis Inmunosorbente ligado a Enzimas*) puede ser empleado para medir antígenos o anticuerpos marcados o no que compiten por los sitios limitados de unión al anticuerpo. La saturación da simultáneamente con participación de una ligandina; el anticuerpo se dirige contra la inmunoglobulina de la especie, se ha inmunizado se ha inmunizado con el antígeno que se va a determinar para que el anticuerpo sea detectado (2, 16). Para medir anticuerpos, el antígeno se fija a una base sólida se incuba con suero de prueba y luego con inmunoglobulina marcada con la enzima. La actividad enzimática adherente a la fase sólida, se añade una solución de prueba que contiene antígeno, luego se añade el sustrato o se relaciona la actividad enzimática con la concentración del antígeno (26). Las enzimas que han sido usadas con frecuencia incluyen: Peroxidasas del rábano, fosfatasa alcalina, lisosimas, beta D-galactosidasa y glucosa 6-fosfato deshidrogenasa; estas enzimas se acoplan a los antígenos o los anticuerpos mediante agentes de enlace cruzados, particularmente el flutaraldehído y la demalimida. Virtualmente cualquier enzima puede ser usada mientras sea soluble, estable y esté presente en los líquidos biológicos en cantidades que pudieran inferir con la determinación en el suero, esta puede ser determinada por fotometría, prueba que se dará por positiva si el sustrato es degradado por la enzima que se encuentra unida al complejo, produciéndose cambios de coloración. Las desventajas de los inmunoanálisis enzimáticos es que incluyen sensibilidad, simplicidad, estabilidad de los reactivos y equipo relativamente no costoso. En lo que respecta al uso del Método de ELISA para el diagnóstico de la tuberculosis se ha usado ya sea para buscar anticuerpos en el suero o antígenos micobacterianos en saliva. La detección de anticuerpos en el suero fué usado por primera vez en 1971, el mayor problema son las reacciones cruzadas, que se han evitado al mejorar con el tiempo la técnica. Su utilización es mayor en detección de antígenos en trabajos realizados en nuestro país, revelando una sensibilidad que va desde el 62 al 100% para tuberculosis pulmonar y 75% para extrapulmonar con un 100% de especificidad. En la literatura aparecen estudios que han alcanzado una sensibilidad que va del 68 al 88% y una especificidad que va de un 88 a un 97% (3, 13, 17). La técnica para la detección de antígenos empezó a ser utilizada en 1983 encontrándose una sensibilidad de 50% en áreas de baja prevalencia y de un 70 a un 85% en áreas de alta prevalencia, con una especificidad de 98%,

motivo por el cual se reporta como la técnica más moderna, sensible y específica. El Método de ELISA ha innovado en diferentes técnicas y utilizado para confirmar la sensibilidad de los métodos nuevos de cultivo, en los que el diagnóstico puede establecerse 10 a 12 días antes que se confirme en las botellas de cultivo en la que tardan de 2-3 semanas . En Guatemala se utiliza la variación de la técnica realizada en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, que consiste en absorber la muestra al pozo de polietileno con amortiguador carbonato-bicarbonato a un pH de 9.6, se le agrega el suero de Cabra anti-BCG y luego se adiciona suero de Cabra anti-Conejo ligada a la fosfataza alcalina y posteriormente se le agrega el sustrato (Esteres Fosfato), esta técnica se ha usado en saliva alcanzando una sensibilidad de 60% y una especificidad de 80%, mientras que en el suero sanguíneo alcanzó una sensibilidad y especificidad de 100% (3, 7, 17).

TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSO ACORTADO:

1. TRATAMIENTO ACORTADO 45 - 40: Este esquema de tratamiento es uno de los tres que actualmente se están usando en Guatemala a partir del año 1991; en lo que respecta a este esquema se usa en enfermos con tuberculosis pulmonar con B.K. positivo, nunca antes tratados, también en la tuberculosis infantil, extrapulmonar de baja población bacilar, incluyendo la pleurecía tuberculosa y tuberculosis pulmonar, pero todas positivas al cultivo o sin confirmación bacteriológica (22). Este tipo de tratamiento se divide en una fase inicial y otra de continuación, ambas utilizan los fármacos y dosis siguientes.

a. Fase Inicial:

Esta fase consta de 45 dosis, dura 7.5 semanas, con dosis diarias administradas por vía oral de lunes a sábado de los medicamentos siguientes: Isoniacida (INH) con dosis de 5-10 mgs/kg al día, lo que resulta más o menos 300 mgs al día para un adulto; Rifampicina (RPM)

10 mgs/kg al día lo que resulta ser 600 mgs para el adulto, Pirazinamida (PZA) a razón de 20-30 mgs/kg al día, regularmente 1.5 grs para adultos pequeños y 2.0 grs para adultos grandes.

b. Fase de Continuación:

Consta de 40 dosis, 20 semanas de duración, con dosis bisemanales administradas por vía oral los días lunes y jueves de cada semana, iniciándose tres días después de finalizar la fase inicial utilizando únicamente INH 5-10 mgs/kg al día y RPM 10 mgs/kg al día.

2. TRATAMIENTO ACORTADO 15 - 30 - 40: Este es otro de los esquemas utilizados en pacientes enfermos con tuberculosis; se emplea en pacientes con B.K. positivo o en aquellos con antecedentes de tratamientos previos, abandono del tratamiento, recaídas e incluso en los fracasos del tratamiento; ya sea con tuberculosis meníngea, extrapulmonar de alto contenido bacilar, genitourinaria, con absceso óseo. Consta de dos fases de inicio y una de continuación de la forma siguiente:

a. Fase Inicial I:

Consta de 15 dosis, 2.5 semanas de duración, con dosis diarias de lunes a sábado por vía oral de los medicamentos siguientes: INH 5-20 mgs/kg al día, RPM 10 mgs/kg al día, PZA 20-30 mgs/kg al día, Estreptomina (SM) 10-15 mgs/kg al día administrados diariamente por vía intramuscular, llegando regularmente entre los 750 y 1,000 mgs, esto únicamente en los pacientes con función renal normal; en los pacientes mayores de 50 años no se administrará más de 750 mgs diarios ni en aquellos cuyo peso sea menor de 40 kilogramos.

b. Fase Inicial II:

Consta de 30 dosis, 5 semanas de duración, con dosis diarias administradas por vía oral de lunes a sábado de INH 5-10 mgs/kg al día y PZA 20-30 mgs/kg al día.

c. Fase de Continuación:

Consta de 40 dosis, 20 semanas de duración, con dosis bisemanales administradas por vía oral los días lunes y jueves de cada semana, iniciándose tres días después de finalizar la fase inicial anterior, utilizando INH 5-10 mgs/kg al día y RPM 10 mgs/kg al día.

3. TRATAMIENTO ACORTADO 15 - 30 - 210: Este sistema de tratamiento se utiliza en pacientes que se encuentran viviendo en áreas alejadas de los centros asistenciales y además de ello en donde no existen centros de salud o voluntarios en salud que se hagan cargo del tratamiento del paciente; consta de dos fases iniciales que se realizan en el centro hospitalario y luego una fase ambulatoria de continuación que el paciente seguirá al marcharse a su hogar (22).

a. Fase Hospitalaria Inicial I:

Consta de 15 dosis, 2.5 semanas de duración, con dosis diarias administradas por vía oral de lunes a sábado, así: INH 10mgs/kg al día, RPM 10 mgs/kg al día, PZA 20-30 mgs/kg al día, SM 10-15 mgs/kg al día por vía intramuscular y no se administrará más de 750 mgs a pacientes mayores de 50 años y con peso menor de 40 kilogramos.

b. Fase Hospitalaria Inicial II:

Consta de 30 dosis, 5 semanas de duración, dosis diarias administradas por vía oral de lunes a sábado así: INH 5-10 mgs/kg al día, RPM 10 mgs/kg al día y PZA 20-30 mgs/kg al día.

c. *Fase Ambulatoria de Continuación:*

Este esquema lo proporciona el hospital o el paciente para continuar su tratamiento en su hogar, consta de 210 dosis, 7 meses de duración, administradas diariamente por vía oral, empezando 2 semanas después de finalizar la fase anterior, de la forma siguiente: INH 5-10 mgs/kg al día, RPM 10 mgs/kg al día y Thioacetazona (Th) 450 mgs al día.

VI. HIPOTESIS

La determinación de que el antígeno Micobacteriano en saliva y sangre de pacientes que padecen de Tuberculosis Pulmonar disminuye inversamente proporcional al tiempo de tratamiento con antituberculosos.

VII. METODOLOGIA

- A. **SELECCION DEL TEMA:** Nace de la inquietud de investigar sobre una enfermedad de alta prevalencia en nuestro país, y de la que se han realizado muchos estudios de todo tipo, pero pocos han sido los que se han realizado en el campo de la Inmunología, por lo investigado no hay estudios relacionados con la reacción del antígeno bacteriano ante los tratamientos antituberculosos existentes en nuestro país, razón por la cual se trabajará en ello; en la literatura se habla de que el antígeno disminuye inversamente proporcional al tiempo de tratamiento, por lo que fué importante para mi persona el poder comprobarlo; de igual forma el promocionar el método de ELISA en nuestro país.
- B. **ASESOR Y REVISOR:** Estas personas fueron seleccionadas por tener gran trascendencia en la investigación científica de nuestro país y por haber incursionado como pioneros en este tipo de estudio.
- C. **APROBACION DEL TRABAJO:** En lo que respecta a este tema y a su autorización, inicialmente se redactó una carta de solicitud para que autorizaran realizar el trabajo en el Sanatorio Antituberculoso "SAN VICENTE", así como para la toma de muestras y uso de las historias clínicas de los pacientes, la cual fué aceptada.
- D. **TIPO DE ESTUDIO:** La presente investigación es un estudio Prospectivo Descriptivo.
- E. **SELECCION DEL SUJETO DE ESTUDIO:** Se decide seleccionar a la sangre y saliva de pacientes con tuberculosis pulmonar activa ya que en este tipo de material de estudio se facilita aún más la realización de método de estudio, y porque para su obtención no se necesitan métodos sofisticados.
- F. **TAMAÑO DE LA MUESTRA:** Consiste en 30 pacientes adultos ingresados en el Sanatorio San Vicente, la muestra fué tomada de forma arbitraria no aleatoria, ni representativa de la población.
- G. **CRITERIOS DE INCLUSION:** Ambos sexos, comprendidos entre las edades de 15-70 años, con diagnóstico basiloscópico y radiológico de tuberculosis pulmonar, no tener otra enfermedad inmunosupresora concomitante, tener menos de 5 días de haber ingresado al Sanatorio San Vicente y tener menos de 5 días con tratamiento.

H. VARIABLES DE LA INVESTIGACION:

a) INDEPENDIENTES:

<u>VARIABLE</u>	<u>DEFINICION OPERACIONAL</u>	<u>ESCALA</u>	<u>MEDICION</u>
EDAD	Tiempo transcurrido desde el nacimiento.	15-70 años	Boleta
SEXO	Condición orgánica que diferencia al macho de la hembra	Masculino y femenino	Nominal
TUBERCULOSIS PULMONAR	Enfermedad infecciosa producida por Mycobacterium Tuberculosis y por M. Bovis.	Pulmonar	Basiloscopia, Radiografía y Cultivos
BCG	Vacuna que produce protección parcial contra la tuberculosis, contiene Bacilo de Calmette y Guerin.	Si/No	Boleta

b) DEPENDIENTES:

ANTIGENO MICOBACTERIANO	Complejo proteínico capaz de inducir la producción de anticuerpos específicos como también de entrar en interacción con el mismo.	Positivo ó Negativo	Método ELISA
-------------------------	---	---------------------	--------------

I. RECURSOS:

1. MATERIALES Y FISICOS:

- a.- Sanatorio antituberculoso "San Vicente"
- b.- Lab. Multidisciplinario de la facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C.

- c.- Muestras de saliva y sangre de 30 personas con Tb. Pulmonar.
- d.- Materiales para ELISA.
- e.- 250 placas de polietileno para microtitulaciones.
- f.- Conjugado Cabra anti-conejo.
- g.- 120 recipientes plásticos para recoger las muestras.
- h.- Espectrofotómetro para la lectura de las muestras.
- i.- Fichas clínicas de los pacientes seleccionados.
- j.- Boleta de recolección de datos.
- k.- Solicitud escrita para la elaboración de la investigación y para su autorización de la misma al Director del Sanatorio "San Vicente".
- l.- Papel, lápiz y materiales de escritorio.
- m.- Libros y revistas de consulta.

2) **HUMANOS:**

- a.- 30 pacientes con tuberculosis pulmonar activa de Sanatorio "San Vicente", con tratamiento antituberculoso.
- b.- Un estudiante de medicina en su trabajo de tesis.
- c.- Personal del Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C.

J.- EJECUCION DE LA INVESTIGACION:

- a.- Se tomaron 30 pacientes del Sanatorio Antituberculoso San Vicente que reunieron los criterios de inclusión, se procedió a llenar las boletas de encuestas, para la recolección de datos. También se procedió a tomar 14 controles de pacientes sanos para utilizarlos como controles negativos.
- b.- Se obtuvo una muestra de saliva y de sangre por cada paciente de la muestra semanalmente durante cuatro semanas, se colocaron en recipientes de cristal tapados, rotulados con el nombre del paciente y el número de semana de la muestra, procediéndose luego a almacenarse a -80°C en refrigeración, en el caso de la saliva para impedir la proliferación de bacterias; en lo que respecta a la sangre se procedió a sacar el suero de cada muestra y luego colocarlo en refrigeración también, solo que a -20°C .

- c.- Al reunir el total de las muestras de cada paciente por cuatro semanas se procedió en el Laboratorio Multidisciplinario de la facultad de Ciencias Médicas a procesarlas con el Método de ELISA.
- d.- Técnica de ELISA para la detección de antígeno en saliva y suero de pacientes con tuberculosis pulmonar activa:

SALIVA:

1. La saliva del paciente fué utilizada en forma pura.
2. Colocar 100 microlitros (2 gotas) de saliva pura en los platos de polietileno (pozo positivo) y en los pozos negativos se colocó la misma cantidad de saliva de los pacientes sanos. Incubándolas a 40C por 72 horas.
3. Drenar la placa por inversión.
4. Lavar de la siguiente manera:
 - i. Llenar los platos con solución de lavado.
 - ii. Dejar así por 3 minutos.
 - iii. Drenar por inversión y repetir este procedimiento por dos veces más.
5. Diluir el suero de conejo fraccionado (anti-BCG) con buffer de dilución, a una dilución de 1:1000.
6. Agregar a cada pozo 100 microlitros de esta solución e incubar a 370C por 90 minutos. Posteriormente se debe lavar según el inciso 4.
7. Agregar a cada pozo 50 microlitros de conjugado enzimático (cabra anti-conejo conjugado con fosfatasa alcalina) a una dilución de 1:1000 incubar a 370C por una hora.
8. Agregar 100 microlitros de sustrato (Paranitrofenil fosfato) a cada pozo y dejar por 45 minutos a temperatura ambiente.
9. Agregar 100 microlitros de NaOH para detener la reacción.
10. El contenido de cada pozo es diluido con 2 ml de solución de lavado y se lee por espectrofotómetro a 405 nm.

SUERO SANGUINEO:

1. El suero del paciente es diluido en buffer carbonato a un pH de 9.6, y a una dilución de 1:100.
2. Colocar 100 microlitros (2 gotas) de esta solución en los platos de polietileno (pozos positivos) y en los pozos negativos se colocan 100 microlitros de suero de pacientes sanos, se pone a incubar por 48 horas a 40C.
3. Drenar la placa por inversión.
4. Lavar de la siguiente manera:
 - i. Llenar los platos con solución de lavado.
 - ii. Dejar así por 3 minutos.
 - iii. Drenar por inversión y repetir este procedimiento por dos veces más.
5. Diluir el suero de conejo fraccionado (anti-BCG) con buffer de dilución, a una dilución de 1:100.
6. Agregar a cada pozo, 100 microlitros de esta solución e incubar a 370C por 90 minutos, posteriormente lavar según el inciso número cuatro.
7. Agregar a cada pozo 50 microlitros de conjugado enzimático (cabra anti-conejo conjugado con fosfataza alcalina) a una dilución de 1:100, incubar a 370C por una hora. Lavar.
8. Agregar 100 microlitros de sustrato (paranitrofenil fosfato) a cada pozo y dejar a temperatura ambiente por 45 minutos.
9. Agregar 100 microlitros de NaOH para detener la reacción.
10. El contenido de cada pozo es diluido con 2ml de solución de lavado y se lee con espectrofotómetro a 405 nm.

K. CALCULO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS:

Las lecturas (Indices de Densidad Optica) obtenidas por el espectrofotómetro, de los sueros y muestras de saliva analizados y tomados como controles negativos fueron sometidos al cálculo estadístico correspondiente para cada una de ellas según el número de controles y para ello se calculó la media aritmética con una desviación estandar para sueros sanguíneos y dos desviaciones en la saliva, según la fórmula siguiente:

$$\text{Media Aritmética } (\bar{X}) = \frac{\sum X i}{n}$$

$$\text{Desviación Standard } (S) = \sqrt{\frac{\sum f \cdot d^2}{n}}$$

En donde:

$\sum X i$ = Sumatoria de Indices de Densidad
Optica.

n = Número de controles negativos.

f = Sumatoria de las frecuencias.

d^2 = Desviación al cuadrado.

El valor obtenido (según se vé más adelante) de la media y sus desviaciones standard respectivas para cada tipo de muestra, fué tomada como referencia, para catalogar como positivo o nó los índices de densidad óptica de los pacientes con tuberculosis pulmonar activa, de tal manera que los índices superiores a la media con dos desviaciones standard serían unicamente los positivos para antígeno de Mycobacterium tuberculosis, detectado por suero de conejo anti-BCG por el método de ELISA Modificado.

VIII. PRESENTACION DE RESULTADOS

CUADRO No. 1

Desviación Standard (S) de los Indices de Densidad Optica (IDO) de 9 controles negativos de suero sanguineo por medio del método de ELISA para determinar antígeno micobateriano. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993.

No.	Xi. (IDO)	f	d	d2	E f.d2
1	0.129	1	-0.092	-0.008464	-0.008464
2	0.162	1	-0.059	-0.003481	-0.003481
3	0.172	1	-0.049	-0.002401	-0.002401
4	0.187	1	-0.034	-0.001156	-0.001156
5	0.214	1	-0.007	-0.000049	-0.000049
6	0.267	1	0.046	0.002116	0.002116
7	0.278	1	0.057	0.003249	0.003249
8	0.281	1	0.060	0.003600	0.003600
9	0.300	1	0.074	0.006241	0.006241
T O T A L.....					0.030757

Fuente: Grupo utilizado como control, en un estudio de 30 pacientes con tuberculosis pulmonar activa del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril-mayo de 1,993.

$$\text{Media Aritmética} = \frac{\sum xi}{n} = \frac{1.99}{9} = 0.221$$

$$\text{Desviación Standard (S)} = \sqrt{\frac{\sum Ef.d2}{n}} = \sqrt{\frac{0.030757}{9}} ;$$

$$S = \sqrt{0.0034174} = 0.0584585$$

$$2(S) = 0.116917$$

Media aritmética + 2 Desviaciones Standard = 0.337 (los Indices de Densidad Optica de las muestras superiores o igual a este valor se consideran positivos)

CUADRO No. 2

Desviación Standard (S) de los Indices de Densidad Optica (IDO) de 5 controles negativos de saliva, procesados por medio del método de ELISA para determinar antígeno micobateriano. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993.

No.	Xi. (IDO)	f	d	d ²	E f.d ²
1	0.171	1	-0.067	-0.004489	-0.004489
2	0.233	1	-0.005	-0.000025	-0.000025
3	0.234	1	-0.004	-0.000016	-0.000016
4	0.252	1	0.014	0.000196	0.000196
5	0.299	1	0.061	0.003721	0.003721
T O T A L.....					0.030757

Fuente: Grupo utilizado como control, en un estudio de 30 pacientes con tuberculosis pulmonar activa del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril-mayo de 1,993.

$$\text{Media Aritmética} = \frac{E \text{ xi}}{n} = \frac{1.99}{5} = 0.238$$

$$\text{Desviación Standard (S)} = \sqrt{\frac{E f . d^2}{n}} = \sqrt{\frac{0.008447}{5}} ;$$

$$S = \sqrt{0.001689} = 0.041097$$

$$2(S) = 0.082195$$

Media aritmética + 2 Desviaciones Standard = 0.320 (los Indices de Densidad Optica de las muestras superiores o igual a este valor se consideran positivos)

CUADRO No. 3

Relación entre la Edad y Sexo de 30 pacientes con Tuberculosis Pulmonar Activa. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993.

EDAD DE LOS PACIENTES DE LA MUESTRA	S	E	X	O
	MASCULINO		FEMENINO	
0 - 10 AÑOS	0		0	
11 - 20 AÑOS	1		0	
21 - 30 AÑOS	4		4	
31 - 40 AÑOS	5		3	
41 - 50 AÑOS	4		3	
51 - 60 AÑOS	3		0	
61 - 70 AÑOS	2		1	
	----- 19		----- 11	
TOTAL.....	30			

Fuente: Estudio efectuado en pacientes con tuberculosis Pulmonar Activa del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril - mayo de 1,993.

CUADRO No. 4

Relación entre el Número de paciente de la Muestra y los Indices de Densidad Optica Inicial y Final en Sangre y Saliva de 30 Pacientes con tuberculosis Pulmonar Activa. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993.

NUMERO DE LA MUESTRA POR PACIENTE	INDICE DE DENSIDA OPTICA (IDO)			
	S A N G R E		S A L I V A	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	0.552	0.436	0.378	0.382
2	0.445	0.374	0.509	0.333
3	0.272	0.111	0.770	0.320
4	0.174	0.137	0.267	0.219
5	0.685	0.203	0.480	0.310
6	0.621	0.218	0.738	0.296
7	0.604	0.278	0.717	0.582
8	0.435	0.208	0.422	0.282
9	0.526	0.369	0.758	0.386
10	1.101	0.233	0.716	0.332
11	0.609	0.309	0.670	0.308
12	0.251	0.200	0.258	0.204
13	0.575	0.262	0.525	0.362
14	0.808	0.252	0.451	0.303
15	0.284	0.238	0.363	0.300
16	0.726	0.201	0.455	0.216
17	0.578	0.207	0.387	0.204
18	0.558	0.297	0.416	0.342
19	0.485	0.304	0.449	0.457
20	0.314	0.216	0.450	0.368
21	0.592	0.278	0.578	0.338
22	0.577	0.208	0.493	0.426
23	0.426	0.207	0.535	0.326
24	0.578	0.250	0.504	0.284
25	0.690	0.229	0.688	0.318
26	0.558	0.224	0.761	0.570
27	0.605	0.236	0.525	0.262
28	0.600	0.236	0.590	0.293
29	0.583	0.223	0.397	0.257
30	0.608	0.242	0.367	0.331

Fuente: Estudio efectuado en pacientes con tuberculosis pulmonar activa del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril - mayo de 1,993.

CUADRO No. 5

Relación entre el tipo de muestra y el tiempo que tomó para que su patrón antigéno se negativizara o permaneciera positivo al finalizar el estudio en 30 pacientes con Tuberculosis Pulmonar Activa. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993.

SEMANA DE CORRELACION DE LA MUESTRA	TIPO DE MUESTRA			
	SANGRE		SALIVA	
	F	%	F	%
PRIMERA (-) (1)	5	16.67	0	00.00
SEGUNDA (-)	8	26.67	3	10.00
TERCERA (-)	8	26.67	10	33.33
CUARTA (+) (2)	4	13.32	15	50.00
SIEMPRE NEGATIVOS	5	16.67	2	6.67
TOTAL.....	30	100.00%	30	100.00%

(1) Semana en que se negativizó la muestra

(2) Semana en la que aún permanecen Positivas las muestras.

FUENTE: Estudio efectuado en pacientes con tuberculosis pulmonar Activa del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril - mayo de 1,993

CUADRO No. 6

Relación entre las semanas de Tratamiento Antituberculoso y el Patrón de Positividad o Negatividad que tomaron las Muestras de Sangre y Saliva de Pacientes con Tuberculosis Pulmonar Activa. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993.

* PACTE	SEMANA DE NEGATIVIZACION DE LA MUESTRA							
No. DE	PRIMERA		SEGUNDA		TERCERA		CUARTA	
MUESTRA	Sangre	Saliva	Sangre	Saliva	Sangre	Saliva	Sangre	Saliva
1	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	+	-	+	-	+	-	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	-	+	-	-
6	+	+	-	+	-	+	-	-
7	+	+	+	+	-	+	-	+
8	+	+	-	+	-	+	-	-
9	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	-	+	-	+
11	+	+	+	+	+	+	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	+	+	+	+	+	+	-	+
14	+	+	+	+	+	+	-	-
15	-	+	-	+	-	+	-	-
16	+	+	+	+	-	+	-	-
17	+	+	+	+	-	-	-	-
18	+	+	+	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+	+	-	+
20	-	+	-	+	-	+	-	+
21	+	+	+	+	+	+	-	+
22	+	+	-	+	-	+	-	+
23	+	+	-	+	-	+	-	+
24	+	+	+	+	+	+	-	-
25	+	+	+	+	+	+	-	-
26	+	+	+	+	-	+	-	+
27	+	+	+	+	-	-	-	-
28	+	+	+	+	-	+	-	-
29	+	+	-	+	-	-	-	-
30	+	+	+	+	+	+	-	+

* Lease (Paciente)

FUENTE: Estudio efectuado en pacientes del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril-mayo 1,993.

IX. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En la presente investigación se estudió a un grupo de 30 pacientes con tuberculosis pulmonar activa, los cuales se encuentran actualmente internados en el Sanatorio Antituberculoso "San Vicente" para completar su tratamiento quimioterapéutico.

El parámetro utilizado para la titulación del Test de ELISA Modificado, fué el Índice de Densidad Óptica (IDO), observándose una amplitud de 0.174 a 1.101 en la determinación de antígeno micobacteriano en suero sanguíneo y de 0.258 a 0.770 en las muestras de saliva, ambas titulaciones corresponden a las muestras iniciales y que fueron tomadas de pacientes con tuberculosis pulmonar activa y procesadas con el método de ELISA (Cuadro No.4), en lo que respecta a los controles sanos tomados como negativos, mostraron una amplitud de 0.129 a 0.300 en las muestras de suero sanguíneo y de 0.171 a 0.299 en las muestras de saliva, como se puede apreciar en los cuadros 1 y 2 respectivamente.

Posteriormente a la lectura de los Índices de Densidad Óptica de la población control de ambas muestras, se procedió a la extracción de la Media Aritmética y la Desviación Standard de dichos valores, habiéndose obtenido en el estudio de antígeno micobacteriano en suero sanguíneo una media aritmética de 0.221 + dos Desviaciones Standard de 0.116 y un resultado total de 0.337, por lo que los Índices de Densidad Óptica con valor igual o superior a éste en las muestras, se tomarán como positivos (Cuadro No. 1); para las muestras de saliva se obtuvo una Media Aritmética de 0.238 + Dos Desviaciones standard 0.082 y un resultado total de 0.320, por lo que los Índices de Densidad Óptica que muestren valores iguales o superiores a éste se consideran como positivos (Cuadro No. 2).

Aplicando la fórmula mencionada anteriormente, se observa que en los cuadros 5 y 6 hay un total de 25 pacientes con resultado positivo y 5 con resultado negativo al finalizar la realización del Método de ELISA en suero sanguíneo. En las muestras de Saliva se obtuvo un total de 28 resultados positivos y dos negativos, lo que demuestra que la prueba de determinación de antígeno micobacteriano por medio del Método de ELISA Modificado en saliva se convierta en la idónea para el seguimiento clínico de pacientes de la muestra estudiada y en todos aquellos que presenten tuberculosis pulmonar activa (Cuadro No. 6).

En cuanto al total de la población que integra la muestra estudiada en la presente investigación, podemos observar que se encuentra compuesta de 19 pacientes de sexo masculino y de 11

pacientes de sexo femenino; para ambos sexos se determinó que la edad promedio en que se presentaron la mayoría de los casos oscilaba entre los 21 y los 50 años de edad, con lo que se termina de corroborar que la situación de la tuberculosis pulmonar es precaria en nuestro medio, ya que en países desarrollados el mayor número de casos se presentan en menores de 14 años y en mayores de 65 años; mientras en nuestro país observamos que ataca al grupo más grande de la población general, como lo es la Población Económicamente Activa, esto nos hace pensar que siendo este el grupo que más se encuentra expuesto a los factores de riesgo de contagio de la enfermedad, sea el que termine sucumbiendo de una manera más rápida a la misma. (Cuadro No. 3)

En los anexos 2 y 3 podemos observar el patrón del antígeno micobacteriano que se mantuvo por paciente y por semana de tratamiento antituberculoso tanto en los que resultaron positivos como negativos al concluir el estudio, evidenciando que las titulaciones antigénicas disminuyen entre la segunda y tercera semana hasta negativizarse en las muestras de suero sanguíneo, mientras que el 50% de pacientes presenta muestras de saliva aún positivas para el antígeno en la cuarta semana, con lo que se puede asegurar que esta prueba es más sensible para la determinación de antígeno de Mycobacterium tuberculosis que la de suero sanguíneo; de lo anterior podemos decir que la persistencia del antígeno en saliva por más tiempo, quizá sea debido a que la infección este más localizada en la mucosa pulmonar, en donde la proliferación bacilar es mayor y la absorción de los medicamentos antituberculosos hacia estos lugares es más lenta, pues llega solo en pequeñas cantidades, haciendo por ello, que la eliminación del antígeno micobacteriano persista por más tiempo en saliva que en suero sanguíneo, en donde el Sistema de Fagocitosis y de Complejos Inmunes juegan un papel muy importante en la destrucción basilar junto a los medicamentos antituberculosos, logrando así disminuir los niveles de antígeno micobacteriano en el suero sanguíneo de una manera más rápida (Cuadro No. 5).

Considero que deben de hacerse más estudios igual que este, pero siguiendo durante seis meses a los pacientes que se tomen por muestra, para evaluar el tiempo que duran las muestras en su negativización antigénica en saliva y/o la posibilidad de reinfección en aquellos pacientes que persistan positivos en saliva, pero que no presentan manifestaciones clínicas, como podría ser el caso de los pacientes con múltiples reingresos.

X. CONCLUSIONES

1. El antígeno de *Mycobacterium tuberculosis* disminuye inversamente proporcional al tiempo de tratamiento antituberculoso empleado en pacientes con tuberculosis pulmonar activa.
2. Las titulaciones de antígeno de *Mycobacterium tuberculosis* en el suero sanguíneo de pacientes con tuberculosis pulmonar activa disminuye rápidamente entre la segunda y tercera semana después de iniciado el tratamiento antituberculoso, mientras que en las muestras de saliva llega a la cuarta semana con el 50% de los pacientes con resultados positivos, lo que demuestra un descenso muy lento en este tipo de muestras.
3. La muestra idónea para el seguimiento de pacientes con tuberculosis pulmonar activa por medio del método de ELISA Modificado resultó ser la de Saliva, que mostró una gran sensibilidad para la detección del antígeno micobacteriano en este tipo de muestras.
4. Los resultados de las titulaciones antigénicas de *Mycobacterium tuberculosis* obtenidas fueron comparadas paralelamente con la mejoría clínica y objetiva que los pacientes de la muestra estudiada fueron presentando durante el tiempo empleado para la realización de la investigación.

XI. RECOMENDACIONES

1. *La sensibilidad del Método de ELISA Modificado en saliva para la determinación de antígeno de Mycobacterium tuberculosis detectada en el presente estudio queda demostrada, permitiendo utilizarlo como una alternativa de diagnóstico y seguimiento de pacientes con tuberculosis pulmonar activa en nuestro medio.*
2. *Continuar haciendo nuevas investigaciones que tengan como objetivo primordial el encontrar un método de diagnóstico nuevo y que sea efectivo, rápido y económico para el estudio de la tuberculosis como lo es el presente, y para contribuir de forma más directa en la lucha por la erradicación de esta enfermedad en nuestro país.*
3. *Profundizar más en nuevos estudios, sobre la determinación de antígeno micobacteriano en suero sanguíneo, para ir mejorando su sensibilidad y llegar a tener más confianza en el resultado de los mismos.*
4. *Utilizar el método de determinación de antígeno micobacteriano en saliva en el estudio de nuevas drogas antituberculosas para evaluar con ello su efectividad.*
5. *Continuar con investigaciones que nos proporcionen nuevos datos respecto al comportamiento del antígeno del Mycobacterium tuberculosis en pacientes con tuberculosis pulmonar o de cualquier otro tipo.*

XII. RESUMEN

La tuberculosis es un problema importante de salud pública en Guatemala, con una morbilidad de 73.85 x 100,000 habitantes y una tasa de mortalidad de 10.57 x 100,000 habitantes anualmente (22), por lo que investigaciones que traten de mejorar los métodos diagnósticos existentes, están ampliamente justificados.

Los objetivos principales de este estudio fueron los siguientes: Primero determinar el patrón del antígeno de *Mycobacterium tuberculosis* en la sangre y saliva de pacientes con tuberculosis pulmonar activa y con ello identificar en que semana se inicia a negativizar la muestra, luego establecer cual de las dos muestras era más sensible y efectiva para el seguimiento de estos pacientes, especialmente cuando se encuentren con tratamiento antituberculoso, otro objetivo fue el de determinar en cual de las muestras disminuía más rápido el antígeno.

Para evaluar el método se utilizó el Índice de Densidad Optica (IDO) de pozos controles negativos de los 30 pacientes en estudio, de los resultados obtenidos, se extrajo la Media Aritmética y dos Desviaciones standard a cada una de las muestras tanto en sangre como en saliva, obteniendo como resultado final para cada una 0.337 y 0.320 respectivamente, los cuales fueron utilizados como parámetros para catalogar como positivos a los pacientes con valores en los resultados igual o mayor a ellos.

Los resultados finales de esta investigación demostraron que el antígeno de *Mycobacterium tuberculosis*, disminuye inversamente proporcional al tiempo de tratamiento antituberculoso, logrando también determinar que la muestra más sensible, efectiva y confiable para la determinación de antígeno micobacteriano fue la de SALIVA, en la que se evidencia que su descenso es muy lento, mientras que en el suero sanguíneo disminuye de forma rápida después de iniciado el tratamiento antituberculoso respectivo. Considero que se necesitan más estudios con énfasis en las muestras de saliva ya que de seguir mejorando su sensibilidad se estaría logrando un gran avance en el control epidemiológico aplicable en el campo pediátrico por ser un método no invasivo.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ALLEN B. W. Tuberculosis bacteriology in developing countries. Medical Laboratory Sciences. 1987, 41: pags 400-409.
2. BENJAMIN, R.G. et al. Evaluation of Mycobacterial antigens in an Enzime-Linked Inmunosorvent Assay (ELISA) for the Serodiagnosis of tuberculosis. Jour. Med Mycrob. 1984 Dec; 18 (3): 309-318.
3. BRADLEY, R.G. et al. Serological Diagnosis of Tuberculosis. Scand Jour Resp. Dis. 1985 aug; 60 (4); 176-183.
4. CATANZARO, ANTONIO J. Tuberculosis: Diagnóstico y Tratamiento al Día. Tribuna Médica. 1985 nov 1; 38 (9); 17-24.
5. CAMPOS DIEZ, ZULLY P. Determinación Sérica de Antígeno de Mycobacterium tuberculosis en pacientes con primoinfección. Tesis (Médico y Cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala. 1987 Nov.; 32 p.
6. CHAPARRAS, S.D. Inmunity in Tuberculosis. Bulletin of the World Healt Organization. 1986 March; 125 (3): 42-49
7. DANIEL, T.M. et al. The Serodiagnosis of Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases by Enzime-Linked Inmunosorbent Assay. Ammer Rev Resp dis. 1987 May; 135(5); 1137-1151.
8. DES PREZ ROGER M. GOODWIN ROBERT A. Mycobacterium Tuberculosis. Infectious Diseases and Their Etiologic Agents. Parts III. Chapter 210 19; pags 1383-1401.
9. ESTRADA PARRA, S. Inmunologia de la tuberculosis. Salud Pública de México. 1987 May-Jun; 24 (4): 269-278.
10. ESTRADA PARRA, S. Inmunologia de la Tuberculosis. Salud Pública de México. Ag-Sep 26 (5) 402-409.
11. FARGAS, V. Tratamiento abreviado de la tuberculosis. Rev. Med. de Chile 1985; 108 (41): 41-49.
12. FARER, L.S. Chemoprophylaxis. Amer Thoracic Society Amer Rev Resp. Dis. 1987 March; 125 (3): 102-107.
13. GUY W. SOO HOO, M.D. Reducig Tuberculosis Detection Cost. Chest 86:6 Dec 1984 pgs 860-862.

14. JERONIMO SIS, HERLINDA, Tuberculosis y Seridiagnóstico. Tesis (médico y Cirujano). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias médicas. Guatemala, septiembre 1988.
15. JEWETS, E. et al. Manual de Microbiología Médica. 8a. ed. México. El Manual Moderno. S.A. 1982: 232-238.
16. KALISH, S.B. at al Use of and Enzyme-Linked Immunosorbent assay Technique in differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis. Eur Jour Resp Dis. 1985 March; 147 (3): 523-530.
17. KIRAN, U. et al Efficacy of three Mycobacterial antigens in the Serodiagnosis of Tuberculosis. Eur Jour Resp Dis. 1985 Sep; 67 (3): 204-208.
18. KUTHY - PORTER, JOSE Dinámica de la Tuberculosis Pulmonar. Gaceta Medica de México. 123: 1-2, enero-febrero 1987, pags 9-17.
19. LEONS GOTTLIEB, M. Current Patterns of Pulmonary Tuberculosis. A F P Jun; 1985 pgs 113-117.
20. MENON, N. Advances in the Diagnosis of Tuberculosis. British Med. Journal. 1985 July; 28 (11) : 850-853.
21. MONZON GOMES, SONIA. Sensibilidad y especificidad de ELISA para la detección de antígenos M. Tuberculosis en saliva y esputo. Tesis (Médico y Cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala 1989 Noviembre.
22. NORMAS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. D.G.S.S. Depto. de Vigilancia Epidemiológica. 1988, Guatemala C.A.
23. ROJAS ESPINOSA, O. Inmunopatología de la tuberculosis: El papel de los macrófagos activados en la evolución de la enfermedad tuberculosa. Salud Pública de México. 1987 nov-dic; 25 (6) 591-600.
24. ROSALES TAHAY, MOISES. Determinación Serica de antígenos de Mycobacterium Tuberculosis por ensayo inmunoenzimático en fase sólida. Tesis (Médico y Cirujano) Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Médicas. 1987 julio.
25. STEAD, W.W. Tuberculosis. Principles of Internal Medicine. Harrison's. 10th N.Y. McGraw-Hill Book Co. 1983 pags 1019-1029.

26. THOMAS M., DANIEL. *The Serodiagnosis of Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.* Amm Rev Resp Diss. 1987 July; 135: 4 pags 1137-1151.
27. WOLINSKY, E. *Tuberculosis.* Tratado de Medicina Interna Cecil. 17a. Ed. Interamericana. México, 1987. pags 1809-1813.
28. ZINSEER, T. *Mycobacterium Tuberculosis.* *Microbiology.* copyright 1988. 7 th. Ed. U.S.A. pags 651-671.

XIV. ANEXOS

ANEXO No. 2

Patrón antígeno seguido por cada una de las Muestras de Suero Sanguíneo según la semana en que se Negativizaron y en la que aún continúan Positivas al Método de ELISA Modificado. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993.

<u>PRIMERA SEMANA</u>	<u>SEGUNDA SEMANA</u>	<u>TERCERA SEMANA</u>	<u>CUARTA SEMANA</u>
6 0.621 0.242 0.229 0.218	5 17 0.685 0.578 0.579 0.499 0.240 0.229 0.203 0.207	11 21 0.609 0.592 0.580 0.480 0.409 0.339 0.309 0.278	1 9 0.552 0.526 0.508 0.465 0.472 0.415 0.436 0.369
8 0.435 0.289 0.271 0.208	7 26 0.604 0.558 0.487 0.464 0.282 0.236 0.278 0.224	13 24 0.575 0.578 0.524 0.478 0.375 0.388 0.252 0.250	2 18 0.445 0.558 0.406 0.526 0.386 0.385 0.374 0.297
22 0.577 0.263 0.220 0.208	10 27 1.101 0.605 0.592 0.519 0.335 0.244 0.233 0.236	14 25 0.808 0.690 0.529 0.558 0.574 0.359 0.252 0.229	
23 0.426 0.236 0.220 0.207	16 28 0.726 0.600 0.685 0.587 0.223 0.254 0.201 0.236	19 30 0.485 0.608 0.385 0.583 0.339 0.325 0.304 0.242	
29 0.583 0.290 0.250 0.223	LINEA DE CORTE = 0.337		
	<u>RESULTADOS NEGATIVOS</u>	<u>EXPLICACION</u>	
	3 12 20 0.272 0.251 0.314 0.232 0.225 0.277 0.149 0.214 0.250 0.111 0.200 0.216	No. de muestra Valor 1ra. semana Valor 2da. semana Valor 3ra. semana Valor 4ta. semana	
	4 15 0.174 0.284 0.172 0.275 0.150 0.245 0.137 0.238	FUENTE: Estudio efectuado en pacientes con tuberculosis pulmonar activa del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril-mayo 1,993.	

ANEXO No. 3

Patrón antigénico de cada una de las Muestras de Saliva según la semana en que se Negativizaron y en la que aún continúan Positivas al Método de ELISA Modificado. Realizado en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.S.A.C. Guatemala, mayo de 1,993

<u>SEGUNDA</u> <u>SEMANA</u>	<u>TERCERA</u> <u>SEMANA</u>	<u>CUARTA</u> <u>SEMANA</u>	<u>RESULTA</u> <u>DOS</u>	<u>N</u>
17 0.387 0.340 0.237 0.204	5 15 0.480 0.363 0.425 0.356 0.330 0.331 0.310 0.300	1 2 3 0.678 0.509 0.770 0.603 0.394 0.572 0.541 0.385 0.485 0.382 0.333 0.320	4 0.267 0.241 0.224 0.219	<u>E</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>V</u> <u>O</u> <u>S</u>
27 0.525 0.491 0.295 0.262	6 16 0.738 0.455 0.528 0.370 0.322 0.339 0.295 0.216	7 9 10 0.717 0.758 0.716 0.711 0.559 0.379 0.619 0.400 0.371 0.582 0.386 0.332	12 0.258 0.220 0.213 0.204	
29 0.397 0.359 0.265 0.257	8 24 0.422 0.509 0.386 0.418 0.354 0.386 0.282 0.384	13 18 19 0.525 0.616 0.749 0.486 0.584 0.635 0.480 0.460 0.503 0.362 0.342 0.457		
	11 25 0.670 0.688 0.500 0.426 0.481 0.384 0.308 0.318	20 21 22 0.450 0.578 0.493 0.416 0.354 0.475 0.375 0.348 0.448 0.368 0.338 0.426		
	14 28 0.451 0.590 0.337 0.422 0.325 0.351 0.303 0.293	23 26 30 0.535 0.761 0.567 0.440 0.626 0.465 0.420 0.594 0.428 0.326 0.570 0.331		

LINEA DE CORTE = 0. 3 2 0

FUENTE: Estudio efectuado en pacientes con tuberculosis pulmonar activa del Sanatorio Antituberculoso "San Vicente". Guatemala abril-mayo de 1,993.