

UTILIDAD DEL ENZIMOINMUNOENSAYO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS

*Isabel N. de Kantor,¹ Lucía Barrera,²
Viviana Ritacco³ e Isabel Miceli⁴*

Para valorar la utilidad de una prueba de enzimoimmunoensayo como método de diagnóstico rápido de la tuberculosis, se estudiaron 687 muestras de suero pertenecientes a 271 niños y a 416 adultos. Su especificidad, calculada con 55 sueros de niños no tuberculosos, fue 0,98 y con 137 de la población adulta testigo, 0,93. La vacunación previa con BCG no influyó en el nivel de anticuerpos anti-PPD detectables. Los resultados fueron semejantes en adultos sanos PPD-positivos y en los negativos. La prueba no diferenció micobacteriosis no tuberculosas y micosis de la tuberculosis. Las sensibilidades calculadas con 49 niños y con 200 adultos diagnosticados de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar confirmada bacteriológicamente fueron 0,51 y 0,69. Entre los casos de tuberculosis sin confirmación bacteriológica y de diferentes localizaciones, la prueba fue positiva en 28,1% de 114 niños y en 48,6% de 35 adultos. Su costo, rapidez y la disponibilidad de reactivos fueron comparables a los del examen microscópico directo. Ambos métodos fueron positivos en 49% de los casos de tuberculosis confirmada por cultivo. El 84% de los casos fue positivo a uno u otro método. Se concluye que el enzimoimmunoensayo puede ser especialmente útil en el diagnóstico rápido de la tuberculosis pulmonar no bacilífera, extrapulmonar e infantil.

Cada año se notifican oficialmente en todo el mundo cerca de un millón de casos nuevos de tuberculosis, la cuarta parte de ellos en la Región de las Américas (1, 2). Se considera, sin embargo, que la incidencia verdadera podría ser hasta ocho veces mayor, principalmente en los países en desarrollo donde, debido a las limitaciones técnicas, organizativas y a la escasez de recursos dedicados al control de la enfermedad, una proporción de los casos no llega a diagnosticarse (3, 4).

En la Argentina, como en otros países de la Región, gran parte de la población está expuesta a la infección por *Mycobacterium tuberculosis*. En 1985, las tasas de morbilidad variaban entre 22 y 214 por 100 000 habitantes en las distintas provincias, con una media de 52,3 (5). La tuberculosis es en este país una de las cuatro principales enfermedades infecciosas causantes de muerte, junto con la septicemia, la neumonía y la influenza (6).

En la Argentina, como en el resto de América Latina y el Caribe, la técnica bacteriológica más ampliamente empleada para el diagnóstico de la enfermedad es el examen microscópico directo (ED). Correctamente realizado, permite detectar los casos bacilíferos, que son las principales fuentes de infección en la comunidad. El cultivo es el método

¹ Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO, OPS/OMS). Dirección postal: C. C. 3092, Correo Central 1000 Buenos Aires, Argentina.

² Instituto Nacional de Microbiología C. Malbrán, Buenos Aires, Argentina.

³ Universidad Nacional de Luján, Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

⁴ Ministerio de Salud Pública, Servicio Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias, Buenos Aires, Argentina.

más sensible, ya que puede detectar una cantidad mínima aproximada de 10 bacilos, mientras que con el ED esa cantidad oscila entre 5 000 y 10 000 bacilos por ml de muestra (7). Sin embargo, el cultivo es un método más lento, más costoso y más complejo que el ED y se emplea en muy pocos centros. Por lo tanto, no se logra la confirmación bacteriológica de muchos casos en los que la presencia de bacilos ácido-alcohol-resistentes no se puede demostrar mediante el ED (casos pulmonares paucibacilares, extrapulmonares y de tuberculosis infantil). En las formas cerradas de la enfermedad, a ello se agrega la dificultad de obtener muestras para el examen bacteriológico. La decisión de administrar tratamiento debe basarse, entonces, en los exámenes clínicos, radiológicos, de laboratorio y en la prueba de la tuberculina, pruebas que en ningún caso permiten realizar un diagnóstico de certeza. Un método de diagnóstico serológico sencillo, rápido y de costo relativamente bajo, que permita detectar casos con ED negativo, sería de indudable utilidad para resolver estas limitaciones.

El enzimoimmunoensayo (EIE) es una técnica de ejecución sencilla y rápida; asimismo, con ella se alcanza una alta precisión y reproducibilidad de los resultados. Por estas razones, se ha aplicado al diagnóstico serológico de muchas enfermedades infecciosas. Al inicio de este siglo, varios autores confirmaron la presencia de anticuerpos contra antígenos micobacterianos en el suero de pacientes tuberculosos (8). Desde que en 1976 Nassau *et al.* (9) publicaron el primer estudio de aplicación del EIE al diagnóstico de la tuberculosis, se han realizado numerosos trabajos de evaluación de esta técnica para detectar anticuerpos contra micobacterias empleando antígenos de diversos grados de pureza. El EIE resultó ser menos sensible que el ED cuando se aplicó al diagnóstico de casos de tuberculosis pulmonar bacilífera (10, 11). Sin embargo, permitió detectar casos de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar (es-

pecialmente meníngea) con ED negativo, confirmados más tarde por cultivo (12-14). Esta comprobación sugiere que el EIE tiene utilidad potencial como método complementario de diagnóstico rápido. Por consiguiente, es interesante evaluarlo en las condiciones de trabajo de países con recursos limitados y alta incidencia de tuberculosis. Con ello, se ampliarían, por otra parte, los resultados de otros estudios (15, 16).

La información sobre la utilización de esta prueba para el diagnóstico de la tuberculosis infantil es muy escasa (12, 17, 18). En esta enfermedad, la rapidez del diagnóstico es de importancia crucial, por el riesgo de muerte y secuelas graves que acarrea. Además, los síntomas no son siempre característicos y la confirmación bacteriológica por el ED solo se alcanza en 5% de los casos, y por el cultivo, en cerca de 30% (19).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, es conveniente evaluar la utilidad del EIE para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar con ED negativo, extrapulmonar e infantil, teniendo en cuenta las condiciones epidemiológicas y la infraestructura actuales de la Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el estudio, se analizaron 687 muestras de sueros de 271 niños de 1 mes a 14 años de edad y de 416 adultos. Los niños se clasificaron en los siguientes subgrupos: a) sin sospecha de tuberculosis ($n = 55$): 17 sanos, (10 con cicatriz vacunal por BCG) y 38 con enfermedades no relacionadas con la tuberculosis (28 con cicatriz vacunal); b) aparentemente sanos, positivos a la prueba de la tuberculina ($n = 33$): 13 eran contactos de casos bacilíferos y en los restantes no se pudo establecer esa relación; c) aparentemente sanos, negativos a la prueba de la tuberculina y contactos de casos bacilíferos ($n = 20$), y d) con diagnóstico de tuberculosis, ($n = 163$): 49 con confirmación bacteriológica y 114 sin ella (99 diagnosticados sobre la base de los

datos clínicos, radiológicos, la prueba de la tuberculina positiva o contacto comprobado con un caso bacilífero); en otros 15 también se utilizaron para el diagnóstico el examen histopatológico o la tomografía computadorizada.

Los adultos se clasificaron en los siguientes subgrupos: a) sujetos sanos ($n = 105$): 92 fueron sometidos a un control médico laboral, a 74 de ellos se les efectuó prueba de la tuberculina con 2UT de derivado proteínico purificado (PPD), que fue positiva en 42 (más de 10 mm de diámetro de induración) y negativa en 32. Los 13 restantes fueron contactos de casos bacilíferos; b) con enfermedad no tuberculosa ($n = 76$): 68 con enfermedades incluidas en el diagnóstico diferencial de la tuberculosis (33 casos de micosis, 10 de micobacteriosis por *M. avium* y uno por *M. fortuitum*, 22 de neoplasia y 2 de silicosis broncopulmonar); otros 8 pacientes padecían otras enfermedades; c) con tuberculosis, ($n = 235$): de 176 casos de tuberculosis pulmonar, 137 fueron diagnosticados por ED, 25 por cultivo y 14 por examen clínico-radiológico. De 59 casos de tuberculosis extrapulmonar, 5 fueron diagnosticados por ED, 33 por cultivo y 21 por los hallazgos clínicos, radiológicos o anatomopatológicos. En 45 pacien-

tes la localización de la tuberculosis fue pleural, en 4, meníngea, en 4, osteoarticular y en 2, renal. Los restantes fueron casos únicos con localización ganglionar, cecal, pericárdica y peritoneal. En el cuadro 1 se resume la información sobre los 398 pacientes con diagnóstico de tuberculosis estudiados.

Los sueros se distribuyeron en alícuotas y se conservaron a -20°C . Para realizar el EIE, los sueros se diluyeron al 1:200 en una solución amortiguadora de fosfato con un pH de 7,0 (SR) con albúmina sérica fracción V (ASB) al 1% y Tween 20 al 0,05%. El antígeno utilizado fue el PPD, 3,7 mg/ml, elaborado en CEPANZO a partir de la cepa H₃₇Rv de *M. tuberculosis*. La preparación difirió de la del método estandarizado, en el cual la suspensión del cultivo bacteriano fue tratada con fenol al 1% durante 3 días a 37°C sin procesarla en autoclave. El antígeno se distribuyó en alícuotas, se liofilizó y se conservó a 4°C .

La proteína A-peroxidasa (SIGMA Co., St. Louis MO), utilizada como conjugado, se reconstituyó en SR-ASB al 1%,

CUADRO 1. Casos de tuberculosis estudiados y métodos utilizados para confirmar el diagnóstico. Centro Panamericano de Zoonosis, Argentina, 1989

Categoría	Examen bacteriológico positivo		Sin confirmación bacteriológica ^b	Total
	ED ^a (+) No.	ED ^a (-) Cultivo (+) No.		
Niños				
Pulmonar	23	13	90	126
Extrapulmonar	4	9	24	37
Total	27	22	114	163
Adultos				
Pulmonar	137	25	14	176
Extrapulmonar	5	33	21	59
Total	142	58	35	235
Total	169	80	149	398

^a ED = Examen microscópico directo

^b Diagnóstico basado en los hallazgos epidemiológicos, clínico-radiológicos y en la reacción a la prueba de la tuberculina. En algunos casos también se utilizaron el examen histopatológico y la tomografía axial computadorizada

a una concentración de 0,25 mg/ml, se distribuyó en alícuotas y se conservó a -20°C . Antes de utilizarla, se diluyó en la misma SR al 1:750 según lo determinado en titulaciones previas. El cromógeno se preparó inmediatamente con 200 μl de una solución que contenía 32,9 mg/ml de 2-2'-azinobis (3 etilbenzotiazolín sulfato) (ABTS), 50 μl de H_2O_2 30 V y 12 ml de solución reguladora de citratos 0,05 M a un $\text{pH} = 4$. Las placas de poliestireno (Immulon II, Dynatech Lab., Alexandria, VA) fueron sensibilizadas con 75 μl por cada pocillo de la solución de antígeno durante 18 horas a 4°C en cámara húmeda. A continuación, se lavaron tres veces durante un minuto con 200 μl por pocillo de SR-ASB al 0,1%-Tween 20 al 0,05%, se agregaron por duplicado 50 μl de cada suero diluido según lo indicado y se incubaron durante una hora a 37°C . En cada placa se incluyeron tres sueros de referencia con tres valores de densidad óptica (DO): altamente positivo, límite y negativo. Después de lavar estos sueros según el procedimiento ya descrito, se colocaron en cada pocillo 50 μl del conjugado y se incubaron durante una hora a 37°C . Se lavaron nuevamente y se agregaron 100 μl del sustrato. La reacción enzimática y su revelado se prolongaron durante 20 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad, y se detuvieron con 100 μl de ácido fluorhídrico 0,1 M a un $\text{pH} = 3,3$. La concentración de anticuerpos, expresada en valores de DO, se cuantificó con un lector microELISA Dynatech MR 600 y se leyó a una longitud de onda de 410 nm. Cuando existieron mínimas variaciones interplaca, los resultados se uniformaron calibrando el lector según los valores obtenidos con los sueros de referencia. La concentración de anticuerpos se midió dos veces en cada suero para asegurar la reproducibilidad de los resultados y se registró el valor promedio de los mismos.

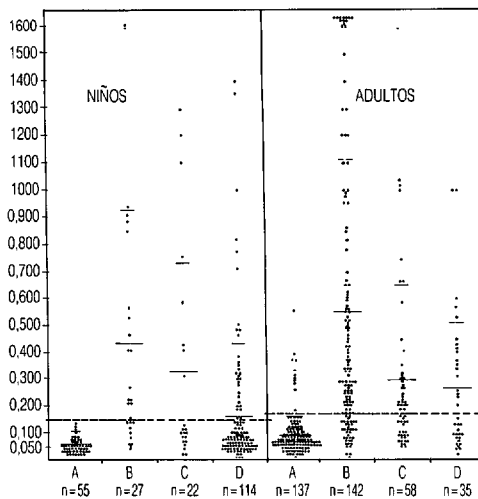
La sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivo y negativo se calcularon de acuerdo con métodos ya descritos (20, 21). Según esos métodos, y definiendo *PV* como resultados positivos verdaderos, *PF*, como positivos falsos, *NV*, como negativos verdaderos y *NF*, como negativos

falsos, la sensibilidad se calculó como el cociente $PV/(PV + NF)$, y la especificidad, como el cociente $VN/(VN + PF)$. Asimismo, el valor predictivo positivo se calculó como el cociente $VP/(VP + PF)$, y el valor predictivo negativo, como el cociente $VP/(VP + NF)$. Para analizar las diferencias entre las medias de los valores observados se aplicó la prueba *t* de Student.

RESULTADOS

Los principales resultados obtenidos se presentan en la figura 1 y en los cuadros 2, 3 y 4. Para clasificar los sueros de los

FIGURA 1. Niveles de anticuerpos circulantes IgG anti-PPD medidos por enzimmunoensayo en 271 niños y 416 adultos. Centro Panamericano de Zoonosis, Argentina, 1989



^a Niños: A: 55 testigos; B: 27 casos positivos al examen microscópico directo; C: 22 casos negativos al examen microscópico directo y con cultivo positivo; D: 114 casos sin confirmación bacteriológica.

^b Adultos: A: 137 testigos; B: 142 casos positivos al examen microscópico directo; C: 58 casos negativos al examen microscópico directo y con cultivo positivo; D: 35 casos sin confirmación bacteriológica.

--- = Valor límite entre casos positivos y negativos

CUADRO 2. Resultados del enzimoinmunoensayo para detectar anticuerpos IgG anti-PPD en 108 niños y 181 adultos no tuberculosos. Centro Panamericano de Zoonosis, Argentina, 1989

Categoría	Sueros No.	Negativos No. (%)	DO media (DE) ^a
Niños			
Testigos	55	54 (98,1)	0,056 (0,044)
Con BCG	38	38 (100,0)	...
Sin BCG	17	16 (94,1)	...
Otros			
Positivos a la prueba de la tuberculina	33 ^b	29 (87,9)	...
Negativos a la prueba de la tuberculina	20 ^c	18 (90,0)	...
Adultos			
Testigos	137	127 (92,7)	0,087 (0,068)
Sanos	92	86	...
Con otras enfermedades	32	31	...
Contactos	13	10	...
Otros			
Con micosis	33	20 (60,6)	...
Con otras micobacteriosis	11	6 (54,4)	...

^a DO media (DE) = Densidad óptica media (desviación estándar).

^b Trece eran contactos de casos bacilíferos.

^c Todos eran contactos de casos bacilíferos.

niños, se fijó un valor límite entre los resultados positivos y negativos igual a la DO media de la población testigo más dos desviaciones estándar ($\bar{x} \pm 2DE = 0,056 \pm 2,0 \times 0,044 = 0,144$). La especificidad del EIE para detectar anticuerpos IgG anti-PPD fue 0,98. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores hallados en los niños vacunados y en los no vacunados con BCG ($0,054 \pm 0,032$ y $0,056 \pm 0,049$; $P \geq 0,10$). No se detectaron anticuerpos en 29 de los 33 niños contactos positivos a la prueba de la tuberculina, ni en 18 de los 20 negativos a dicha prueba (véase el cuadro 2).

El límite entre los sueros positivos y negativos de los adultos fue 0,170, cercano al doble de la DO media hallada en los 137 sueros del grupo testigo ($\bar{x} \pm DS$; $0,087 \pm 0,068$) (véase el cuadro 2). Las DO de 127

de estos sueros fueron menores que ese límite y, por lo tanto, la especificidad del EIE en los adultos fue 0,93.

La DO media de sueros de los adultos sanos que reaccionaron negativamente a la prueba de la tuberculina ($0,090 \pm 0,067$) no fue significativamente distinta de la de aquellos con reacción negativa a dicha prueba ($0,082 \pm 0,064$; $P \geq 0,10$) ni de la de los contactos con pacientes tuberculosos ($0,145 \pm 0,114$; $P \geq 0,10$).

Los niveles de anticuerpos anti-PPD de 13 de los 33 pacientes con micosis y de 5 de los 11 con micobacteriosis no tuberculosa fueron positivos. La sensibilidad del EIE fue 0,51 en 49 niños y 0,69 en 200 adultos con tuberculosis confirmada bacteriológicamente (véase el cuadro 3). Diecisiete de los sueros de 27 niños con ED positivo (63,0%) y 8 de los 22 casos con ED negativo y cultivo positivo (36,4%) fueron clasificados como positivos por EIE. Entre esos casos positivos, 21 eran pulmonares (58,3%) y 4, extrapulmonares (30,7%).

CUADRO 3. Resultados del enzimoimmunoensayo para detectar anticuerpos IgG anti-PPD en 163 niños y 235 adultos con diagnóstico de tuberculosis. Centro Panamericano de Zoonosis, Argentina, 1989

Categoría	Sueros No.	Positivos No. (%)	DO media (DE) ^a
Niños			
Con confirmación bacteriológica	49	25 (51,0)	0,387 (0,452)
ED ^b (+)	27	17 (63,0)	0,437 (0,487)
Pulmonar	23	16	...
Extrapulmonar	4	1	...
ED ^b (-)			
Cultivo (+)	22	8 (36,4)	0,326 (0,406)
Pulmonar	13	5	...
Extrapulmonar	9	3	...
Sin confirmación bacteriológica	114	32 (28,1)	0,167 (0,240)
Pulmonar	90	24 (26,7)	...
Extrapulmonar	24	8 (33,3)	...
Adultos			
Con confirmación bacteriológica	200	137 (68,5)	0,474 (0,519)
ED ^b (+)	142	105 (73,9)	0,550 (0,559)
Pulmonar	137	101	...
Extrapulmonar	5	4	...
ED ^b (-)			
Cultivo (+)	58	32 (55,2)	0,298 (0,356)
Pulmonar	25	16	...
Extrapulmonar	33	16	...
Sin confirmación bacteriológica	35	17 (48,6)	0,264 (0,249)
Pulmonar	14	10	...
Extrapulmonar	21	7	...

^a DO (DE) = Densidad óptica media (desviación estándar).

^b ED = Examen microscópico directo

CUADRO 4. Relación entre los resultados obtenidos por enzimoimmunoensayo (EIE) y por examen microscópico directo (ED) en 249 pacientes (200 adultos y 49 niños) con tuberculosis diagnosticada mediante pruebas bacteriológicas. Centro Panamericano de Zoonosis, Argentina, 1989

EIE	ED		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	122	40	162
Negativo	47	40	87
Total	169	80	249

El EIE fue positivo en 32 de los 114 (28,1%) casos de tuberculosis infantil sin confirmación bacteriológica. En 99 de estos pacientes, en los que el diagnóstico no fue confirmado por el examen anatomopatológico o por la tomografía axial computadorizada, el porcentaje de casos con anticuerpos anti-PPD detectables fue 27,3%. En los 15 restantes, en los que el resultado de estos exámenes había sido incluido como criterio diagnóstico, dicho porcentaje fue 33,3%.

En pacientes adultos con pruebas bacteriológicas positivas, el EIE detectó 73,9% de 142 casos con ED positivo y 55,2% de 58 casos diagnosticados por cultivo. Entre los 35 casos sin confirmación bacteriológica, 48,6% tuvieron resultados positivos.

En 149 casos confirmados por cultivo, la sensibilidad del EIE fue 0,95, y la del ED, 0,68 (cuadro 4). Ambas pruebas detectaron simultáneamente 122 de los casos; el EIE identificó 40 casos adicionales y el ED, 47. Entre los 40 casos que solo fueron positivos a la EIE, la proporción de pacientes con localización extrapulmonar fue evidentemente mayor (19/40) que entre aquellos positivos exclusivamente al ED (4/47). El 84% (209/249) de los casos resultó positivo por uno o por ambos métodos de diagnóstico rápido.

Se diagnosticó tuberculosis en aproximadamente 20% de los pacientes pediátricos atendidos por los especialistas participantes en este estudio. Considerando este porcentaje como la prevalencia de la enfermedad, los valores predictivos positivo y negativo del EIE fueron 0,87 y 0,89, respectivamente.

DISCUSIÓN

El EIE aquí evaluado es una prueba sencilla y tanto el antígeno como los demás reactivos empleados pueden adquirirse fácilmente. Como este método se emplea en muchos centros asistenciales de la Argentina y de toda América Latina y el Caribe para diagnosticar otras enfermedades infecciosas, su aplicación al diagnóstico de la tuberculosis resultaría fácil. El EIE se puede introducir en los laboratorios de salud pública que ya emplean el enzimoimmunoensayo con otros fines diagnósticos.

Se ha comprobado que el EIE permite una buena reproducibilidad de resultados y que la correlación entre la lectura visual y la instrumental es muy alta. Ello también facilitaría su introducción en los laboratorios en los que se realizan pruebas de baja complejidad técnica. Es conveniente, sin embargo, por razones de costos y operatividad, concentrar la realización de la prueba en laboratorios que reciben cantidades importantes de muestras, ya que en cada placa se pueden analizar hasta 40 sueros por duplicado. En tales condiciones, el costo en placas

y reactivos del EIE es aproximadamente de \$US 0,04 por muestra. El costo de un ED en reactivos y lámina es cercano a \$0,05 (22).

La especificidad del EIE en los niños fue alta (0,98) y más elevada que en los adultos (0,93). Aunque ambos grupos comparten los mismos factores epidemiológicos, los niños han vivido menos tiempo y, por lo tanto, han tenido menos oportunidad de contacto con *M. tuberculosis*, micobacterias ambientales u otros microorganismos antigénicamente relacionados que pueden generar una respuesta humoral detectable por la prueba.

Por otra parte, se observó que la vacunación con BCG no influye en la producción de anticuerpos anti-PPD. Por lo tanto, el valor diagnóstico del EIE en la tuberculosis infantil no disminuye cuando el niño ha sido vacunado previamente con BCG, como ocurre con la prueba de la tuberculina.

Los adultos sanos reactivos a la prueba de la tuberculina fueron negativos al EIE. Al igual que en otros estudios, este método diferenció la infección inactiva de la enfermedad (23–27). No obstante, el porcentaje de resultados negativos fue menor en un grupo de niños aparentemente sanos y positivos a la prueba de la tuberculina entre los cuales había contactos con casos bacilíferos. Este grupo debe diferenciarse de los restantes testigos estudiados, ya que no se conoce la evolución que una infección recientemente adquirida pueda tener en un niño.

El EIE no parece ser adecuado para diferenciar la tuberculosis de otras micobacteriosis. Ello confirma los resultados de estudios previos en los que se utilizó el EIE con PPD (26, 28) y antígenos purificados (29). La prevalencia de otras micobacteriosis en relación con la tuberculosis es menor de 0,5% en la Argentina (30) y también es baja en otros países de América Latina, lo cual resta im-

portancia a la limitación que supone la especificidad del EIE. En contraste con observaciones anteriores (26), también se obtuvieron resultados positivos en un alto porcentaje de los pacientes con micosis estudiados. Los casos de micosis incluidos en el presente estudio no tenían antecedentes de tuberculosis y, por ello, se descartó que esa asociación pudiera ser la causa de la positividad. En la Argentina, el porcentaje de casos con micosis broncopulmonar es menor de 5% respecto al de los casos de tuberculosis.

Tanto en niños como en adultos, el EIE alcanzó su máxima sensibilidad en los casos avanzados con ED positivo, si bien identificó además 36,4 y 55,2% de los casos paucibacilares (pulmonares y extrapulmonares) con ED negativo confirmados más tarde por cultivo. Dado que el EIE es un método de diagnóstico rápido y altamente específico, sería útil para reforzar el diagnóstico en el momento de tomar la decisión de iniciar o no el tratamiento antituberculoso.

La búsqueda de anticuerpos antimicobacterias para el diagnóstico de la tuberculosis infantil tiene escasos antecedentes. Otros autores obtuvieron una sensibilidad de 0,53 y una especificidad de 0,90 al estudiar 15 casos de meningitis tuberculosa y 50 testigos, empleando un EIE con antígeno 5 para detectar anticuerpos en muestras de líquido cefalorraquídeo (17). En otro estudio realizado con 8 casos de tuberculosis infantil confirmada por cultivo, 2 fueron positivos al EIE utilizando PPD como antígeno en una técnica más refinada (detección por radioinmunoensayo de anticuerpos circulantes contra 6 epitopos de *M. tuberculosis*). Otros investigadores alcanzaron una sensibilidad de 0,44 en 18 casos de meningitis tuberculosa confirmada por pruebas bacteriológicas o exámenes anatomopatológicos (23). En un solo estudio se obtuvieron resultados promisorios utilizando el EIE con antígeno 5 (18). En dicho estudio se detectaron anticuerpos en la sangre de 18 de 21 casos de tuberculosis infantil confirmada mediante pruebas bacteriológicas, y no se detectaron en ninguno de los 19 testigos, todos ellos contactos con casos de tuberculosis.

Para contribuir eficazmente a mejorar la calidad del diagnóstico de la tuberculosis en los países en desarrollo de América Latina, el método propuesto debería reunir ciertas condiciones mínimas: a) alta especificidad (0,95 o más alta), b) sensibilidad superior a 0,50 para el diagnóstico de los casos en los que el ED no resulta útil, y c) ejecución sencilla y rápida, con reactivos fácilmente disponibles, razonablemente estables y de bajo costo.

Teniendo en cuenta esas condiciones y los resultados obtenidos, el EIE evaluado en este trabajo puede complementar el ED y ayudar al diagnóstico rápido de la tuberculosis (especialmente de las formas pulmonares paucibacilares, extrapulmonares y las de tuberculosis infantil) en los países donde esta enfermedad aún constituye un problema importante de salud.

Los avances en el área de la inmunología y la biología molecular han creado nuevas expectativas para aumentar la especificidad de las pruebas serodiagnósticas mediante el empleo de antígenos altamente purificados y pruebas de competencia con anticuerpos monoclonales (31-32). Estas investigaciones permitirán en un futuro no lejano obtener un método óptimo de diagnóstico de la enfermedad.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a los siguientes médicos y bioquímicos su participación en el presente estudio: L. J. González Montaner, C. Eisele, H. Pinasco, R. Poleschi, R. Botta, S. Hom, M. Viola, A. Monteverde, G. Peluffo, B. Broglia, C. Pérez Maldonado, R. Negroni, E. Padula, A. Battaglia, N. Ferrero, E. Fronti, C. Mazzeo, I. Cutillo, M. Cornejo y E. Prokopic.

REFERENCIAS

- 1 Organización Mundial de la Salud. *Tuberculosis Control as an Integral Part of Primary Health Care*. Ginebra, 1988, pp. 11–14.
- 2 Organización Panamericana de la Salud. *Tuberculosis en las Américas. Mortalidad y morbilidad*. Washington, DC, 1987. Documento PNSP/87-11.
- 3 Organización Panamericana de la Salud. Evaluación epidemiológica de la tuberculosis. Tendencias en algunos países de las Américas. *Bol Epidemiol OPS* 8(3-4):1–5, 1987.
- 4 Snider, D. E. Introduction. *Rev Infect Dis* 11(Suppl 2):S336–S339, 1989.
- 5 Instituto Nacional de Epidemiología E. Coni. *Tuberculosis en la República Argentina. Mortalidad y Morbilidad. 1973–1986*. Santa Fe, 1988. Documento EP 7/88.
- 6 Giacomini, H. F. Perfiles de salud. Argentina, 1980–82. *Bol Epidemiol OPS* 9(3):2, 1988.
- 7 David, H. L. *Bacteriology of the Mycobacterioses*. Atlanta, Georgia, Centros para el Control de Enfermedades, 1976, pp. 153–154.
- 8 Grange, J. M. The humoral immune response in tuberculosis: its nature, biological role and diagnostic usefulness. *Adv Tuberc Res* 21:1–78, 1984.
- 9 Nassau, E., Parsons, E. R. y Johnson, G. D. The detection of antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* by microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Tubercle* 57(1): 67–70, 1976.
- 10 Daniel, T. M. y Debanne, S. M. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am Rev Respir Dis* 135(5):1137–1151, 1987.
- 11 Daniel, T. M. Rapid diagnosis of tuberculosis: laboratory techniques applicable in developing countries. *Rev Infect Dis* 11 (Suppl 2):S471–S478, 1989.
- 12 Chau, P. Y., Wan, K. C., Ng, W. S. *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of antibodies to purified protein derivative (PPD) in the diagnosis of active tuberculosis: evaluation of its potential and limitations in a high prevalence area. *Trop Geogr Med* 39(3):228–232, 1987.
- 13 Stroebel, A. B., Daniel, T. M., Lau, J. H. K., Leong, J. C. Y. y Richardson, H. Serological diagnosis of bone and joint tuberculosis by an enzyme linked immunosorbent assay. *J Infect Dis* 146(2):280–283, 1982.
- 14 Kalish, S. B., Radin, R. C., Levitz, D., Zeiss, C. R. y Pahir, J. P. The enzyme linked immunosorbent assay method for IgG antibody to purified protein derivative in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis. *Ann Intern Med* 99(3):630–633, 1983.
- 15 Ma, Y., Wang, Y. M. y Daniel, T. M. Enzyme linked immunosorbent assay using *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in China. *Am Rev Respir Dis* 134(6):1273–1275, 1986.
- 16 Daniel, T. M., de Murillo, G. L., Sawyer, J. A. *et al.* Field evaluation of enzyme linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 134(4):662–655, 1986.
- 17 Coovadia, Y. M., Dawood, A., Ellis, M. E., Coovadia, H. M. y Daniel, T. M. Evaluation of adenosine deamidase activity and antibody to *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 in cerebrospinal fluid and the radioactive bromide partition test for the early diagnosis of tuberculous meningitis. *Arch Dis Child* 61(5):428–435, 1986.
- 18 Aldc, S. L. M., Pinasco, H. M., Pelosi, F. R. *et al.* Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) using an IgG antibody to *Mycobacterium tuberculosis* Antigen 5 in the diagnosis of active tuberculosis in children. *Am Rev Respir Dis* 139(3):748–751, 1989.
- 19 Snider, D. E., Rieder, H. L., Combs, D., Blocks, A. B., Hayden, C. H. y Smith, M. Tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis* 7(3):271–278, 1988.
- 20 Toman, K. Sensibilidad y valor predictivo de los tests diagnósticos. *Bol Uri Int Tuberc* 56(1–2):19–30, 1981.
- 21 Grange, J. M. y Laszlo, A. Serodiagnostic tests for tuberculosis: a need for assessment of their operational predictive accuracy and acceptability. *Bull WHO* 68(5):571–576, 1990.
- 22 Organización Panamericana de la Salud. *Control de la tuberculosis en América Latina. Manual de normas y procedimientos para programas integrados*. Washington DC, 1979. Publicación Científica 376.
- 23 Benjamin, R. G. y Daniel, T. Serodiagnosis of tuberculosis using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of antibody to *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5. *Am Rev Respir Dis* 126(6):1013–1016, 1982.

- 24 Kardjito, T., Handoyo, I. y Grange, J. M. Diagnosis of active tuberculosis by immunological methods. The effect of tuberculin reactivity and previous BCG vaccination on the antibody levels determined by ELISA. *Tubercle* 63(4):269-214, 1982.
- 25 Zeiss, C. R., Radin, R. C., Williams, J. E., Levitz, D. y Phair, J. P. Detection of immunoglobulin G antibody to purified protein derivative in patients with tuberculosis by radioimmunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 15(1):93-96, 1982.
- 26 Kalish, S. B., Radin, R. C., Phair, J. P., Levitz, D., Zeiss, C. R. y Metzger, E. Use of an enzyme linked immunosorbent assay technique in the differential diagnosis of active tuberculosis in humans. *J Infect Dis* 147(3):523-530, 1983.
- 27 Balestrino, E. A., Daniel, T. M., de Latini, M. D. S., Latini, O. A., Ma, Y. y Scocozza, J. B. Sero-diagnosis of pulmonary tuberculosis in Argentina by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for IgG antibody to *M. tuberculosis* antigen 5 and tuberculin purified protein derivative. *Bull WHO* 62(5):755-761, 1984.
- 28 Zeiss, C. R., Kalish, S. B., Erlich, K. S. *et al.* IgG antibody to purified protein derivative by enzyme linked immunosorbent assay in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 130(5):845-848, 1984.
- 29 Reggiardo, Z. y Vázquez, E. Comparison of enzyme linked immunosorbent assay and hemagglutination test using mycobacterial glycolipids. *J Clin Microbiol* 13(5):1007-1009, 1981.
- 30 Barrera, L. y Kantor, I. N. Nontuberculous mycobacteria and *Mycobacterium bovis* as a cause of human disease in Argentina. *Trop Geogr Med* 39(3):222-227, 1987.
- 31 Jackett, P. S., Bothamley, G. H., Batra, H. V., Mistry, A., Young, D. B. e Ivanyi, J. Specificity of antibodies to immunodominant mycobacterial antigens in pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 26(11):2313-2318, 1988.
- 32 Bothamley, G., Udani, P., Rudd, R., Festenstein, F. e Ivanyi, J. Humoral response to defined epitopes of tubercle bacilli in adult pulmonary and child tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol* 7(5):639-645, 1988.

SUMMARY

USEFULNESS OF ENZYME IMMUNOASSAY IN THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS

To assess the usefulness of enzyme immunoassay as a rapid method of diagnosing tuberculosis, a study was conducted of 687 serum samples from 271 children and 416 adults. With 55 sera from nontuberculous children as controls, the specificity was 0.98, and with 137 controls from the adult population, 0.93. Prior vaccination with BCG did not influence the level

of detectable anti-PPD antibody. The results were similar in healthy PPD-positive and negative adults. The test differentiated mycoses and nontuberculous mycobacterioses from tuberculosis. The sensitivity rates in 49 children and 200 adults diagnosed with bacteriologically confirmed pulmonary and extrapulmonary tuberculosis were calculated at 0.51 and 0.69, respectively. In those tuberculosis cases not bacteriologically confirmed or at other sites, the test was positive in 28.1% of 114 children and in 48.6% of 35 adults. The cost, speed, and availability of reagents for this test were comparable to those for direct microscopic examination. Both methods were positive for 49% of the tuberculosis cases confirmed by culture, and a total of 84% of those cases were found positive using one method or the other. It is concluded that enzyme immunoassay can be especially useful in the rapid diagnosis of nonbacilliferous pulmonary, extrapulmonary, and childhood tuberculosis.