

## LOS METODOS DE LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS

por el doctor

R. IBARROLA

de Madrid

El bacilo de Koch es uno de los agentes etiológicos de mayor trascendencia en patología humana. La tuberculosis constituye frecuentemente la causa de manifestaciones mórbidas muy variadas, clasificadas para nuestra comodidad, según el órgano a que afectan, pero cuyo conocimiento etiológico es de la mayor importancia.

En la práctica profesional, cada día se nos presenta el problema de saber si una afección dada, es o no de origen tuberculoso. Unas veces es el diagnóstico precoz de enfermedades de naturaleza tuberculosa, clínicamente no bien determinada; otras, la diferenciación de procesos sépticos que pueden ser o no tuberculosos. La distinción entre tuberculosis y sífilis, es un problema cotidiano.

Frente a tales cuestiones, la clínica muchas veces resulta insuficiente y el médico vuelve sus ojos al laboratorio pidiéndole una prueba, un procedimiento de diferenciación biológica de la causa buscada. ¿Puede el laboratorio proporcionársela? Unas veces sí, y otras no; con absoluta certeza, en ocasiones; como probabilidad, más o menos remota en otras.

La infección bacilar es un proceso en el que concurren dos factores: el bacilo de Koch, agresor, y el individuo agredido. El bacilo tiende a propagarse, a fraguarse condiciones óptimas de desenvolvimiento, y el organismo experimenta modificaciones de dos órdenes: producidas las unas, por la acción tóxica microbiana; encaminadas las otras, a la defensa orgánica. De estos hechos resultan modificaciones humorales variadas.

La investigación de la naturaleza bacilar de un proceso patológico, mediante las pruebas de laboratorio puede, pues, orientarse en dos sentidos: en la demostración del agente patógeno o en la comprobación de alteraciones humorales (alteraciones del terreno), producidas por él.

La comprobación del bacilo de Koch es un signo de absoluta certeza para demostrar la existencia de una infección tuberculosa; las alteraciones del terreno no poseen, en general, el mismo valor de certidumbre.

Sin entrar en detalles de técnica, de todos conocidos, vamos a intentar señalar las indicaciones y el valor de los distintos procedimientos de laboratorio en el diagnóstico de la infección por el bacilo de Koch.

*Investigación del bacilo de Koch.*—La investigación directa del bacilo de Koch puede haber necesidad de hacerla en distintos medios orgánicos: en los esputos, en las heces, en la orina, en el líquido céfalo-raquídeo, en el pus de un absceso frío, en el líquido o el pus de

una articulación, en la sangre, etc. La técnica, en todos los casos, es la misma.

De todos estos productos orgánicos, el que más frecuentemente permite demostrar la presencia del bacilo, es la expectoración. En las meningitis tuberculosas, en la tuberculosis renal, el número de casos en que el bacilo es demostrable es bastante inferior al de los de tuberculosis pulmonar en que la expectoración se demuestra bacilífera.

La investigación del bacilo de Koch en los esputos no debe omitirse nunca en los siguientes casos: *En todo caso de tuberculosis pulmonar clínicamente demostrada o sospechada.* La prueba bacteriológica de la tuberculosis es imprescindible por las siguientes razones: 1.<sup>a</sup> Porque los síntomas generales de tuberculosis, la anemia, la anorexia, el adelgazamiento, la fiebre, incluso coexistiendo con síntomas respiratorios discretos (modificaciones del murmullo vesicular, síndromes de condensación), pueden ser debidos a otras afecciones. Recordemos entre ellas, en primer lugar, todas las infecciones crónicas que mantienen al organismo en un estado de toxemia continuada: la apendicitis crónica, las infecciones biliares, sinusitis e infecciones rino-faríngeas, las supuraciones dentarias visibles u ocultas, las infecciones genitales (salpingitis, parametritis), las pielitis, etc., aparte de trastornos endocrinos, como el hipertiroidismo.

2.<sup>a</sup> Aun en los casos en que los síndromes respiratorios son muy acentuados, en que hay síntomas cavitarios claros, la baciloscopia es necesaria, pues puede tratarse en realidad, no de tuberculosis, sino de enfermedades muy diversas: bronquitis crónica con dilatación bronquial, sífilis pulmonar, quistes hidatídicos abiertos e infectados, abscesos de pulmón, secuelas de heridas de pecho... enfermedades todas ellas que pueden, junto con un estado general muy malo, producir síntomas cavitarios y hemoptoicos.

*Inversamente, hay que buscar el bacilo en los esputos de todo individuo que presente una expectoración habitual,* puesto que el asma, la bronquitis crónica banal, y en realidad todas las afecciones bronco-pulmonares, pueden ser tuberculosis atípicas.

Así es, que, en resumen, debe buscarse el bacilo en toda afección respiratoria crónica con expectoración y casi aconsejaremos que incluso en las agudas.

Establecida así la indicación de la investigación bacilar, puede suceder que ésta se nos muestre positiva en el primer examen. En este caso, la naturaleza tuberculosa del proceso está claramente demostrada y el diagnóstico hecho.

Si la investigación es negativa, hay que repetirla varias veces. Hay quien hace una segunda investigación previa homogeinización, y si ésta es negativa desiste de practicar otras nuevas. Este modo de obrar, es un error: la homogeinización no es un procedimiento muy superior a la baciloscopia directa, y ésta en manos expertas, da un tanto por ciento de casos positivos muy aproximado a los que se obtienen homogeneizando; no quiere esto decir que desaconsejemos la homogeinización: es un método que debe practicarse cuando el examen directo es negativo repitiéndolo un par de veces si la negatividad persiste, pero de una u otra forma en este último caso hay que hacer nuevos exámenes buscando las ocasiones favorables que pueden producir una descarga bacilífera: las hemoptisis, un aumento febril (aunque dependa de otro proceso), el período premenstrual, cualquier aumento de los síntomas respiratorios, y con mayor motivo de la cantidad de expectoración.

En otras ocasiones, la expectoración es escasa y con viene favorecerla administrando yoduro potásico u óxido blanco de antimonio, siempre prudentemente y cuando no haya contraindicación.

Los niños menores de 7 años y algunos adultos, no saben expectorar, o mejor dicho, degluten sus esputos. En los niños puede apelarse al procedimiento de recoger los esputos en la faringe inmediatamente después de un acceso de tos (el primero de la mañana preferentemente); puede también recurrirse al lavado magistral de estómago. Menos molesto para el enfermo es el investigar los bacilos en las heces (métodos de VENOT y MOREAU, SERGENT y DURAND). Este procedimiento no es aplicable si existe diarrea y tampoco lo es para investigar la etiología de una afección respiratoria cuando coexiste una enteritis tuberculosa.

Si practicada la investigación del bacilo de Koch en los esputos o en las heces, varias veces y con una técnica correcta, el resultado ha sido negativo, no podemos excluir en absoluto que se trate de un proceso tuberculoso. En estos casos es necesario proceder a la inoculación al cobaya o a la siembra del producto sospechoso, como luego diremos.

Si a pesar de todo y por ningún medio se demuestra que la expectoración es bacilífera, debemos distinguir dos casos: 1.º Si se trata de un enfermo con expectoración muy abundante, a veces francamente purulenta, con signos extensos y claros de lesiones pulmonares y en el que no se ha podido encontrar el bacilo en los esputos por ningún medio, el diagnóstico de tuberculosis pulmonar no puede rechazarse en absoluto pero debe ser puesto muy en duda e investigar en otro sentido el origen de la afección. 2.º Si por el contrario el enfermo es incipiente, con expectoración escasa con sintomatología discreta, el problema es más delicado: en efecto, las tuberculosis cerradas y evolutivas son muy raras y aun hay autores que niegan por completo su existencia. En estos casos se impone una observación cuidadosa para descartar otros posibles orígenes del cuadro clínico, una vigilancia rigurosa de la evolución de la enfermedad sospechosa y un tratamiento higiénico-dietético de prueba, no excesivamente pro-

longado. Si se produce alguna modificación que nos parezca favorable para volver a investigar el bacilo, lo haremos de nuevo.

La investigación del bacilo de Koch en los otros productos patológicos (líquido céfalo-raquídeo, pus, orina), da un número de casos positivos mucho menor que en los esputos; además, algunos de tales productos únicamente se muestran bacilíferos en determinados momentos, a veces no aprovechados para el examen. Cuando se investiga el bacilo en la orina, hay necesidad de seguir una técnica rigurosa, sobre todo en el tiempo de decoloración con alcohol, por existir algunos bacilos ácido resistentes en el esmegma que pudieran ser causa de error. Recuérdese, además, que eliminación urinaria de bacilo de Koch no significa tuberculosis renal forzadamente, si no va acompañada de otros síntomas (piuria, síntomas renales). En todos esos casos difíciles, se hace preciso muchas veces recurrir a la inoculación al cobaya o al cultivo del bacilo. El procedimiento de cultivo tiene dos ventajas sobre la inoculación; es más económico y más rápido, sobre todo, empleando el medio de PETROF (en el de VETTER, el desarrollo es más lento); en cuanto a exactitud, puede competir con la inoculación.

Señalaremos la necesidad de que el resultado de la inoculación no se dé teniendo en cuenta solamente el aspecto macroscópico de las vísceras del animal autopsiado, sino comprobando microscópicamente la existencia del bacilo en ellas, pues los roedores padecen frecuentemente afecciones pseudo-tuberculosas, cuyo aspecto anatómico-patológico macroscópico puede ser origen de confusión.

*Modificaciones humorales (alteraciones del terreno) en la tuberculosis.* — Como anteriormente decíamos, algunas de estas modificaciones orgánicas no son específicas de la tuberculosis, mientras que otras pueden considerarse como de una especificidad rigurosa.

Entre las modificaciones no específicas, tenemos como más importantes: la linfocitosis, la inversión de la fórmula leucocitaria, las alteraciones de la velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos y las reacciones de labilidad.

*Linfocitosis.* — Un predominio de linfocitos suele observarse en las formas crónicas de tuberculosis. En las agudas existe, generalmente, polinucleosis.

Este hecho, de antiguo conocido, puede considerarse como exacto en términos muy generales, pues las excepciones suelen ser bastante numerosas. En realidad, parece demostrado que el predominio de linfocitos o polinucleares no obedece a la cronicidad o agudeza de la afección, sino a la forma en que reacciona el organismo frente a la invasión microbiana; reacción que varía según sea la composición del antígeno bacteriano.

Los microorganismos, en cuya composición química predominan las sustancias proteicas (estreptococos, estafilococos, neumococos, etc.), determinan una reacción leucocitaria con predominio de los polinucleares. Por el contrario, aquellos gérmenes que contienen sustancias lipóidicas (a la cabeza de los cuales figura el bacilo de Koch), originan una reacción de predominio linfocitario. La explicación de este hecho reside, como demostró BERGEL, en que los linfocitos elaboran un fer-

mento lipolítico, capaz de disolver la cubierta céreo-grasosa del bacilo de Koch (MARIE y FISCHER).

Todos los gérmenes en cuya composición predominan las grasas, son capaces de engendrar esta linfocitosis que acompaña a afecciones bacilares, como la lepra, el muermo y el rino-escleroma.

Esta misma reacción linfocitaria se aprecia en la sífilis y la actinomicosis. Como se ve, la linfocitosis carece en absoluto de especificidad.

Pero aun hay más: dentro de los procesos tuberculosos, ya hemos dicho que los agudos suelen acompañarse de polinucleosis, que revela una reacción leucocitaria general, aún no orientada en sentido específico. En los procesos crónicos tuberculosos, la linfocitosis requiere para producirse una cierta capacidad defensiva del organismo, y así vemos que la linfocitosis acompaña generalmente a las formas foliculares (productivas) y falta en las formas graves infiltradas (exudativas).

La cuti-reacción (de la que no es nuestro objeto ocuparnos), suele seguir una marcha paralela. Tanto es así que hay afecciones, como el sarampión, que disminuye la linfocitosis y la cuti-reacción.

Con la linfocitosis coexiste siempre un aumento de fermentos lipolíticos que puede ponerse de manifiesto con la dosificación de la lipasa sanguínea.

De todo lo anterior se deduce: 1.º Que la linfocitosis, observada en la sangre, exudados, o líquido céfalo-raquídeo, carece de especificidad y no puede indicar por sí sola la existencia de un proceso tuberculoso. 2.º Que en la tuberculosis puede observarse o no, como sucede con las formas agudas y en los procesos graves exudativos. Reacción de PIROQUET positiva, linfocitosis y aumento del índice lipolítico corresponden a un estado de alergia y faltan en los estados anérgicos de la tuberculosis.

A pesar de todo, la linfocitosis, interpretada de acuerdo con el cuadro clínico, puede ser un buen dato de diagnóstico; por sí sola pocas veces resuelve uno dudoso.

La circunstancia de que la sífilis se acompañe también de linfocitosis, le quita mucho valor para el diagnóstico diferencial, sobre todo en los exámenes de líquido céfalo-raquídeo practicados en casos de afecciónes meníngeas.

*Fórmula de Arneth e índice nuclear.* — Otro síntoma de valor diagnóstico, semejante al de la linfocitosis, es el de la inversión nuclear o desviación de la fórmula de ARNETH. Recordemos en qué consiste ésta.

Si en el individuo normal contamos 100 leucocitos neutrófilos y los subdividimos según el número de lóbulos que presente su núcleo, encontraremos el siguiente resultado:

I	II	III	IV	V
5	35	41	17	2

que es lo que se conoce con el nombre de fórmula de ARNETH; y si ahora multiplicamos el número hallado en cada clase por el de sus lóbulos nucleares, obtendremos la cifra del total de lóbulos de los 100 neutrófilos. Esta cifra: 276, es lo que se llama índice nuclear (ARNETH 1904). Trabajos posteriores de von BONSDORFF, ARLOING, BRISSAUD, STEPHANI, etc., han co-

rregido estas cifras asignándoles los siguientes valores en el individuo sano:

	I	II	III	IV	V	
Hombre =	8	38,4	40,2	12,4	1	= 260
Mujer =	12	44,85	33,55	8,35	0,75	= 240

La tuberculosis desvía la fórmula a la izquierda, o sea, que las primeras suplantán a las últimas; los polinucleares disminuyen y el índice nuclear desciende. Desgraciadamente, bajo el punto de vista diagnóstico, en casi todas las enfermedades infecciosas sucede lo mismo.

Junto con la disminución del número de lóbulos nucleares, se observan otras alteraciones del núcleo: éste se hace más redondo y el número de corpúsculos cromáticos disminuye también.

Estos hechos pueden explicarse de la siguiente manera: Las investigaciones de todos los autores, empezando por METCHNIKOFF, parecen indicar que a los polinucleares les está asignada una función importante en los procesos de defensa del organismo, vis a vis de la infección. El aumento, la disminución, la degeneración de los polinucleares, no nos revelan, sin duda, más que el estado de defensa orgánica frente al ataque microbiano. Los neutrófilos de los grupos III, IV y V juegan en este proceso defensivo un papel preponderante y se forman incesantemente por segmentación de los núcleos de los neutrófilos mono y binucleares; la falta de esta segmentación, la dificultad para que se realice, constituyen una buena prueba de la etiología infecciosa de un proceso dado en que se observe.

Pero como ya decíamos anteriormente, la falta de especificidad de este proceso disminuye su valor diagnóstico diferencial, evaluado juntamente con la sintomatología clínica.

*Reacción de Fähröeus.* — Consiste en medir la velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos. Se mezcla la sangre con solución citrada para evitar su coagulación, y se mide la velocidad de sedimentación de los hematíes; para ello pueden seguirse dos procedimientos: el de LINZENMEIER, que consiste en determinar el tiempo que emplean los glóbulos en caer hasta 6,12 y 18 milímetros por debajo de su primitivo nivel, en un tubo de 5 milímetros de diámetro, y el de WESTERGREEN, en el cual se anotan en milímetros los espacios descendidos por los hematíes al cabo de 1, 2 y 24 horas de iniciada la prueba. Con esta última técnica, que es hoy la más usada, oscilan entre 2 a 6 milímetros para el hombre, y 2 a 8 para la mujer. Cifras superiores a 7 en el hombre y a 12 en la mujer, indican de una manera cierta un estado patológico.

La reacción, muy sencilla de practicar, es poco conocida en su mecanismo íntimo.

Todo parece indicar que se trata de un fenómeno complicado en el que intervienen varios factores. Para FÄHROEUS, HÖBER y VORSSCHÜTZ, se trata de un fenómeno electroquímico. KURTEN, atribuye el aumento de velocidad de sedimentación a una mayor cantidad de colessterina y la disminución de la velocidad a una mayor proporción de lecitina. MILEWSKI cree que influye en gran parte el Ph y la reserva alcalina. Según otros autores, el tamaño y peso de los hematíes (BÜRKER y SADLON), los cambios de tensión superficial del suero

(KOPACZENWSKI, SACHS), y la densidad de éste influirán en este fenómeno, comparando la caída de los hematíes a la caída de corpúsculos esféricos en un líquido, fenómeno que se rige por la ley de STOKES:

$$V = \frac{2 \cdot G \cdot D \cdot d \cdot r^2}{9 \cdot n}$$

V = velocidad de caída; G = aceleración;  
D = densidad de los corpúsculos; d = densidad del líquido; n = índice de frotamiento; r = radio de los corpúsculos.

La aplicación de esta fórmula a la sedimentación hemática es impracticable por su gran complejidad.

Otros autores creen que la temperatura y el período de digestión ejercen una gran influencia en el fenómeno.

Por último, STARLINGER, FRISCH y GRAM, así como BIERNACKI, que ha sido uno de los primeros investigadores de la reacción, creen que el aumento de velocidad de sedimentación de los hematíes es paralelo al aumento de globulinas del suero sanguíneo.

Como quiera que sea, la velocidad de sedimentación de los hematíes está aumentada en la tuberculosis, pero también lo está en el reumatismo articular agudo, la sífilis, el cáncer, ciertas anemias graves, el embarazo, etcétera. En la tuberculosis incipiente o en las muy graves la sedimentación puede ser normal.

La reacción, encuentra por todos estos hechos, naturales limitaciones diagnósticas.

*Reacciones de labilidad.*—Se denominan reacciones de labilidad las que ponen de manifiesto una tendencia mayor a la floculación que presentan los sueros de tuberculosos.

Para favorecer la labilidad, se añaden al suero muy distintas sustancias, variables según los autores.

De estas reacciones, las más usadas son: la de MATEFY, añadiendo solución diluída de sulfato aluminico; la de DARANYI, con alcohol y calor; la de COSTA, con novocaína y formol, y la de VERNES, a la resorcina, y empleando para medir el grado de floculación, el fotómetro de este autor.

El mecanismo íntimo de estas reacciones es muy oscuro.

De ellas podemos decir lo que de la de FÄHROEUS, o sea, que su especificidad es nula, puesto que se producen en gran número de infecciones. Cuando son positivas, constituyen un síntoma más, de valor diferencial, muy grosero y aprovechable únicamente uniéndolo al resto de los síntomas clínicos.

En conjunto, todas las reacciones no específicas que hemos reseñado son, en cierto modo, convenientes.

Si son positivas, nos harán investigar más cuidadosamente en otros sentidos, con objeto de comprobar la existencia de la tuberculosis sospechada y su diferenciación de otros procesos.

Todo esto se refiere al valor diagnóstico de estas pruebas, puesto que de su aplicación para el pronóstico de una afección tuberculosa ya confirmada, no hemos de ocuparnos aquí.

De todas ellas, las más utilizables y aconsejables, son

las que derivan del examen leucocitario (linfocitosis y fórmula de ARNETH).

*Reacciones específicas.*—Son las que se basan en la existencia de anticuerpos específicos resultantes del proceso de inmunización que, en mayor o menor grado, crea la infección bacilar en el organismo.

Las reacciones específicas que se utilizan son dos: la sero-aglutinación y la de desviación del complemento.

*Sero-aglutinación.*—El bacilo de Koch se presta poco para la obtención de las emulsiones homogéneas necesarias para la sero-aglutinación. Para conseguir esta emulsión homogénea, los diversos autores han ideado distintos procedimientos; así ARLOING y COURMONT obtienen la emulsión agitando diariamente el caldo glicerinado en que se cultiva el bacilo; KOCH desmenuzaba y emulsionaba los bacilos mecánicamente mediante el uso de un mortero eléctrico; FORNET, priva al bacilo de su cubierta cérea mediante la acción del éter y cree aumentar su emulsionabilidad de esta manera.

Cualquiera que sea el método de preparación de la emulsión, los resultados son semejantes. Empleando el método de ARLOING y haciendo la prueba macroscópica, los resultados que se obtienen son los siguientes:

El suero humano normal no aglutina al  $1 \times 5$  en el adulto, ni al  $1 \times 3$  en el niño. Con el suero tuberculoso la aglutinación se produce del  $1 \times 5$  al  $1 \times 15$ , pero hay que tener en cuenta que en las tuberculosis avanzadas graves, la aglutinación es a veces negativa.

El método en general, es útil, pero de una sensibilidad mediocre.

Además, la sero-aglutinación se produce también con los sueros de tifódicos, lo cual ha de tenerse en cuenta.

Una de las mejores aplicaciones del método lo constituyen los casos de aglutinaciones obtenidas con exudados pleurales o peritoneales que, en el caso de ser positivas, nos demuestran la naturaleza tuberculosa de tales derrames. Con este objetivo diagnóstico la práctica de la aglutinación es muy aconsejable.

*Sero-diagnóstico mediante la desviación del complemento.*—El problema del sero-diagnóstico por la desviación del complemento se halla concentrado en la elección de un antígeno apropiado. La mayoría de los antígenos propuestos, se han mostrado defectuosos, sea por su falta de especificidad, su función inexacta o su preparación complicada. El antígeno debe ser lo más puro posible y no contener ninguna sustancia capaz de provocar en los sueros tan lábiles de los tuberculosos, precipitaciones de albúmina que perjudicarían la reacción.

La primera sustancia que se empleó como antígeno, fué la emulsión de bacilos homogenizada por el método de ARLOING y COURMONT de que antes hablábamos.

Otro de los antígenos primitivos fué la tuberculina.

Los antígenos que se emplean en la actualidad, son:

El antígeno peptonado B<sup>2</sup> de CALMETTE y MASSOL (filtrado de una maceración de bacilos tuberculosos en solución de peptona de WHITE al 10 %).

El antígeno de BESREDKA (emulsión de bacilos muertos y lavados, procedentes de un cultivo en caldo con yema de huevo).

El antígeno metílico de NEGRE y BOQUET (bacilos procedentes de caldos glicerizados, son esterilizados a 120°

lavados con agua, lavados con acetona y puestos a macerar en alcohol metílico. El líquido de maceración constituye el antígeno).

El antígeno de WASSERMANN (bacilos tratados con tetralina y adicionados de lecitina).

De todos ellos, los más sensibles son el de BESREDKA y el antígeno metílico. El de WASSERMANN lo es mucho menos, pero tiene la ventaja sobre el de BESREDKA, de que no es fijado por el suero de los sifilíticos, cosa que sí sucede con este último.

Con el método de BESREDKA, los resultados positivos llegan hasta un 90 % en casos de tuberculosos confirmados. Como la reacción de BESREDKA es positiva con los sueros de los sifilíticos, es preciso cuando se practica ésta hacer al mismo tiempo una de BORDET-WASSERMANN; si ésta es negativa y la de BESREDKA positiva, se puede afirmar el diagnóstico de tuberculosis.

Cuando se trata de un sifilítico, debe volver a practicarse una sero-reacción de la tuberculosis con el antígeno de WASSERMANN, y si ésta es positiva, considerar seguro el diagnóstico de tuberculosis.

La sero-reacción tuberculosa negativa no excluye el diagnóstico de tuberculosis, pues ésta puede dar reac-

ciones negativas bien al principio de la enfermedad, bien al final, en formas muy graves, con gran desfallecimiento de las defensas orgánicas.

Como conclusiones de todo lo expuesto, podemos deducir:

1.º Que el método mejor de diagnóstico de la tuberculosis es la investigación del bacilo de Koch por examen directo, cultivo o inoculación. Las investigaciones en este sentido no deben omitirse nunca y se han de repetir hasta cerciorarnos de la persistencia del resultado.

2.º Que la reacción de desviación del complemento es una prueba cierta, si es positiva, de la infección tuberculosa, eliminando las causas de error debidas a la sífilis. La sero-aglutinación es también específica con las limitaciones enunciadas, aunque poco sensible.

3.º Las reacciones leucocitarias son un buen elemento de diagnóstico, aunque carecen de especificidad, y sólo pueden utilizarse contrastadas con la restante sintomatología.

4.º La reacción de FÄHROEUS y las de labilidad carecen de especificidad y ofrecen un valor diagnóstico bastante inferior.