

RESUMO DE TESE

DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE PULMONAR: AVALIAÇÃO DA REAÇÃO DE IMUNOPEROXIDASE PELAS TÉCNICAS DE DOT-ELISA E ELISA

As técnicas de DOT-ELISA e ELISA foram empregadas para a pesquisa de anticorpos da classe IgG anti-PPD em 27 pacientes com tuberculose pulmonar (A₁), em 35 indivíduos controles normais (B), em 10 pacientes com paracoccidiodomicose (C) e em 15 pacientes com hanseníase (D). Os soros de 10 pacientes com tuberculose pulmonar (A₂) foram avaliados em 3 períodos sucessivos após o início da quimioterapia. Dez pacientes com tuberculose pulmonar (A₃) foram pareados, por sexo e idade, aos pacientes com paracoccidiodomicose e outros 15 pacientes com tuberculose pulmonar (A₄) foram também pareados, por sexo e idade, aos pacientes com hanseníase.

As médias dos títulos de anticorpos, no subgrupo tuberculose (A₁), foram significativamente maiores, a um nível de significância de 0,05 quando comparadas ao controle (B), tanto pela técnica de DOT-ELISA ($p < 0,001$) quanto ELISA ($p < 0,001$). Não ocorreram diferenças significativas destes títulos, no subgrupo tuberculose (A₁), entre os sexos masculino e feminino, nem entre 3 faixas etárias, 19 a 25 anos, 26 a 30 anos e maiores de 30 anos, pelas duas técnicas. No subgrupo controle (B), também não ocorreram diferenças significativas dos títulos de anticorpos, entre os sexos e faixas etárias pela técnica de ELISA. Os títulos de anticorpos detectados em indivíduos deste subgrupo (B), pela técnica de DOT-ELISA, mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os dois sexos e as três faixas etárias. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas, nas médias dos títulos de anticorpos, em 10 pacientes com tuberculose (A₂), quando analisadas em 3 períodos sucessivos, após o início da quimioterapia pelas duas técnicas. Obteve-se um coeficiente de correlação de 0,6942 entre os títulos de anticorpos anti-PPD, no subgrupo tuberculose (A₁), por ambas as técnicas.

A comparação das médias dos níveis de anticorpos, entre os pacientes dos subgrupos paracoccidiodomicose (C) e tuberculose (A₃), não mostrou diferenças estatisticamente significantes pelas duas técnicas.

As médias dos níveis de anticorpos, observadas pela técnica de DOT-ELISA quando foram comparados os pacientes dos subgrupos hanseníase (D) e tuberculose (A₄), não foram diferentes estatisticamente. As médias dos níveis de anticorpos foram significativamente maiores nos pacientes do subgrupo hanseníase (D), pela técnica de ELISA, quando

DIAGNOSIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS USING DOT-ELISA AND ELISA IMMUNOPEROXIDASE TECHNIQUES

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and DOT-ELISA were employed in the detection of anti-PPD IgG antibodies in serum samples from 27 patients with pulmonary tuberculosis (A₁), 35 healthy controls (B), 10 patients with paracoccidiodomycosis (C), and 15 patients with leprosy (D). Ten patients with pulmonary tuberculosis (A₂) had their sera evaluated in three consecutive periods after chemotherapy had started. Ten patients with pulmonary tuberculosis (A₃) were paired off, according to sex and age, for comparison to patients with paracoccidiodomycosis, and 15 other patients with pulmonary tuberculosis (A₄) were likewise paired off, for comparison to patients with leprosy.

Mean antibody titres were significantly higher in the tuberculosis subgroup (A₁), than in controls (B), at a 5% significance both using DOT-ELISA ($p < 0,001$) or ELISA ($p < 0,001$). Results obtained with both techniques yielded no significant difference in antibody titres, when males or females and three different age ranges (19 to 25, 26 to 30 and above 30) were compared in the tuberculosis subgroup (A₁). The analysis of mean antibody titres in the control subgroup (B) revealed no significant differences after sex and age stratification, using ELISA; however when DOT-ELISA was employed statistically significant differences in mean antibody titres were noticed. Both techniques showed no statistically significant differences in mean antibody titres in 10 patients with tuberculosis (A₂) studied in three consecutive periods after chemotherapy had started. Concordance rate between mean anti-PPD antibody titres in both techniques was 0,6942 in the tuberculosis subgroup (A₁).

Mean antibody titers in patients with paracoccidiodomycosis (C) and tuberculosis (A₃) were compared yielding no statistically significant difference.

When compared to leprosy patients (D) DOT-ELISA mean antibody titers in tuberculosis patients (A₄) were not statistically different. However ELISA detected significantly higher mean antibody titers in the leprosy subgroups (D).

Adopting a cutoff titre ≥ 80 in DOT-ELISA and a cutoff optical density $\geq 0,176$ in ELISA sensitivities of 0,70 and 0,63, and specificities of 0,97 and 0,94 were respectively verified. Positive predictive values of 0,95 and 0,86, and negative predictive values of 0,92 and 0,84 were obtained with DOT-

comparados aos pacientes do subgrupo tuberculose (A4).

Nos limiares de reatividade ≥ 80 de título, para a técnica de DOT-ELISA e $\geq 0,176$ de densidade ótica, para a técnica de ELISA, constataram-se sensibilidades de 0,70 e 0,63, respectivamente, e especificidades de 0,97 e 0,94, respectivamente, para as técnicas de DOT-ELISA e ELISA. Nesses limiares de reatividade obtiveram-se valores preditivos positivos de 0,95 e 0,86 e valores preditivos negativos de 0,92 e 0,84, respectivamente, para as técnicas de DOT-ELISA. Em vista de suas características de alta especificidade – embora com menor sensibilidade – tais técnicas podem ser aplicadas ao diagnóstico de tuberculose pulmonar em centros que atendam pacientes com pneumopatias, cujo quadro clínico possa assemelhar-se ao da tuberculose pulmonar. Na triagem de pacientes em grandes grupos populacionais ou em circunstâncias nas quais não se disponha de material biológico, a utilização de limiares de reatividade ≥ 20 de títulos para a técnica de DOT-ELISA e $\geq 0,115$ de densidade ótica para a técnica de ELISA, resultaria em sensibilidade, respectivamente, de 1,00 e 0,96 e em especificidades, respectivamente, de 0,710 e 0,630.

A avaliação dos níveis de anticorpos, em períodos posteriores ao término da quimioterapia, necessita ser estudada prospectivamente, em nosso meio, com casuísticas que permitam conhecimento da sensibilidade dessas técnicas no diagnóstico precoce das recidivas de tuberculose pulmonar, particularmente naqueles pacientes que evoluam com formação de grandes cavernas pulmonares, com persistência de sintomatologia respiratória e baciloscopia negativa de escarro.

Em relação à hanseníase e à paracoccidiodomicose, os baixos níveis de especificidade, observados por ambas as técnicas, com os mesmos limiares de reatividade, estimulam a pesquisa de antígenos mais específicos, que possam discriminar a tuberculose de quadros clínicos semelhantes e de outras micobacterioses. Em especial, tais antígenos seriam de grande valia no reconhecimento precoce das recaídas e no controle de cura, particularmente em situações de abordagem clínica difícil em que materiais biológicos não estejam disponíveis para estudos microbiológicos. Da mesma forma, seria possível pesquisar a utilidade de tais antígenos em outras formas clínicas de tuberculose, tais como nas apresentações meningoencefálica, ósteo-articular, ocular, ganglionar, serosa, intestinal e na tuberculose da infância.

ELISA and ELISA using the same cutoffs. Regarding their high specificities, in spite of low sensitivities, these techniques may be employed in the differential diagnosis of pulmonary diseases, when tuberculosis is considered. If cutoff titers ≥ 20 in DOT-ELISA and optical density $\geq 0,115$ in ELISA are employed in the screening of large populational groups or whenever biological specimens are not available, resultant sensitivities would be 1,00 and 0,96 and specificities would be 0,70 and 0,630.

The detection of anti-PPD antibodies after chemotherapy has been stopped should be prospectively studied in order to evaluate the sensitivity of these techniques in early diagnosis of pulmonary tuberculosis relapses, particularly in patients who present large pulmonary cavities, persistent respiratory symptoms and negative sputum smears.

As far as leprosy and paracoccidiodomycosis are concerned, low specificities were observed by both techniques with the same cutoffs. Therefore further research after more specific antigens should be encouraged, so as to enable tuberculosis to be distinguished from other pulmonary diseases and other mycobacteriosis. Such antigens would be quite useful, specially in early recognition of tuberculosis relapses, or in assessing recovery, particularly when biological specimens are not available for microbiological studies. Likewise, the usefulness of these antigens could also be investigated in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis.

Olavo Henrique Munhoz Leite
Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Mestre
São Paulo, São Paulo, Brasil, 1990