



Albúmina en la detección de sangre oculta en heces

Juan Alberto Pérez Carrasco,* Mario Álvarez Marcer,* Enrique Abraham Marcel,**
Isabel Giraldino Falero*

Palabras clave:

Sangre oculta, heces, cáncer colorrectal, albúmina, látex, aglutinación.

Key words: Occult blood, faeces, colorectal cancer, albumin, latex, agglutination.

*Empresa de Producción de Biológicos «Carlos J. Finlay», La Habana, Cuba.

**Ministerio de Salud Pública de Cuba.

Correspondencia:
MSc. Juan Alberto Pérez Carrasco
Infanta No. 1162
esquina a Manglar, Centro Habana, La Habana, Cuba
C.P. 10300
Tel: (537) 870 8081
al 86 exts. 130, 131, 151
E-mail: jalberto@finlay.quimefa.cu
jalberto.carrasco1@gmail.com

Recibido:
04/01/2013.
Aceptado:
11/04/2013.

RESUMEN

Introducción: La detección de sangre oculta en las heces es un ensayo de gran utilidad para realizar el estudio de pacientes en los que se sospecha sangrado intestinal, por lo que constituye una vía práctica para la realización de pesquisas de cáncer colorrectal y otras patologías en población sana. Considerando que la hemoglobina y la albúmina son las proteínas mayoritarias en la sangre, se propuso evaluar la utilidad de ambas en la detección de sangre oculta en heces. **Material y métodos:** Se estudió una población de 71 pacientes provenientes de tres hospitales de la capital, utilizando como referencia la prueba inmunocromatográfica, Hexagon Obti, de la firma comercial Human, Alemania. **Resultados:** La respuesta encontrada para cada sistema fue como sigue: sistema de hemoglobina humana (Hbh), sensibilidad de 94.74%, especificidad 98.08% y valores predictivos positivo y negativo 94.74% y 98.08%, respectivamente. Sistema de albúmina humana (Albh), sensibilidad 78.95%, especificidad 100% y valores predictivos positivo y negativo 100% y 92.86%, respectivamente. La correspondencia de ambos métodos con el reactivo de referencia fue de 97.18% y 94.36% para los sistemas de Hbh y Albh, respectivamente. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos indican que el método dirigido a la detección de Hbh ofrece mayor sensibilidad, lo que lo hace, entre las dos variantes estudiadas, el de mayor confiabilidad, aunque el sistema de látex aglutinación para detección de Albh pudiera ser también una buena opción.

ABSTRACT

Background: The detection of faecal occult blood is a very useful test for the study of patients in which intestinal bleeding is suspected constituting a practical way for the screening of colorectal cancer and other pathologies in healthy population. Taking in account that hemoglobin and albumin are the main proteins in blood we decided to evaluate the usefulness of both proteins for the detection of faecal occult blood which means intestinal bleeding. **Material and methods:** A population of 71 patients from 3 hospitals of Havana City was studied using as reference preparation the immunocromatographic test Hexagon Obti, Human, Germany. **Results:** The results founded for each of two systems were as follows: Human hemoglobin system (hHb), sensitivity 94.74%, specificity 98.08%, positive and negative predictives values 94.74% and 98.08% respectively; Human albumin system (hAlb), sensitivity 78.95%, specificity 100% and positive and negative predictives values 100% and 92.86% respectively. The correspondence of both methods with the reference reagent was 97.18% and 94.36% for the systems of hHb and hAlb respectively. **Conclusions:** According with the results there is no doubt that the hHb system showed a higher sensitivity and it is the system of choice. Nevertheless the hAlb system could be a good option.

INTRODUCCIÓN

Estudios masivos han demostrado que la detección del cáncer en etapas tempranas puede modificar el curso clínico de la enfermedad y permite la aplicación de tratamientos más sencillos, menos costosos y más efectivos. El cáncer colorrectal constituye un serio problema de salud. La incidencia anual en el mundo se estima en aproximadamente un millón de casos y la mortalidad en más de 500 mil.¹

La presencia de sangre oculta en las heces para el diagnóstico de esta patología constituye una herramienta de gran valor. Entre las técnicas disponibles en el mercado para estos propósitos, los métodos inmunoquímicos resultan los de mayor confiabilidad por su alta especificidad.²⁻⁵ Los reactivos de látex aglutinación en lámina, basados en la reacción antígeno-anticuerpo, se caracterizan por su simplicidad, especificidad, fácil ejecución y bajo costo.

Considerando que la hemoglobina humana (Hbh) y la albúmina humana (Albh) constituyen las proteínas mayoritarias en la sangre, estimamos evaluar la efectividad de éstas en sistemas de látex aglutinación en lámina, en los que las partículas de látex están recubiertas con anticuerpos específicos a estas proteínas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sistema de látex aglutinación para detección de Hbh.

Reactivos 1: Suspensión de partículas de látex de poliestireno de 0.8 μm de diámetro al 1% recubiertas con anticuerpos policlonales contra hemoglobina humana (Hbh) obtenidos en carneros.

Reactivos 2: Control positivo (50 μg de Hbh/mL en tampón Tris-HCl 60 mmol/L, pH 7.5 y albúmina humana y azida sódica al 0.1%).

Reactivos 3: Tampón de extracción (3 mL) en frascos muestreadores.

Límite de detección: 1 μg de Hbh/mL.

Sistema de látex aglutinación para detección de Albh. **Reactivos 1:** Suspensión de partículas de látex de poliestireno de 0.8 μm de diámetro al 1% recubiertas con anticuerpos policlonales contra la albúmina humana (Albh) obtenidos en carneros.

Reactivos 2: Control positivo (10 μg de Albh/mL y azida sódica al 0.1%).

Límite de detección: 1.5 μg de Albh/mL.

Muestras. Se estudiaron 71 pacientes provenientes de tres hospitales de la ciudad de La Habana.

Toma de muestra. El extremo del muestreador se introdujo, de forma aleatoria, en puntos diferentes de la muestra. Se volvió a introducir el muestreador en el frasco y se cerró fuertemente. Se agitó el frasco en forma enérgica para mezclar la muestra y el tampón de extracción.

Procedimiento. 1) Se homogeneizó el reactivo 1 de ambos juegos. 2) Se comprobó la funcionalidad de los reactivos 1 mediante sus controles positivos, usando el mismo método que para las muestras. 3) Se agitó el tubo de suspensión de la muestra para asegurar una buena dispersión y se rompió la punta superior. 4) Se dosificó una gota de la muestra en cada zona de reacción de una lámina para aglutinación. 5) En una de ellas se añadió una gota del látex anti-Hbh y en el otro una gota del látex anti-Albh y se mezclaron bien con la ayuda de dos aplicadores. 6) Se agitó en forma manual, balanceando la lámina para aglutinación lentamente por no más de dos minutos para RapiLat-Hemo y no más de tres minutos para RapiLat-Albúmina. 7) Se observó a simple vista, bajo buena iluminación y fondo negro.

Interpretación de los resultados. **Negativo:** Suspensión que se mantiene homogénea hasta el tiempo indicado en la técnica.

Positivo: La presencia de aglutinación en el tiempo de análisis indicó contenido de Hbh o de Albh en la muestra.

Método de referencia. Kit inmunocromatográfico Hexagon-Obti de la firma comercial Human (Alemania), siguiendo la técnica recomendada por el fabricante.

Parámetros evaluados. Los resultados fueron expresados en un cuadro de contingencia 2 x 2 para facilitar el cálculo de los parámetros de interés: índice de concordancia kappa, sensibilidad y especificidad clínica, valores predictivos y razones de probabilidad.

Índice de concordancia kappa: El coeficiente kappa fue determinado con el software estadístico Vassar Stats. Se valoró el grado en función del índice kappa según los márgenes propuestos por Landis y Koch.⁶

Sensibilidad, especificidad clínica y valores predictivos: Se calcularon los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) junto con la sensibilidad y especificidad clínica.⁷

Razones de probabilidad: Las razones de probabilidad fueron calculadas teniendo en cuenta los resultados de sensibilidad y especificidad.⁸

RESULTADOS

De los 19 resultados positivos de los 71 pacientes estudiados mediante el reactivo Hexagon-Obti, 18 fueron positivos con el sistema de látex aglutinación para detección de Hbh y 15 con el sistema para detección de Albh.

Parámetros evaluados. Los resultados del ensayo cualitativo realizado a las muestras, expresados en un cuadro de contingencia 2 x 2, se muestran en el cuadro I.

Índice kappa: El índice kappa determinado entre los sistemas de látex aglutinación para detección de Hbh y de Albh contra el kit Hexagon-Obti correspondieron a 0.93 y 0.85, respectivamente. La concordancia fue satisfactoria.⁹

Respecto al sistema de látex aglutinación para detección de Hbh, la sensibilidad clínica fue de 94.74%. La presencia de un falso positivo según la cantidad de muestras estudiadas brindó 98.08% de especificidad, alcanzando valores predictivos positivos y negativos de 0.94 y 0.98, respectivamente (cuadro I).

Razones de probabilidad: Se obtuvo un cociente de probabilidad positivo de 49.60.

En cuanto al sistema de látex aglutinación para detección de Albh, la sensibilidad clínica fue de 78.95% debido a cuatro casos falsos negativos. La especificidad fue de 100%, alcanzando valores predictivos positivos y negativos de 1.0 y 0.93, respectivamente (cuadro I).

Razones

Cuadro I. Cuadro de contingencia 2 x 2. Comparación cualitativa del sistema de látex aglutinación para detección de Hbh y el sistema de látex aglutinación para detección de Albh con la prueba inmunocromatográfica Hexagon-Obti de la firma comercial Human (Alemania) para un tamaño de muestra n = 71.

		Sistema Hbh		Sistema Albh	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Hexagon-Obti	Positivo	18	1	15	4
	Negativo	1	51	0	52
	Total	19	52	15	56

de probabilidad: Se obtuvo un cociente de probabilidad positivo de 4.75.

DISCUSIÓN

El cáncer en Cuba constituye la segunda causa de mortalidad general, siendo la causa de mayor impacto en la esperanza de vida al nacer.^{10,11} El cáncer colorrectal representa 9.4% de la carga de cáncer mundial;¹ en nuestro país, en el 2008 ocupó el cuarto puesto en cuanto a incidencia, según cifras del Anuario Estadístico 2011 del Ministerio de Salud Pública de Cuba.¹¹

Como es ya conocido, la detección de sangre en heces constituye una herramienta fundamental para el diagnóstico temprano de la enfermedad a través de la realización de estudios poblacionales y, por supuesto, en la evaluación inicial de pacientes en los centros especializados.

En este sentido, la detección de proteínas sanguíneas en las heces es precisamente el indicativo de la presencia de sangre en el material fecal. Actualmente existen en el mercado diagnosticadores para estos propósitos, siendo la hemoglobina y la albúmina las más utilizadas por ser las proteínas mayoritarias de la sangre.¹²⁻¹⁴

Otro factor a considerar para enfrentar este problema de salud es contar con diagnosticadores eficientes y económicos. La técnica de látex aglutinación en lámina, además de poseer estas cualidades, no requiere de equipamiento; es de respuesta rápida y su fundamento está basado en una reacción inmunológica antígeno-anticuerpo, eliminando las restricciones dietéticas, medicamentosas y de otra sustancia, brindando una adecuada sensibilidad y especificidad.

El objetivo de este trabajo fue evaluar dos sistemas de látex aglutinación en lámina para el estudio de estas proteínas en heces. La evaluación realizada contra el kit

Hexagon-Obti mostró que ambos sistemas resultan útiles (correspondencia de 0.97 y 0.94 para sistema de látex aglutinación para detección de Hbh y Albh, respectivamente). Aunque no existe un consenso en la existencia de sangrado fisiológico, muchos autores plantean que un individuo normal pierde diariamente de 0 a 2.5 mL de sangre en el tubo gastrointestinal.¹⁵ Por ello, parece razonable utilizar una prueba que empiece a ser positiva con una pérdida de sangre de aproximadamente 7 μ L. En la actualidad, la mayoría de los juegos de reactivos para este propósito intentan detectar niveles de marcadores inferiores a estos valores. De acuerdo con los resultados anteriores, el sistema de Hbh sería el diagnosticador de elección; no obstante, hay que tener en cuenta que el sistema de Albh fue diseñado para la detección de microalbúminuria y que existe la posibilidad de diseñar el reactivo para mover el límite de detección a niveles inferiores.

Aunque la sensibilidad de ambos sistemas es la misma (1 – 2 μ g/mL) hay que considerar que la concentración en sangre hemolizada es 6.4 veces mayor para la hemoglobina que para la albúmina. Sin embargo, desde el punto de vista costo-beneficio, ambos sistemas justifican estudios poblacionales para la detección de pacientes que podrían beneficiarse con una terapia temprana.

AGRADECIMIENTOS

A las Tec. Anyela Hernández Cabrera y Elsa La Rosa Noda, de la Empresa de Producción de Biológicos «Carlos J. Finlay», por su colaboración para el desarrollo de este trabajo.

REFERENCIAS

1. World Gastroenterology Organization. Organización Mundial de Gastroenterología/Guías Prácticas de la Alianza Internacional para Cáncer Digestivo: Tamizaje del cáncer colorrectal. 2007.

2. Allison JE, Sakoda LC, Levin TR, Tucker JP, Tekawa IS, Cuff T, Pauly MP, Shlanger L, Palitz AM, Zhao WK, Sanford SJ, Ransohoff DF, Selby JV. Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: Update on performance characteristics. *J Natl Cancer Inst.* 2007; 99 (19): 1462-1470.
3. Guittet L, Bouvier V, Mariotte N. Comparison of a guaiac based and an immunochemical faecal occult blood test in screening for colorectal cancer in a general average risk population. *Gut.* 2007; 56: 210-214.
4. Dancourt V, Lejeune C, Lepage C, Gailliard MC, Meny B, Faivre J. Immunochemical faecal occult blood test are superior to guaiac-based test for the detection of colorectal neoplasms. *Eur J Cancer.* 2008; 44: 2254-2258.
5. Haug U, Hundt S, Brenner H. Quantitative immunochemical fecal occult blood testing for colorectal adenoma detection: Evaluation in the target population of screening and comparison with qualitative tests. *Am J Gastroenterol.* 2010; 105 (3):682-690.
6. Fleiss JL. Statistical method for rates and proportions. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons. 1981.
7. Pita S, Pértegas S. Pruebas diagnósticas. *Cad Aten Primaria.* 2003; 10: 120-124.
8. Greenhalgh T. How to read a paper: Paper that report diagnostic or screening tes. *BMJ.* 1997; 315: 540-543.
9. López de Ullibarri I, Pita S. Medidas de concordancia: el índice kappa. *Cad Aten Primaria.* 1999; 6: 169-171.
10. Organización Mundial de la Salud. Programas Nacionales de Control del Cáncer: Políticas y Pautas para la Gestión. Washington, DC: 2004.
11. Anuario Estadístico de Salud 2011. Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. Ministerio de Salud Pública. Edición especial. La Habana. 2012.
12. Gut. Comparison of three faecal occult blood test in the detection of neoplasia. *PubMed.* 1996; 39 (5): 722-725.
13. Faecal occult blood testing devices. MDA Report No. MD4 00/05. Date Mars 2000.
14. Manual del kit ELISA para la detección de Albúmina *in vitro* en orina y en heces. Alemania: Immun Diagnostik, 2007.
15. García D, Rodríguez JA. ¿Ha llegado el momento de recomendar el cribado del cáncer colorrectal en España? En: PJ Tárraga López. Impacto del cribado del cáncer colorrectal mediante detección de sangre oculta en heces en una zona de salud. Madrid: Gráficas MACAYPA, 1997. p. 9-10.