

# Presente y futuro de la serología

María Victoria Borobio

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. España.

**Se describe el origen y la evolución de las técnicas serológicas durante los 25 últimos años. Actualmente se considera que el diagnóstico serológico es sensible, automatizable y puede tener una interpretación objetiva. Se discute la necesidad del uso de parejas de sueros y la creación de una seroteca para poder interpretar los resultados y correlacionarlos con las nuevas enfermedades. Finalmente, se consideran los inconvenientes y desventajas que pueden presentarse con la externalización de las determinaciones serológicas.**

**Palabras clave:** Serología. Inmunoglobulinas. Anticuerpos. Diagnóstico.

The present and future of serology

**The origins and evolution of serological techniques in the last 25 years are described. At present, serological diagnoses are considered to be sensitive, suitable for automation and subject to objective interpretation. The need for the use of serum pairs and the creation of a serotheque to enable results to be interpreted and related to new pathologies are discussed. Finally, the pros and cons of the outsourcing of serological testing/determination are considered.**

**Key words:** Serology. Immunoglobulin. Antibodies. Diagnosis.

## Introducción

La serología o inmunología microbiana como parte integrante de la microbiología clínica, es la hermana pobre de la bacteriología; cuando pensamos en nuestra especialidad, lo primero que acude a nuestra mente son conceptos como “bacteria”, “resistencias”, “antibiograma”, “técnicas de PCR”... y nunca “anticuerpos”, “seroconversión” o “avidez de la IgG”. Y sin embargo, fue de la incipiente serología de la que se desarrolló e independizó la pujante disciplina que es actualmente la inmunología con todas sus subespecialidades.

Deseamos recoger aquí la experiencia de 26 años de desarrollo de una unidad de serología. Para ello, dividiremos la exposición en tres partes: en primer lugar, la evolución

sufrida a lo largo de los años, para luego analizar la filosofía con que se ha realizado el trabajo y lo que ello ha supuesto en cuanto al estudio y conocimiento de la patología infecciosa en nuestra área y, en tercer lugar, los problemas que pueden presentarse en un futuro próximo y las consecuencias que se deriven de ellos.

## El pasado de la serología. Su evolución en el tiempo

### Evolución del número de muestras

Desde 1976, año en que comenzó su existencia la Unidad de Serología de Hospital Universitario Virgen Macarena, tanto el número de muestras recibidas como el de determinaciones realizadas en cada suero, han ido en aumento (tabla 1). Se observa un punto de inflexión en 1997 debido a que a partir de esta fecha se comenzarán a recibir todas las peticiones de serología del área que cubre nuestro hospital (500.000 personas). De ahí el aumento en 5.000 sueros que se registra ese año y la inversión en el origen de las muestras que del 36% de origen ambulatorio pasó a representar el 66% (tabla 2).

En los últimos 10 años, además del número de sueros, se ha elevado lentamente el número de determinaciones realizadas por suero. Ese aumento se ha llevado a cabo solamente en las peticiones de enfermos hospitalizados, que han pasado de ser 2,8 por suero en 1991 a 5,6 en 2001. Las solicitudes desde ambulatorios y centros de salud se mantienen constantes en un promedio de 2,5 peticiones por suero.

Considerando este último período de 10 años, puede observarse que las determinaciones llevadas a cabo en 1991 fueron 25.540, elevándose a 53.650 en 1997 y a 58.348 en el año 2001.

En las figuras 1 a 3 se observa la curva ascendente de prácticamente todas las determinaciones desde 1995 a 2001. Se observa una inflexión brusca en las realizadas frente a rubéola, toxoplasma IgG (inmunoglobulina G), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), enzimoimmunoanálisis (ELISA), RPR (*rapid plasma reagin*), virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC). Para el resto de determinaciones, la inflexión fue mucho menor. Por otra parte, las peticiones de protocolos diagnósticos, probablemente por estar más relacionados con los pacientes seguidos en el hospital, mostraron una elevación más discreta.

En la figura 4 se observa cómo las determinaciones frente a VIH mediante la técnica ELISA pasaron de casi 4.000 en 1995 a más de 8.000 en el 2001 y, curiosamente, las positividads obtenidas mediante la técnica de *Western blot* mostraron una evolución inversa, pasando de 592 en 1995 a la mitad, 270, en 2001.

Correspondencia: Dra. M.V. Borobio.  
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena.  
Avda. Dr. Fedriani, s/n. 41071 Sevilla. España.  
Correo electrónico: mvborobio@us.es

### Evolución de las técnicas

El gran aumento en el número de muestras y peticiones de determinaciones que en los últimos años se ha experimentado en nuestro laboratorio habría sido imposible sin la evolución sufrida por las técnicas serológicas. Las que teníamos a nuestro alcance en los comienzos eran, relacionadas con las actuales:

1. *Menos sensibles.* En cuanto a su capacidad de detectar menor cantidad de anticuerpos (la aglutinación es 10 veces menos sensible que el ELISA).

2. *Sujetas a múltiples variables.* En la reacción de fijación de complemento, la titulación de todos los reactivos entre sí, es imprescindible para poder valorar sus resultados.

3. *Realización laboriosa.* La mayoría de las veces artesanal. En la técnica de inhibición de la hemaglutinación del virus de la rubéola había que comenzar por extraer sangre a una paloma en la vena del ala y continuar tratando los sueros con sustancias diversas como el caolín o los mismos hematíes de paloma, todo ello antes de dar comienzo a la reacción.

4. *Su interpretación era subjetiva.* La aglutinación o la fluorescencia no se negativizan de una dilución a la siguiente, sino que lo hacen paulatinamente: ¿dónde colocar el *end point*?

Las actuales técnicas poseen características que hacen que sean:

1. *Más sensibles:* ELISA, quimioluminiscencia.
2. *Automatizables* o semiautomatizables.
3. *Interpretación objetiva.*

Más que la posibilidad de utilizar técnicas más precisas, lo que de verdad ha revolucionado la serología ha sido la evolución de lo que podría llamarse el pequeño aparataje; así, la placa microtiter con su aparición marca el cambio del trabajo artesanal al automático de hoy. Sus 96 pocillos

TABLA 1. Muestras recibidas desde 1976

Año	Número de muestras
1976	1.890
1986	7.373
1996	14.296
1997	19.350
2001	20.342

TABLA 2. Origen de los sueros expresados en porcentajes

Año	Ambulatorio/Hospital
1991	36/64
1996	36/64
1997	66/34
1998	57/43
1999	61/39
2000	75/25
2001	74/26

equivalen a 96 tubos de hemólisis de los utilizados antes de su aparición para realizar aglutinaciones, RPR, fijación de complemento, etc., puesto que era el único soporte existente. Esto quiere decir que no hay que observar por el aglutinoscopio 12 tubos uno a uno, sino echar una ojeada a una fila horizontal de una placa para determinar el título de anticuerpos frente a *Brucella* de un suero determinado. Otra gran ventaja de la placa microtiter es que permite trabajar con pequeñas cantidades de suero, 25, 50 µl frente a 1 ml que requerían los tubos de hemólisis y eso es algo esencial en la serología clínica, sobre todo en pacientes pediátricos.

Fue la existencia de este soporte quien facilitó el desarrollo de la técnica ELISA en todas sus variantes para ser adaptada comercialmente. La perfección del sistema se

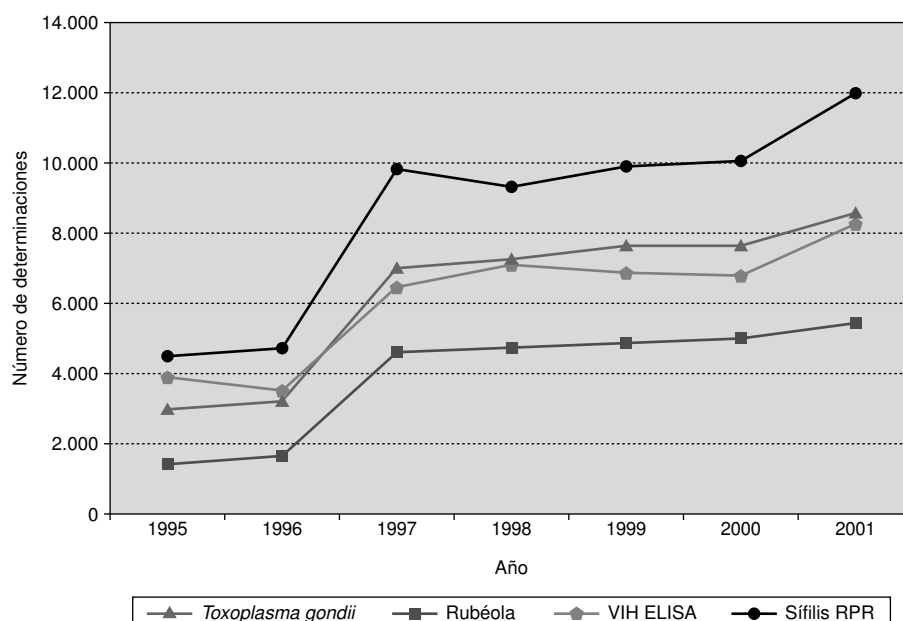
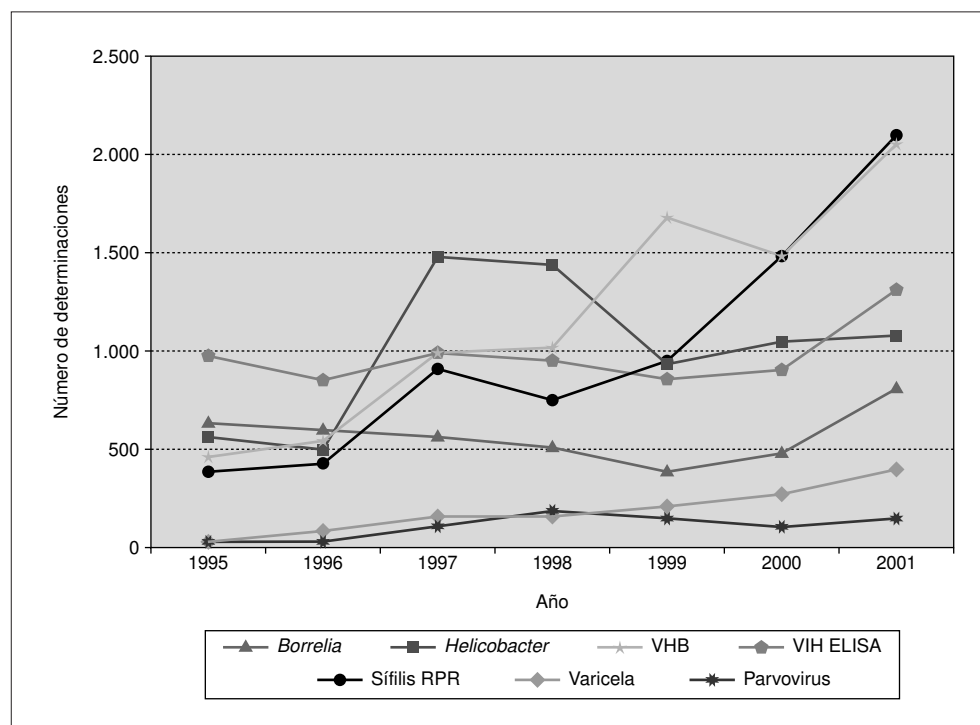
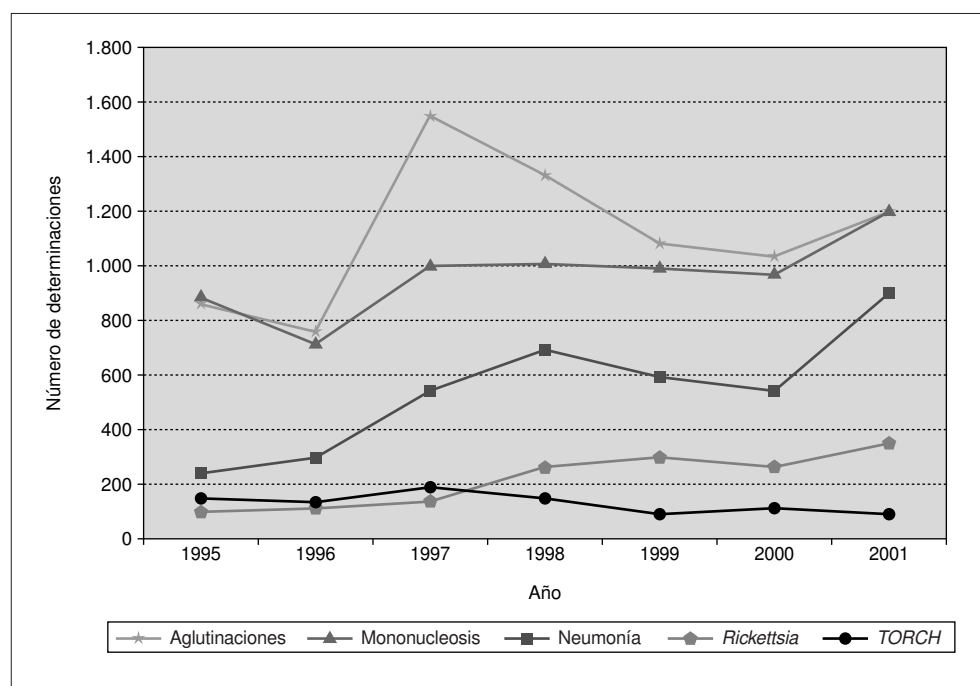


Figura 1. Determinaciones realizadas por años.



**Figura 2.** Evolución de las determinaciones.



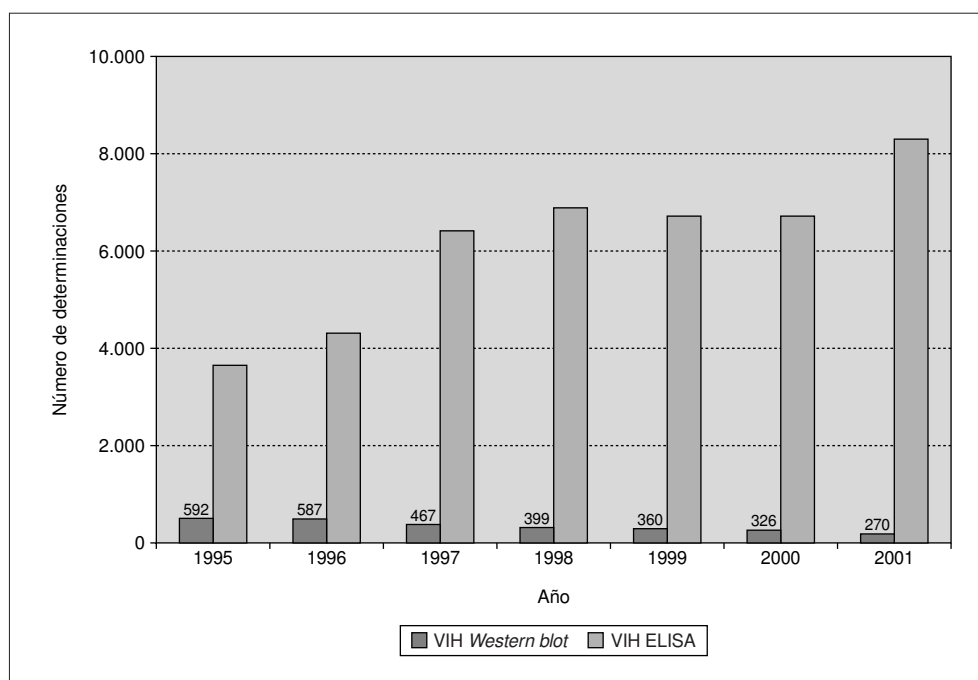
**Figura 3.** Evolución de las peticiones de protocolos.

ha alcanzado con la posibilidad de cortar los pocillos por tiras con el objeto de no desperdiciar reactivos, sino utilizar solamente los necesarios.

Paralelamente a la placa microtiter se desarrollaron, como es lógico, *micropipetas* capaces de dispensar pequeños volúmenes de reactivos. Al principio eran muy rudimentarias, una gran pipeta capaz de almacenar 1 a 2 ml de reactivo con una punta calibrada a 25 y 50  $\mu$ l que permitía depositar esas cantidades... de forma manual.

Sucesivos “prototipos”, cada vez un poco más sofisticados, abocaron a las exactas micropipetas actuales.

La aparición de los primeros *procesadores semiautomáticos* de sueros en 1987 tipo IMX (Abbott) marcó la segunda gran inflexión. Hasta entonces era impensable que se pudieran depositar 20 sueros en un carroussel y en menos de 2 h obtener el resultado. Ahora, determinar anticuerpos frente al virus de la rubéola no era cuestión de 2 días, sino de ¡2 h!



**Figura 4.** Evolución de la serología frente al virus de la inmunodeficiencia humana.

Posteriormente, una generación de *autoanalizadores semiautomáticos* para técnicas de ELISA se desarrolló con profusión. Cada casa comercial presentaba el suyo con características específicas: realización de técnicas sucesivas o simultáneas en el mismo suero, con lector incorporado o no, abiertos a cualquier técnica o sólo a las del distribuidor etc. Actualmente son una buena herramienta cuando las determinaciones a realizar frente a uno o varios antígenos no son muchas.

Los *autoanalizadores automáticos* tienen su indicación en aquellos casos en los que el número de determinaciones es elevado. Al igual que los que detectan parámetros de bioquímica, pueden llevar a cabo numerosas determinaciones en un suero utilizando una mínima cantidad de éste. El tipo de anticuerpos que se pueden poner de manifiesto por estos métodos varía de unas empresas comerciales a otras, de 6 a 10 parámetros como término medio, aunque constantemente se añaden más determinaciones. La técnica que realizan puede ser ELISA o quimioluminiscencia. Todos los sistemas son cerrados.

## Filosofía de la unidad de serología

El trabajo de estos 26 años se ha fundamentado en dos pilares básicos: trabajar con parejas de suero como la forma adecuada de llevar a cabo múltiples diagnósticos mediante la demostración de una seroconversión y para conseguirlo, la creación y mantenimiento de una seroteca que hoy cuenta con 26 años.

### Parejas de sueros

Basándonos en la lenta aparición de los anticuerpos en la mayoría de los procesos infecciosos y, por lo tanto, en la escasa información que una primera muestra de suero puede proporcionar, ésta se mantendrá congelada hasta recibir una segunda separada de la primera entre 15 y 20 días. No es fácil acostumbrar a los clínicos a que cuando

envían un primer suero, en lugar de algún tipo de información reciban la solicitud de una segunda muestra. Así lo prueba el hecho de que después de 26 años trabajando de este modo, en el año 2001 se detectó una pérdida del segundo suero en el 35% de las solicitudes de serología de neumonía atípica del adulto (190/520) y el 33% en la infantil (84/250).

### Creación de una seroteca

Este es un logro del que estamos muy orgullosos, pues hemos sido capaces de mantener los sueros recibidos desde 1976 congelados y clasificados a pesar de la incomprensión y falta de dotación de medios mostrada por los distintos gerentes a lo largo de este tiempo.

La finalidad evidente de poseer una colección de sueros es, en primer lugar, poder trabajar con parejas de sueros para realizar un mejor diagnóstico de las enfermedades infecciosas, pues a nadie se le escapa la información limitada que un suero puede ofrecer, frente a la que aportan dos sueros, uno tomado en la fase aguda de la enfermedad y otro en la convaleciente.

Adicionalmente, las posibilidades diagnósticas pueden concretarse en las que se exponen seguidamente (tabla 3):

### Realización de estudios retrospectivos

Son ya clásicos los que demostraron cómo los casos de neumonía atípica de turistas ingleses en Benidorm se debían a *Legionella pneumophila* en una época en que se desconocía la existencia de este patógeno. En nuestro departamento se llevó a cabo un estudio de prevalencia de anticuerpos frente a esta bacteria en relación a los factores de riesgo de diferentes grupos de población<sup>1</sup>. También se ha llevado a cabo un estudio retrospectivo entre pacientes atendidos en el centro de enfermedades de transmisión sexual (ETS) durante 12 años, 1978 a 1989, para determinar las características que presentaba la infección por el VIH

TABLA 3. Posibilidades diagnósticas de una seroteca

Verificar concordancias entre diferentes técnicas
Realización de estudios retrospectivos
Relacionar síndrome y agente etiológico
Realización de estudios de prevalencia
Relacionar distintas enfermedades entre sí

TABLA 4. Externalización de las muestras: problemas

Imposibilidad de trabajar con parejas de sueros
Imposibilidad de realizar técnicas sofisticadas
Avidez
Secreción intratecal de anticuerpos
Imposibilidad de individualizar pacientes
Imposibilidad de relación con el internista
Imposibilidad de realizar protocolos clínicos
Mejora la calidad del acto médico
Elimina pruebas innecesarias
Imposibilidad de realizar urgencias
Diagnóstico de legionelosis
Trasplante de órganos

en sus comienzos, habiéndose encontrado seropositivos en 1981<sup>2,3</sup>.

#### Concordancia entre diferentes técnicas

Como la evaluación de una técnica ELISA frente a test para la determinación por inmunofluorescencia de anticuerpos anti-*Treponema* (FTA-ABS) en distintos períodos evolutivos de la sífilis<sup>4</sup>; o los falsos positivos de la técnica de hemaglutinación de *Treponema pallidum* (TPHA) para la detección de anticuerpos específicos frente a *T. pallidum* en embarazadas, o diabéticos e, incluso, en un grupo control<sup>5</sup>.

#### Relacionar un síndrome con un agente infeccioso

Actualmente está de moda relacionar *C. pneumoniae* con diferentes síndromes clínicos: arteriosclerosis, escleritis múltiple, asma, etc.<sup>6</sup>.

#### Realización de estudios de prevalencia

Como la determinación de anticuerpos frente a *Borrelia burgdorferi* en distintos grupos de la población de Sevilla<sup>7</sup>.

#### Relacionar distintas enfermedades entre sí

La relación existente entre infección por el VIH y la coinfección por *T. pallidum* en la población atendida en el Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla a lo largo de 5 años<sup>8</sup>. También sería un ejemplo la relación entre un resultado falso positivo de RPR e infección por VIH puesto de manifiesto, lo mismo que el caso anterior, en los pacientes atendidos en nuestro hospital. En ellos, el riesgo relativo de estar infectados por el VIH era 8,3 veces superior en aquellas personas que presentaban un resultado falsamente positivo de RPR que en la población con resultado negativo<sup>9</sup>.

#### Controlar la evolución de los resultados

Con una relativa frecuencia, los resultados que se encuentran en el límite de positividad o negatividad, son difícilmente reproducibles, lo cual puede inducir a la emisión de resultados contradictorios de un mismo paciente. Si en

la seroteca consta un suero anterior, cabe la posibilidad de trabajar con ambos en paralelo y llegar a un diagnóstico acertado. Por otra parte, hay sueros que plantean problemas, son los de los pacientes sometidos a hemodiálisis y que se controlan cada 6 meses. En estos casos, la discordancia en los resultados frente a los virus de las hepatitis B y C son la norma, con el consiguiente problema que se plantea a la hora de hemodializar separadamente a los positivos. En estos casos, es imprescindible trabajar con sueros anteriores y estudiar los posibles cambios aparecidos con una base sólida. Todo ello por no citar las pequeñas "anécdotas" que plantean a veces verdaderos quebraderos de cabeza: 2 pacientes con nombre y apellidos iguales y resultados dispares; 2 hermanos que utilizaban la misma cartilla de la Seguridad Social siendo uno VIH positivo y el otro negativo... la picaresca humana es infinita.

## ¿Será la externalización el futuro de la serología?

Si el análisis exclusivo de los datos económicos prima sobre las demás cosas, el futuro de la microbiología es como parece sospecharse, la externalización o realización de estos servicios fuera del hospital con la finalidad exclusiva de reducir costes<sup>10,11</sup>. Y está claro que este proceso comenzará por la serología debido que posee ciertas características que la hacen especialmente "adecuada" para ello:

1. Existe una experiencia previa con los laboratorios de Bioquímica que sería fácilmente aplicable a los laboratorios de serología.
2. La facilidad de transportar y almacenar los sueros contrasta con los problemas de transporte de muestras para cultivo de bacterias como exudados de herida, líquido cefalorraquídeo, etc.
3. A ello se une la posibilidad actual de automatizar algunos parámetros, niveles de automatización que en un futuro no lejano se incrementarán sustancialmente.
4. Las técnicas de ELISA pueden semiautomatizarse en su mayoría.

La evidente mejora en la calidad asistencial e investigadora que puede aportar el trabajar con una seroteca y que se ha plasmado anteriormente, desaparece en el momento en que las muestras se externalizan y pasan de representar a un paciente a ser exclusivamente un número. Por tanto, la posibilidad de:

1. Realizar estudios retrospectivos.
2. Estudiar la concordancia entre diferentes técnicas.
3. Tratar de relacionar un síndrome determinado con un agente infeccioso.
4. Realización de estudios de prevalencia.
5. Relacionar diversas enfermedades entre sí.
6. Controlar la evolución de los resultados de un mismo paciente en el tiempo.
7. Imposibilidad de trabajar con parejas de sueros para realizar un mejor diagnóstico.

Es algo que se perderá y será sustituido por un panorama en el que dominarán (tabla 4):



1. La imposibilidad de realizar técnicas sofisticadas como la avididad de la IgG o la detección de la secreción intratecal de anticuerpos.

2. La imposibilidad de individualizar pacientes.

3. La imposibilidad de establecer relación con el internista que lleva al paciente.

4. La imposibilidad de realizar protocolos clínicos que mejoren la calidad del acto médico y eliminen la realización de pruebas innecesarias, con el consiguiente empobrecimiento de nuestra capacidad diagnóstica y la calidad de la medicina.

Pero no sólo esos problemas ensombrecen el futuro: comenzando por la recogida y el transporte de las muestras y la emisión de volantes con los pertinentes resultados.

¿Qué margen de error puede derivarse de ellos? El mantenimiento de una calidad aceptable cuando aumenta el volumen de trabajo es difícil de alcanzar; no olvidemos que minimizar costes no es siempre lo más barato<sup>12</sup>.

Sin embargo, desde mi punto de vista, lo que no debemos dejar que suceda es perder la esencia misma de nuestra profesión: junto a nuestro enfoque de proximidad al enfermo y la colaboración con el clínico, se deben mantener las labores de investigación y docencia que, aunque económicamente no sean rentables a corto plazo, su ausencia puede indudablemente producir perjuicios en el

cuidado del enfermo, disminuir nuestra calidad y deteriorar profundamente el acervo cultural y profesional de la sociedad.

## Bibliografía

1. Borobio MV, Martínez C, Perea EJ. Prevalence of anti-*Legionella pneumophila* antibodies in various groups with different risk factors in Seville (Spain). *Eur J Epidemiol* 1987;3:436-8.
2. Borobio MV, Guerra E, Rodríguez-Pichardo A, Perea EJ. Prevalencia de anticuerpos anti-VIH en varones: estudio de doce años (1978-1989). I Reunión Nacional sobre el SIDA. Sevilla, 1992.
3. Borobio MV, Guerra E, Aznar J, Perea EJ. Prevalencia de anticuerpos anti-VIH en mujeres: estudio de doce años (1978-1989). I Reunión Nacional sobre el SIDA. Sevilla, 1992.
4. Borobio MV, Álvarez-Dardet C, Gallardo R. Evaluation of a solid-phase enzyme immunoassay in the diagnosis of syphilis. *Eur J Sex Dis* 1985;2:231-3.
5. Borobio MV, Martín E. Specificity of three serologic test for syphilis (VDRL, Fta-Abs and TPHA) in healthy people, pregnant women and diabetics. *Eur J Sex Trans Dis* 1984;155-8.
6. Borobio MV, Navarro MD, Izquierdo G, Perea EJ. *Chlamydia pneumoniae* and Multiple Sclerosis. *Clin Microbiol Infection* 2001;7(Suppl 1):113-4.
7. López-Prieto MD, Borobio MV. Prevalencia de anticuerpos frente a *Borrelia burgdorferi* en la población de Sevilla. *Enf Infecc Microb Clin* 1989;7:489-91.
8. Colmenero MA, Borobio MV, Domínguez JM. Active syphilis in HIV infection: A five years retrospective survey. *International Congress of Sexually Transmitted Diseases*. Sevilla, 1997.
9. Joyanes P, Borobio MV, Perea EJ. The assay of false-positive Rapid Plasma Reagin results and HIV infection. *Sex Trans Dis* 1998;25:569-1.
10. Ballows A. Clinical Microbiology: Quo vadis? *Clinical Microbiol Newsletter* 1999;21:191-6.
11. Bourbeau P. The Microbiology Laboratory in the year 2000: What it will take to survive? *Clin Microbiol Newsletter* 1999;21:25-9.
12. Picazo JJ. Gestión en Microbiología Clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999;17:1-2.