

El presente estudio tiene por objetivo evaluar el desempeño del kit Hepatitis C (anti-HCV) ELISA (Wiener lab.), frente a paneles de sueros y muestras provenientes de un servicio de hemoterapia. Se realizó un análisis de reproducibilidad del kit con controles negativos y positivos. También se realizó un estudio sobre muestras de una rutina de banco de sangre.

Sáez-Alquézar A., Marques W., Botini M.B. - PANEL, Assessoria e Controle de qualidade, Laboratório Hemo-Life

## Material

### Producto en ensayo

**H**epatitis C (anti-HCV) ELISA es un ensayo inmunoenzimático basado en el principio "sandwich" para la detección de anticuerpos anti-HCV en suero o plasma humano.

### Equipamiento y procedimientos utilizados

Para la realización de las pruebas fue utilizado el siguiente equipamiento: Incubadora Organon Teknica 5000 Lavadora Washer 4300 -Microwell System Lectora Reader 230 S -Microwell System Se utilizó el procedimiento indicado en el manual de instrucciones del kit.

### Determinación de Reproducibilidad

Se ensayaron los sueros controles negativo y positivo del kit y los sueros controles internos negativo y positivo producidos por Panel.

### Sueros controles del kit

Se realizaron 10 determinaciones del suero control negativo y 10 determina-

ciones del suero control positivo del kit, cálculo de la Media (M), Desvío Standard (D.S.) y Coeficiente de Variación (C.V.), según Tabla 1.

### Sueros controles internos. Master-Panel

Se realizaron 10 determinaciones del suero control interno negativo y 10 determinaciones del suero control positivo MASTER-PANEL, cálculo de la Media (M), Desvío Standard (D.S.), Coeficiente de Variación (C.V.) y relación DO/CO, según Tabla 1.

### Paneles de sueros

Se utilizaron 115 muestras de sueros previamente caracterizados respecto a su reactividad hacia las pruebas obligatorias en la selección serológica de donantes de sangre, divididas en 3 paneles de sueros con muestras negativas, heterólogas y positivas.

a) Panel de sueros negativos para anti-HCV:

Se analizaron 30 muestras de sueros negativos para todos los parámetros de uso obligatorio en la selección serológicas de donantes de sangre.

Con el kit Hepatitis C (anti-HCV) ELISA (Wiener lab.), todas las muestras

presentaron resultado no reactivo (relación DO/CO < 1,0). (Gráfico 1)

b) Panel de sueros heterólogos para anti-HCV:

Se analizaron 32 muestras de sueros negativos para anti-HCV y positivos para algunos de los parámetros de uso obligatorio en la selección serológicas de donantes de sangre (anti-HIV, anti-HTLV, HBsAg, anti-HBc, anti-T. cruzi y Sífilis). Con el kit Hepatitis C (anti-HCV) ELISA (Wiener lab.), todas las muestras, excepto una, presentaron resultado no reactivo (relación DO/CO < 1,0).

c) Panel de sueros positivos para anti-HCV:

Se analizaron 56 muestras de sueros positivos para anti-HCV. Con el kit Hepatitis C (anti-HCV) ELISA (Wiener lab.) todas las muestras, excepto una, presentaron resultados reactivos (relación DO/CO > 1,0).

### Estudio sobre muestras de banco de sangre

El kit en ensayo se evaluó en paralelo con un kit comercial de metodología similar tomado como referencia.

## EVALUACION DE UN KIT ELISA PARA DETECCION DE HEPATITIS C

**Tabla 1:** estudio de reproducibilidad en sueros control

	Controles del kit en ensayo		Controles internos	
	Positivo (DO/CO)	Negativo (DO/CO)	Positivo (DO/CO)	Negativo (DO/CO)
Media	11,36	0,18	3,32	0,19
Desviación Standard	0,4065	0,0109	0,2232	0,0205
Coefficiente de Variación	3,6	6,0	6,7	10,7

Para el análisis se utilizaron muestras de una rutina de selección serológica de donantes de sangre. Las pruebas se realizaron a lo largo de 11 días.

Todas las muestras que presentaron reactividad para cualquiera de los dos kits anti-HCV empleados, se repitieron por duplicado.

Todas las muestras repetidamente reactivas para cada uno de los kits anti-HCV empleados, se sometieron a pruebas confirmatorias de inmunoblot (RIBA 3.0). El total de muestras ensayadas por ambos métodos fue de 1545, con 39 resultados inicialmente reactivos (RIR), de los cuales 30 resultaron repetidamente reactivos (RRR). Estas muestras se sometieron a una prueba RIBA 3.0, siendo 3 muestras positivas, 6 indeterminadas y 21 negativas.

### Conclusiones

De acuerdo con la evaluación del kit Hepatitis C (anti-HCV) ELISA (Wiener lab.): El coeficiente de variación (C.V.) de 10 determinaciones sucesivas de Control

Negativo interno del kit presentó valores de 6,0%.

El coeficiente de variación (C.V.) de 10 determinaciones sucesivas de Control Positivo interno del kit presentó valores de 3,6%.

El coeficiente de variación (C.V.) de 10 determinaciones sucesivas de Suero Control Negativo interno Master-Panel presentó valores de 10,7%.

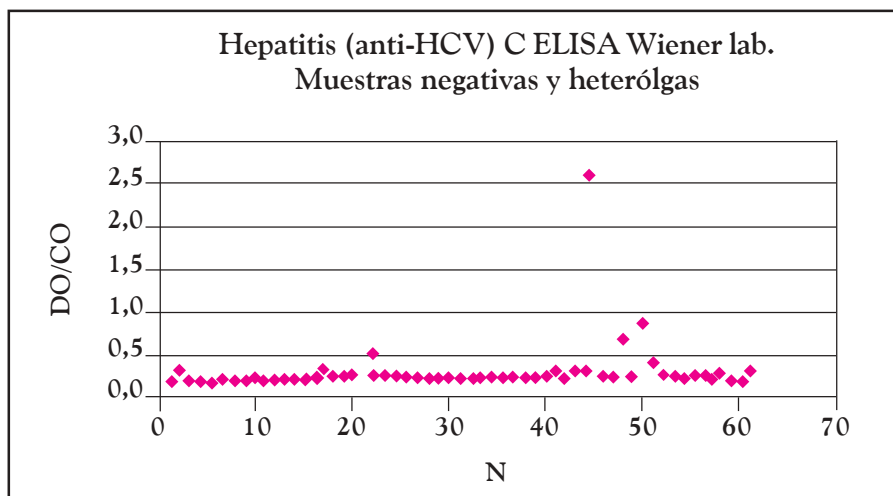
El coeficiente de variación (C.V.) de 10 determinaciones sucesivas de Suero Control Positivo interno Master-Panel presentó valores de 6,7%.

Los coeficientes de variación observados, muestran un bajo índice de dispersión.

Considerando que de las 1545 muestras, 3 fueron confirmadas positivas por el test RIBA, se puede concluir que la prevalencia de anti-HCV en la muestra estudiada fue del 0,19%, con un 1,36% de resultados falso-positivos del kit en ensayo.

La especificidad resultó 98,6% con un intervalo de confianza entre 97,9% y 99,15% (con una confianza del 95%).

**Gráfico I**



### Agenda de Congresos

- ✓ VIII Congreso Nacional Bioquímico  
San Juan, 10-13 de agosto, 2005  
Organizan Confederación Unificada Bioquímica de la República Argentina (CUBRA)  
Colegio Bioquímico de San Juan  
Informes [www.cbsj.com.ar/cubra/](http://www.cbsj.com.ar/cubra/)
- ✓ IV Congreso del Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional  
X Congreso Argentino de Medicina Transfusional  
Hotel Intercontinental Moreno 809, Buenos Aires, 14-16 de Setiembre, 2005  
Organizan Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología  
Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional  
Informes [www.aahi.org.ar](http://www.aahi.org.ar)
- ✓ III Congreso y VII Encuentro Bioquímico 2005  
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas  
Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531  
15-17 de Setiembre, 2005  
Organiza Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas  
Informes [biasolimarisa@yahoo.com.ar](mailto:biasolimarisa@yahoo.com.ar)
- ✓ MEDICA 2005  
16-19 de Noviembre, 2005  
Düsseldorf - Alemania  
Informes [www.medica.de](http://www.medica.de)

# ENFERMEDADES AUTOINMUNES EN LA MUJER

De Lisa Fairweather; Noel R. Rose  
Johns Hopkins University, Baltimore,  
Maryland, USA

*Emerging Infectious Diseases,*  
Vol 10 N°11 - Noviembre 2004 -  
Conference Report

**L**as enfermedades autoinmunes son la tercera categoría de enfermedades más comunes en Estados Unidos luego del cáncer y la enfermedad cardíaca. Afecta aproximadamente al 5-8% de la población. Este tipo de enfermedad puede afectar cualquier sitio del cuerpo, incluyendo el sistema endócrino, tejido conectivo, gastrointestinal, corazón y riñones. Se conocen por lo menos 15 enfermedades que son el resultado de una respuesta autoinmune. En muchos casos, como en la artritis reumatoidea, esclerosis múltiple y miocarditis, la autoinmunidad puede ser inducida experimentalmente por administración de antígenos en presencia de adyuvante. Un tema que resulta significativo en las enfermedades autoinmunes es su alta prevalencia en las mujeres (Figura 1). Se estima que el 78,8 % de las personas con enfermedades autoinmunes son mujeres.

Luego de que la enfermedad fuera reconocida, más de cien años atrás, los investigadores trataron de asociarla con infecciones virales o bacterianas. Las enfermedades autoinmunes tienen tendencia a agruparse en familias o incluso individuos (es posible encontrar personas con más de una enfermedad autoinmune), lo que indica que están involucrados mecanismos comunes de sus-

ceptibilidad. Estudios de prevalencia de enfermedad autoinmune en gemelos monocigotas, muestran que los factores genéticos así como los ambientales (tales como una infección) son necesarios para desarrollar la enfermedad. Los factores genéticos son importantes en el desarrollo de la enfermedad, dado que se ha observado la aparición de autoinmunidad en ciertas cepas de ratones sin aparente infección precedente. Más frecuentemente, diferentes organismos han sido asociados con una enfermedad autoinmune simple, lo que indica que más de un agente infeccioso puede inducir la misma enfermedad por medio de mecanismos similares. Como las infecciones generalmente ocurren mucho antes del comienzo de los síntomas de autoinmunidad, la relación causal entre una enfermedad autoinmune y la infección resulta difícil. Esta dificultad es la que establece la incógnita acerca de las infecciones como causa de condiciones de autoinmunidad.

**Las enfermedades autoinmunes afectan aproximadamente al 8% de la población; el 78% de las personas afectadas son mujeres. Las razones para la alta prevalencia en mujeres es desconocida. Por otra parte, evidencias circunstanciales ligan estas enfermedades con infecciones precedentes. Modelos animales de enfermedades autoinmunes indican que puede haber una relación entre estas dos condiciones. Las hormonas sexuales amplificarían la respuesta a la infección en las personas susceptibles lo que llevaría a un incremento en la prevalencia en el sexo femenino.**

ceptibilidad. Estudios de prevalencia de enfermedad autoinmune en gemelos monocigotas, muestran que los factores genéticos así como los ambientales (tales como una infección) son necesarios para desarrollar la enfermedad. Los factores genéticos son importantes en el desarrollo de la enfermedad, dado que se ha observado la aparición de autoinmunidad en ciertas cepas de ratones sin aparente infección precedente. Más frecuentemente, diferentes organismos han sido asociados con una enfermedad autoinmune simple, lo que indica que más de un agente infeccioso puede inducir la misma enfermedad por medio de mecanismos similares. Como las infecciones generalmente ocurren mucho antes del comienzo de los síntomas de autoinmunidad, la relación causal entre una enfermedad autoinmune y la infección resulta difícil. Esta dificultad es la que establece la incógnita acerca de las infecciones como causa de condiciones de autoinmunidad.

## *Las infecciones son causa de enfermedades autoinmunes?*

Para contestar esta pregunta debe definirse en principio "autoinmunidad". Una enfermedad autoinmune ocurre cuando la respuesta a un antígeno propio que comprende la acción de células B, T o

autoanticuerpos, induce un daño sistémico o sobre algún órgano en particular. La comprensión del concepto de enfermedad autoinmune se encuentra obstaculizada por el hecho de que algún nivel de autoinmunidad, en forma de autoanticuerpos y auto-reactividad de células T y B se encuentra presente en todas las personas normales. Por esto, el desarrollo de enfermedad autoinmune es la consecuencia poco común de una respuesta autoinmune común.

A pesar de que la respuesta autoinmune ocurre en la mayoría de las personas, enfermedades autoinmunes clínicamente relevantes ocurren sólo en personas susceptibles.

Dadas estas circunstancias, ¿cómo pueden las infecciones inducir enfermedades autoinmunes? Un mecanismo utilizado a veces para explicar esta asociación es la "imitación molecular", es decir algunos antígenos (o más precisamente epitopes) de algunos microorganismos se asemejan a antígenos propios del individuo. La inducción de una respuesta inmune al antígeno microbiano resulta entonces en una reactividad cruzada con antígenos de la persona causando autoinmunidad.

A pesar de que este tipo de reactividad ha sido demostrado en modelos animales, todavía no ha sido claramente verificado en humanos. Otra posibilidad es que los microorganismos expongan los antígenos del individuo al sistema inmune debido a un daño directo de los tejidos durante la infección activa. Este mecanismo ha sido descrito como "efecto espectador". Si el agente patógeno imita los antígenos propios, libera antígenos normalmente ocultos o ambos mecanismos al mismo tiempo, es difícil de determinar.

Además de estos mecanismos de especificidad antigénica, otros mecanismos no específicos pueden conducir a autoinmunidad luego de una infección. La activación del sistema inmune es esencial para el desarrollo de una respuesta protectora. Las vacunas, en algunos casos requieren adyuvantes microbianos para ser inmunogénicas. Estos adyuvantes se han conocido his-

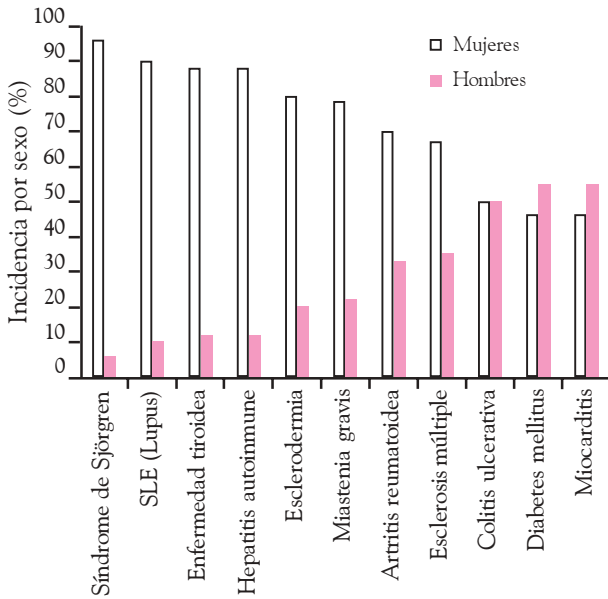


Figura 1

tóricamente como activadores no específicos de la respuesta inmune, relacionados con la inmunidad natural. El estudio del rol crítico de la inmunidad natural en el desarrollo de una respuesta inmune ha conducido a los investigadores a entender mejor el efecto del adyuvante. A pesar de que las células implicadas en la inmunidad natural no responden a epitopes antigénicos específicos, producen respuestas restringidas a una clase de patógenos a través de receptores con patrones de reconocimiento.

La interacción de los componentes microbianos del adyuvante con los receptores de las células de inmunidad natural, resulta en la activación de células presentadoras de antígeno y el incremento en la liberación de moléculas esenciales para la presentación del antígeno. Esta activación de los receptores por parte del componente microbiano del adyuvante estimula la respuesta inmune de una forma similar a la de los patógenos tales como bacterias y virus. La respuesta inmune natural inducida por un patógeno específico no es igual a la activación inespecífica luego de un daño tisular mecánico como una cirugía. Durante la agresión mecánica, los antígenos propios y las citoquinas son liberadas sin estimulación consistente de una respuesta patógeno específica. Raramente deriva en una enfermedad au-

toinmune y generalmente se resuelve espontáneamente. Los adyuvantes (generalmente bacterias; *Mycobacterium*, en el adyuvante completo de Freund) activan la respuesta de la inmunidad natural de la misma forma patógeno-específica cuando se administran con antígenos propios, lo que, en modelos animales, deriva en una autoinmunidad órgano-específica. El adyuvante por sí sólo, sin el antígeno, no resulta en enfermedad autoinmune. El

microorganismo probablemente provee no sólo el efecto adyuvante para estimular la respuesta inmune sino también el daño necesario para que los antígenos propios queden accesibles al sistema inmune.

### Por qué tienen las enfermedades autoinmunes una prevalencia tan alta en la mujer?

A pesar de que la susceptibilidad de la mujer a las enfermedades autoinmunes ha sido reconocida desde hace más de cien años, sólo recientemente se ha puesto atención a esta característica. Por algún tiempo, la respuesta inmune básica entre hombres y mujeres ha mostrado algunas diferencias. Se ha observado que en la mujer la respuesta inmune es más vigorosa con mayor producción de anticuerpos.

Sin embargo, las enfermedades autoinmunes que se desarrollan en el hombre son a veces más severas. La mayor parte de nuestro conocimiento de las distintas respuestas inmunes relacionadas con el sexo, proviene de trabajos sobre animales de laboratorio.

Muchos modelos animales de enfermedades autoinmunes han mostrado una predisposición similar con una mayor incidencia de enfermedad en hembras.

Las hormonas sexuales tales como estró-

genos, progesterona y testosterona pueden ser los mediadores de la mayoría de las diferencias en la respuesta inmune relacionada con distinta predisposición entre distintos sexos. Recientemente se ha encontrado que andrógenos y estrógenos tienen influencia directa en algunos tipos de respuesta inmune por interacción de las hormonas con receptores específicos en las células del sistema inmune. También han sido descubiertos receptores de citoquinas en los tejidos productores de hormonas que sugieren una regulación bidireccional de la respuesta inmune.

La interacción precisa entre las hormonas y la respuesta de inmunidad natural luego de una infección no está completamente comprendida. Sin embargo, estudios "in vitro" de células inmunes cultivadas en presencia de hormonas muestran evidencias de que los estrógenos incrementan significativamente la producción de citoquinas proinflamatorias. En estudios experimentales del rol de las hormonas sexuales en el desarrollo de la miocarditis inducida por el virus *Coxsackie B3* en ratones, se encontró que las hormonas sexuales incrementan las citoquinas inflamatorias y proinflamatorias en el corazón de ratones machos y hembras luego de la infección. La gonadectomía previa a la infección disminuyó la miocarditis tanto en machos como en hembras. La disminución de la inflamación se debió en el caso de las hembras a una disminución de citoquina TNF-alfa y en los machos de IL-beta.

Entonces, la respuesta inmune elevada en la mujer puede incluso amplificar el efecto de adyuvante de la infección, incrementando por lo tanto la posibilidad de que se desarrolle una enfermedad autoinmune crónica. Con el aumento de los casos de este tipo de enfermedades en los años recientes, es posible que el rol de las infecciones en el desarrollo de enfermedades autoinmunes y particularmente en la mujer, se estudie con mayor interés.

