constituye un elemento ventajoso para el empleo de este soporte en la purificación de AcMs con fines terapéuticos.

Las capacidades dinámicas de los preparados inmovilizados resultaron satisfactorias e idóneas para el proceso de purificación. No debemos pensar en una degradación de los soportes durante la oxidación e inmovilización, ya que las microfotografías electrónicas muestran que se mantiene la estructura esférica de las partículas de celulosa, es decir, que son estables durante ambos procesos, lo cual resulta muy provechoso.

En base a nuestros resultados recomendamos el uso de la celulosa activada por el método de periodato de sodio o del glicidol como matrices de inmovilización, en sustitución de Sefarosa-4B, con el objetivo de emplear los sistemas inmovilizados en la purificación de AcMs de uso diagnóstico y terapéutico.

REFERENCIAS

1. MARTÍNEZ, I. *et al.* (1992). *Biologia* 6 (2)
2. DELFÍN, J. *et al* (1994). *Arch. of Med. Research* 25(2):199-204
3. GUISÁN, J. M. (1988). *Enzyme Microb. Technol.* **10**:375-82
4. Pharmacia (1988). *Pharmacia LKB Biotechnology* 48-52
5. COLEMAN, P. *et al.* (1990). *J. of Chromatography* **512**:343-63
6. POIESI, C. (1989). *Journal of Chromatography* **465**:101-11

DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN MUESTRAS DE SANGRE COLECTADAS EN PAPEL DE FILTRO

Marleby García, Rolando Ochoa, Esther Lazo, Irina Valdivia, Leticia Martínez, Janette Trujillo, Julio Ventura y Aurora Delahanty.

Centro de Inmunoensayo. Calle 234 y Ave. 25, Apdo Postal 6945, La Habana, Cuba.

INTRODUCCION

La infección por el Virus de la Hepatitis C (VHC), es la causa fundamental de las hepatitis NANB adquiridas por la vía parenteral (1,3). Estudios realizados demuestran que el VHC se transmite a través de la sangre y productos sanguíneos contaminados, transfusiones y contactos personales cercanos (2). La infección por el VHC persiste durante años después del episodio inicial de la hepatitis aguda, siendo la tasa de hepatitis crónica muy elevada. La cronicidad, en la mayoría de los casos, es asintomática, pudiendo ser causa de cirrosis y cáncer hepático (2,4). La presencia de anticuerpos al HCV, en suero, plasma o sangre de un individuo, indica que el mismo ha estado expuesto al virus, y por tanto, constituye un transmisor potencial de la enfermedad. Para detectar estos anticuerpos, hemos desarrollado un estuche diagnóstico (UMELISA HCV), basado en una técnica de los ELISA. Con el objetivo de facilitar el transporte, almacenaje y disminuir los riesgos de contaminación del operador se han empleado las muestras de sangre colectadas en papel de filtro. En este trabajo, establecemos los parámetros óptimos para la elución y la evaluación de estas muestras.

MATERIALES Y METODOS

Muestras estudiadas

Se involucraron en este estudio un total de 361 muestras de donantes de sangre procedentes de Bancos de Sangre de La Habana y 17 muestras de pacientes asistentes a la consulta especializada en Hepatitis C del Instituto de Gastroenterología de Cuba.

Colección de las muestras de sangre en papel de filtro

Se tomaron muestras de sangre de 1 cm de diámetro del dedo de cada individuo, en un papel Schleicher & Schuell - 2992. La sangre debía impregnar ambas caras del papel. En el momento de la evaluación, se realizó un ponche sobre la mancha de sangre, con un ponchador auxiliar, obteniéndose discos de 5 mm de diámetro. Se tomaron muestras de sangre de la vena de cada uno de los individuos, la que fue procesada hasta obtener el suero.

Se midió el volumen de sangre absorbido por un disco que fue de 3,5 μL. Este disco se eluyó en un volumen de 70 μL de solución diluente para una dilución final de 1:20, coincidiendo con la dilución final de las muestras de suero. Se realizó un estudio de estabilidad con

13 muestras de sangre en papel de filtro positivas al VHC, las cuales se colocaron a 4°C y a temperatura ambiente (hastga 32°C).

Técnicas empleadas

El UMELISA HCV es un ensayo inmunoenzimático de tipo indirecto que utiliza como fase sólida una placa de Ultramicro ELISA recubierta con péptidos sintéticos del VHC. Se emplea un conjunto anti-IgG Humana/Fosfatasa Alcalina y un sustrato fluorescente. Se emplearon además 3 técnicas de referencia que fueron ORTHO ELISA HCV, UBI HCV EIA y ORTHO (RIBA) para el estudio de la población de pacientes.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se establecieron las condiciones óptimas para la elución de las muestras de sangre colectadas en papel de filtro, que debe realizarse en una hora a temperatura ambiente. El primer paso de incubación de las muestras ya eluídas obtiene la mejor correlación respecto a los resultados de las muestras de suero, si se realiza durante 1 hora, también a temperatura ambiente. En la distribución de frecuencias para la población de donantes se obtuvo un 1,38% de individuos seropostivos en suero y en sangre colectada en papel de filtro, para el 100% de coincidencia entre ambas formas de colección de la muestra y fueron positivos los 17 pacientes asistentes a consulta de Hepatitis C.

En los análisis de estabilidad de la IgG en el papel de filtro, hemos obtenido un 100% de recuperación de la seropositividad para las muestras almacenadas durante 3 meses a 4°C y este valor se mantiene si se almacenan a temperatura ambiente (hasta 32°C) por un tiempo no superior a los 15 días. Estos resultados demuestran que la utilización de las muestras de sangre en papel de filtro, como forma de colección de muestras, brinda grandes posibilidades de trabajo, debido al elevado nivel de coincidencia de sus resultados respecto a los obtenidos empleando las muestras de suero, además de brindar posibilidades para el almacenamiento.

REFERENCIAS

1. ALTER, H. (1990). *Jour. Gastro. and Hept.*, 1: suppl. 78-94
2. CHOO, Q. L. *et al.* (1991). *Brit. Med. Bull.* **46**:423-441
3. KWO, G. *et al* (1989). *Science* **244**:362-364
4. PADRON, G. *et al.* (1992). *Avan. Mod. Biotechn.* **1**:19-25

UMELISA PARA LA CUANTIFICACION DE ANTI-HBsAg

Jannette Trujillo, Leticia Martíez, Rolando Ochoa, Julio Ventura, Irina Valdivia, Marleby García, Esther Lazo, Aurora Delahanty.

Centro de Inmunoensayo, Calle 134 y Ave. 25, Apdo Postal 6945, La Habana, Cuba.

INTRODUCCION

La presencia de Anti-HBsAg en suero o plasma humano, indica el restablecimiento de una infección aguda o crónica por el virus de la Hepatitis B y el desarrollo de la inmunidad, así como la seroconversión obtenida después de una inmunización de forma activa.

Para la detección de Anti-HBsAg es conveniente el desarrollo de un método cuantitativo y de determinación que sea capaz de evaluar la respuesta inmunitaria y la duración de la protección inmune (1, 2, 3, 4).

MATERIALES Y METODOS

Con el objetivo de determinar niveles de anti-HBsAg en suero humano, se desarrolló un inmunoensayo enzimático tipo sandwich, utilizando antígeno recombinante para el recubrimiento de la fase sólida y para la conjugación con fosfatasa alcalina. La concentración óptima de antígeno recombinante utilizado para el recubrimiento fue calculada a partir de la determinación de su meseta, para lo cual se recubre entre 0,1 y 4 μL. La conjugación se llevó a cabo por el método del glutaraldehido en un paso. La sensibilidad y especificidad fueron evaluadas con 700 muestras de donantes de sangre y utilizando un método comercial de referencia (Hepanostika).

RESULTADOS Y DISCUSION

La fijación más eficiente a la fase sólida del antígeno recombinante se logró a una concentración de 0.25 μg/mL. La conjugación con fosfatasa alcalina fue efectiva y mantuvo buena estabilidad.

Fue posible la cuantificación de anti-HBsAg entre 10 y 200 UI/L con una especificidad del 98,9% y una sensibilidad del 100%.