

## REFERENCES

- KOVACS, J. E. (1991) Fibrogenic Cytokines: The role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immun. Today*. **12**: 17-23.
- JIJON, A. J.; D. G. GALLUP; M. A. BEZHADIAN; W. P. METHENY (1989) Assessment of EGF in the healing process of clean full-thickness skin wounds. *Am. J. Obst. Gynecol.* **161**:1658-1662.

- BROWN, G. L.; L. CURSTINGER; J. R. BRIGHTWELL; D. M. ACKERMAN; G. R. TOBIN; H. C. POLK; C. GEORGE-NASCIMENTO; P. VALENZUELA; G. S. SCHULTZ (1986). Enhancement of epidermal regeneration by biosynthetic EGF. *J. Exp. Med.* **163**: 1319-1324.

## EFECTO DEL INTERFERON ALFA (LEUCOCITARIO O RECOMBINANTE) O FACTOR, DE TRANSFERENCIA EN LA SUPERVIVENCIA DE INDIVIDUOS ASINTOMATICOS INFECTADOS POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

J. Rivero<sup>1</sup>, A. Miró<sup>2</sup>, M. del Rosario<sup>2</sup> y Pedro López-Saura<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Sanatorio de Santiago de las Vegas. <sup>2</sup>Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Apartado 6162, La Habana 6, Cuba.

## INTRODUCCION

En 1986 comenzó un estudio de uso de IFN alfa leucocitario (IFLEU) o Factor de Transferencia (FT) en individuos infectados por VIH y en un estadio clínico correspondiente a los grupos CDC II (asintomático) o III (linfadenopatía generalizada). En 1987 comenzó un estudio aleatorizado de uso de IFN alfa recombinante (IFREC) o no tratamiento (CTROL) en individuos con las mismas características.

El objetivo de estos estudios fue obtener retraso en la progresión de la enfermedad (paso a grupo CDC IV). Anteriormente se ha reportado que en los grupos tratados hubo menos pacientes que hicieron progresión a SIDA y hubo menos infecciones oportunistas menores o mayores, menos complicaciones no infecciosas y en menos individuos se detectó el antígeno viral p24. Estos estudios terminaron en febrero de 1992 pero los pacientes continúan bajo seguimiento clínico. En este trabajo se reporta que los tratamientos también tuvieron un efecto beneficioso sobre la supervivencia de los individuos tratados.

## METODOS

De mayo/1986 a septiembre/1987 se incluyeron 42 individuos seropositivos a VIH, confirmados por Western Blot, del grupo CDC III o CDC II con contactos positivos, para ser tratados con IFLEU ( $3 \times 10^6$  UI 3 veces por semana). En el mismo tiempo se incluyeron 43 individuos con igual diagnóstico pero correspondientes al grupo CDC II y sin contactos positivos para ser tratados

con FT (2 UI 2 veces por semana). De octubre/1987 a enero/1991 se distribuyeron, de forma aleatoria, individuos para ser tratados con IFREC ( $3 \times 10^6$  UI 3 veces por semana) o no tratados (CTROL). Se incluyeron 71 pacientes con IFREC y 79 en el grupo CTROL. Los pacientes no recibieron otros tratamientos mientras se mantuvieron asintomáticos. Después que desarrollaron síntomas de SIDA recibieron tratamientos de acuerdo con la complicación presente. Los individuos fueron examinados clínicamente cada mes.

En este reporte se considera como desenlace, el fallecimiento del paciente, a partir de la inclusión en el estudio y a partir de la fecha probable de infección, que pudo ser determinada en la mayoría de los casos. La fecha de cierre es agosto/1994. Las curvas de supervivencia se calcularon según Kaplan-Meier y se compararon por la prueba de Wilcoxon y con los intervalos de confianza al 95% de los valores de supervivencia.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla se observa que la supervivencia de los pacientes tratados con cualquiera de los dos IFN o con FT fue significativamente mayor que los del grupo

Grupo	Supervivencia media (I.C. al 95%) desde	
	Contagio	Inicio del tto.
CTROL	114 (106 - 122)	72 (67 - 76)
IFREC	160 (142 - 179)*	76 (72 - 80)
IFLEU	148 (132 - 160)*	86 (79 - 92)
FT	157 (144 - 169)*	96 (91 - 101)*

CTROL. Para el grupo tratado con IFREC, que fue aleatorizado con el CTROL, este resultado es incuestionable y concuerda con el ya reportado de retraso en la progresión a la enfermedad. En los grupos IFLEU y FT cabe la duda de que no fueron producto de una distribución aleatoria con el control con el que se compara.

En el grupo FT, hay además una diferencia en el criterio de inclusión. Sin embargo, el grupo CTROL fue concurrente con los anteriores la mayor parte del tiempo que duró la prueba, por lo que la comparación tiene cierta validez y las diferencias encontradas son considerables, por lo que deben tenerse en cuenta.

## IMMUNOENZYMATIC ASSAY FOR THE QUANTIFICATION OF RECOMBINANT HUMAN INTERLEUKIN-2

Giselle Pentón, Francisco Hernández\*, Vivian Santos, Yolanda Rojas, Eduardo Pentón, Pedro López-Saura and Manuel Araña.

*Genetic Engineering and Biotechnology Center, P.O. Box 6162, La Habana 6. C.P. 10600, Cuba.*

### INTRODUCTION

In the present paper an immunoenzymatic assay was developed for determination of recombinant human IL-2 concentrations in the range of nanomoles based upon the use of murine monoclonal antibodies (MAbs) developed and specially selected for this purpose. The system was calibrated against an international standard of IL-2 and the calculation of concentrations of samples was optimized through the use of a log-log transformation which allowed the use of the calibration curve in the concentration range as low as 1 ng/mL with a regression coefficient higher than 0.99.

### EXPERIMENTAL PROCEDURES

The obtainment of MAbs was achieved according to a variant of the conventional method of Köhler and Milstein (1). Immunoglobulins were conjugated with radish peroxi lase by the peryodate method (2).

The adequate concentrations and times of incubation were evaluated using polyvinyl plates coated with 1; 5; 10; 20; 50 and 100 µg/mL of the coating MAb in different conditions including: overnight incubation at 4°C, 3 h at 37°C and preincubation 2 h at 37°C followed by overnight incubation at 4°C.

The plates were incubated with the antigen, conjugated antibody and after adding substrated and stopped the reaction, the reading was performed in an ultramicroanalytical system (SUMA).

In the same way the optimal time and temperature conditions of incubation with the antigen using three times (1, 2 and 3 h) and three temperatures (25, 37 and

42°C) were evaluated. The sensitivity of the system was determined using the absorbance values of negative controls and the three more diluted points of the standard curve of 20 determinations. Concentrations of IL-2 were calculated using a log-log transformation.

### RESULTS AND DISCUSSION

In our ELISA system the optimal conditions obtained were: overnight coating at 4°C and 10 µg/mL of the MAb CBIL-2.2, polyvinyl as solid phase and incubation during 1 h at 37°C with the antigen. The coating of plates has been shown to be optimal at certain concentration values under which it is less efficient (3).

In our system 10 µg/mL was the adequate coating concentrations which does not differ significantly from the higher concentrations employed but it does from the 1 and 5 µg/mL concentrations. By the other hand the overnight coating at 4°C was enough for the binding to the solid phase of all the capture antibody. The incubation during 1 h at 37°C with the antigen resulted the best condition assayed which was evidenced by an increase of the slope of the regression line at this temperature.

The sensitivity of the system was 1 ng/mL which corresponded to 10 units of IL-2 per milliliter as determined by the demonstration of a significant difference between the absorbance values of negative controls and the point of the standard curve corresponding to 1 ng/mL of IL-2.

A log-log transformation was employed as shown in the following picture which allowed to increase the correlation coefficient from 0.90 to 0.99.

\*Should be also considered as first author