

Estudio comparativo de dos métodos para la determinación de autoanticuerpos en hepatitis autoinmune*

Comparative study of two methods in the determination of autoantibodies in autoimmune liver diseases

Estudo comparativo de dois métodos para a determinação de anticorpos no hepatite auto-imune

► Paula Cordero Pérez¹, Tanya Elizabeth Guel Pérez², Yadith Karina López García², Amanda Berenice Mercado Moreira³, Linda Elsa Muñoz Espinosa⁴

¹ Bioquímica, Doctorado en Ciencias, Especialista en Química Biomédica. Facultad de Medicina U.A.N.L.

² Estudiante de pregrado de la carrera de Médico Cirujano y Partero. Facultad de Medicina U.A.N.L.

³ Químico Fármaco Biólogo, Maestra en Ciencias, Especialista en Química Biomédica. Facultad de Medicina U.A.N.L.

⁴ Médico Cirujano y Partero. Especialista en Medicina Interna Dr. PhD. Especialidad en Hepatología. Facultad de Medicina U.A.N.L.

* Unidad de Hígado, Servicio de Gastroenterología, Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario "Dr. José E. González", Universidad Autónoma de Nuevo León. México

Resumen

La hepatitis autoinmune es una inflamación hepatocelular que se caracteriza por diversos autoanticuerpos circulantes. En el presente trabajo se evaluó la concordancia entre los resultados obtenidos por la técnica ELISA y por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la determinación de autoanticuerpos en hepatitis autoinmune. Se incluyeron 123 pacientes con hepatitis autoinmune, 91 (74%) del sexo femenino y 32 (26%) de sexo masculino, mayores de 18 años, en los cuales se realizó un estudio comparativo entre ELISA e inmunofluorescencia indirecta para la detección de los anticuerpos antinucleares (78 pacientes), anticuerpos antimitocondriales (84 pacientes) y antimicrosoma hepatorenal (85 pacientes). De acuerdo al valor $kappa$ obtenido se encontró que para el anticuerpo antimicrosoma hepatorenal el nivel de concordancia fue muy bueno ($k=1,0$, $p<0,001$); para el anticuerpo antinuclear el nivel de concordancia fue débil, sin embargo fue significativo ($k=0,37$, $p<0,001$) mientras que para el anticuerpo antimitocondrial el nivel de concordancia fue pobre ($k=0,05$, $p<0,476$). La determinación del anticuerpo antimicrosoma hepatorenal fue la prueba con mayor sensibilidad, especificidad y concordancia entre ambas técnicas analizadas y se estableció que la técnica de ELISA para el anticuerpo antimitocondrial solo concuerda con la técnica de inmunofluorescencia indirecta en sujetos con títulos altos.

Palabras clave: hepatitis autoinmune * autoanticuerpos * anticuerpos antinucleares * anticuerpos antimitocondriales * anticuerpos anti microsoma hepatorenal * ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima * inmunofluorescencia indirecta

Summary

Autoimmune hepatitis is a hepatocellular inflammation which is characterized by different circulating autoantibodies. In this paper, the correlation between the results obtained by ELISA and indirect immunofluorescence technique

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstracts Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (Impresa)

ISSN 1851-6114 (En línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

for the determination of autoantibodies in autoimmune hepatitis was evaluated. One hundred and twenty-three patients with autoimmune hepatitis, 91 (74%) female and 32 (26%) male, over 18 years were included. In these patients, a comparative study between ELISA and indirect immunofluorescence detection of the antinuclear antibodies (78 patients), anti-mitochondrial antibodies (84 patients) and anti-liver kidney microsome (85 patients) was performed. According to the kappa value obtained, it was found that for anti-liver kidney microsome the level of agreement was very good ($k=1.0$, $p<0.001$) for antinuclear antibody, the level of concordance was weak but significant ($k=0.37$, $p<0.001$), meanwhile antimitochondrial antibody level of concordance was poor ($k=0.05$, $p<0.476$). The determination of the antibody anti-liver kidney microsome was the test with greater sensitivity, specificity and concordance between the two techniques discussed and it was established that the ELISA technique for antimitochondrial antibody is only in concordance with the indirect immunofluorescence in patients with high titers.

Key words: autoimmune hepatitis * autoantibodies * antinuclear antibodies * antimitochondrial antibodies * anti-liver kidney microsome * immuno sorbent assay enzyme-linked * indirect immunofluorescence

Resumo

A hepatite autoimune é uma inflamação hepatocelular, que se caracteriza pelos diferentes anticorpos circulantes. Neste trabalho foi avaliada a correlação entre os resultados obtidos através da técnica ELISA e da técnica de imunofluorescência indireta (IFI) para a determinação de auto-anticorpos na hepatite auto-imune. Foram incluídos 123 pacientes com hepatite autoimune, 91 (74%) do sexo feminino e 32 (26%) do sexo masculino, maiores de 18 anos, nos quais foi realizado um estudo comparativo entre ELISA e Imunofluorescência Indireta para a detecção dos anticorpos antinucleares (78 pacientes), anticorpos antimitocondriais (84 pacientes) e antimicrosomal hepatorenal (85 pacientes). De acordo ao valor kappa obtido, foi encontrado que para o anticorpo antimicrosomal hepatorenal o nível de concordância foi muito bom ($k=1,0$, $p<0,001$); para o anticorpo antinuclear o nível de concordância foi fraco, porém foi significativo ($k=0,37$, $p<0,001$) enquanto que para o anticorpo antimitocondrial o nível de concordância foi pobre ($k=0,05$, $p<0,476$). A determinação do anticorpo antimicrosomal hepatorenal foi o teste com maior sensibilidade, especificidade e concordância entre ambas técnicas analisadas e se estabeleceu que a técnica de ELISA, para o anticorpo antimitocondrial, só concorda com a técnica de Imunofluorescência Indireta em sujeitos com títulos altos.

Palavras-chave: hepatite autoimune * auto-anticorpos * anticorpos antinucleares * anticorpos antimitocondriais * anticorpos anti-microsomal hepatorenal * ensaio imuno absorvente vinculado a enzima * imunofluorescência indireta

Introducción

La hepatitis autoinmune (HAI) es una enfermedad crónico-inflamatoria progresiva del hígado que se caracteriza por hallazgos histológicos (hepatitis de interfase con afectación periportal, infiltración de células plasmáticas y necrosis en sacabocados), bioquímicos (hipertransaminasemia e hipergammaglobulinemia) y autoinmunes (presencia de ciertos autoanticuerpos). Este trastorno es poco frecuente, de etiología aún desconocida, con una buena respuesta al tratamiento con inmunosupresores y mayor prevalencia en mujeres de mediana edad (1) (2). Se piensa que la HAI se desencadena por factores externos en un huésped genéticamente permisivo en ausencia de agregación familiar en el análisis de los halotipos, lo que sugiere una predisposición poligénica de los antígenos mayores de histocompatibilidad (3). No existe un marcador patognomónico de esta enfermedad (4).

La HAI se clasifica, según los autoanticuerpos (AAc) presentes, en subtipos 1 y 2. La HAI tipo 1 se caracteriza

por la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) y anticuerpos antimúsculo liso (SMA). Se ha descrito la presencia de otros AAc en la HAI tipo 1, como anticuerpos antimitocondriales (AMA). La HAI tipo II se caracteriza por la presencia de los anticuerpos antimicrosoma hepatorenal (LKM) y anticitosol hepático 1 (LC1) (5).

Para realizar el diagnóstico de HAI se debe excluir la presencia de otras posibles causas de lesión hepática aguda y crónica, como infecciones por virus hepatotrópicos (virus de hepatitis B, C y D), hepatopatías por tóxicos (alcohol, medicamentos) o por depósito de metales (hemocromatosis, enfermedad de Wilson) (6).

Las características principales que definen a la HAI son títulos altos de AAc ($>1:40$), predominantemente ANA, AMA, AML, LKM, e hipergammaglobulinemia policlonal, sobre todo a expensas de IgG (7), así como rasgos histológicos característicos de hepatitis autoinmune y la ausencia de hepatitis viral (8).

El diagnóstico de la HAI inicialmente se ha hecho a través de técnicas de inmunofluorescencia indirecta

ta (IFI), la cual tiene una sensibilidad y especificidad aceptable si se realiza por un operador entrenado; sin embargo, la determinación de AAc por la técnica de ensayo inmuno absorbente ligado a enzima (ELISA) ha demostrado ser más específica que IFI al eliminar la subjetividad de la interpretación del operario. La detección por IFI de ANA, AML, AMA y LKM constituye un criterio clave para el diagnóstico de HAI, siendo el estándar de oro y permitiendo además la diferenciación entre ambos tipos de HAI (9-11). Los ANA se determinan por IFI en secciones de tejidos o células Hep-2 (12). La importancia de utilizar células Hep-2 se fundamenta en que tienen un núcleo más grande de lo normal debido a su gran cantidad de antígenos nucleares y citoplasmáticos lo que permite hacer una fácil detección e identificación de los antígenos reconocidos por los AAc presentes en los sueros de los pacientes con enfermedades autoinmunes (13). El diagnóstico exacto de las diversas enfermedades autoinmunes hepáticas es de gran relevancia clínica, ya que conduce a diferentes estrategias terapéuticas (10). En el presente trabajo se evaluó la concordancia entre los resultados obtenidos con la técnica ELISA y con la técnica IFI para la determinación de AAc en HAI.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio comparativo de las técnicas ELISA e IFI para la determinación de AAc.

PACIENTES

Se estudiaron 123 pacientes (256 muestras) con diagnóstico de HAI, de los cuales 91 (74%) fueron de sexo femenino y 3 (26%) de sexo masculino, mayores de 18 años. Estos fueron diagnosticados según los criterios simplificados para el diagnóstico de la Hepatitis Autoinmune 2008, en los cuales se evalúa: ANA o SMA títulos $\geq 1:40 = 1$ punto; ANA o SMA títulos $\geq 1:80$ o LKM $\geq 1:40$ o SLA (anticuerpo soluble hepático) positivo = 2 puntos; Niveles de IgG > límite superior a lo normal (LSN) = 1 punto; Niveles de IgG > 1,10 veces LSN (>10% arriba LSN) = 2 puntos; Histología del hígado compatible o típica de HAI = 1 ó 2 puntos; Ausencia de hepatitis viral = si, 2 puntos. El resultado del puntaje se interpreta como HAI probable cuando es igual a 6 y HAI definitiva si es ≥ 7 (8).

MUESTRAS

Se determinaron los ANA en 78 pacientes, los AMA en 84 y los anticuerpos LKM en 85 pacientes por ambas técnicas. Para ello fueron analizados los sueros de los pacientes usando la técnica de IFI convencional, empleando improntas de células Hep-2, en las que un título $\geq 1:40$ fue registrado como positivo; la técnica fue

realizada por personal experto en el campo de la inmunología clínica. Se probaron al menos dos diluciones seriadas, una baja y una alta, para informar el título de anticuerpos. Se empleó un conjugado de anti-inmoglobulina humana. Todas estas muestras fueron analizadas a la par por la técnica de ELISA.

MATERIALES

El Equipo incubador/Lector de placas utilizado fue Expert Plus Asys Hitech (Eugendorf, Austria). Los equipos de ELISA para ANA y LKM fueron de Quanta Lite (San Diego, CA, EE.UU.), y para AMA de Orgentec Diagnostika GmbH (Mainz, Alemania). Los diluyentes de muestras para ANA y LKM contenían tampón salino de fosfatos, Tween 20, una proteína estabilizadora y un conservador; para AMA se utilizó tampón salino de fosfatos y Tris NaN_3 0,1%. Las soluciones de lavado para ANA y LKM contenían tampón salino de fosfatos y Tween 20; para AMA se utilizó tampón salino de fosfatos NaN_3 0,1%. El conjugado de ANA y LKM fue tampón salino de fosfato con anti-IgG humana, y conservador; en AMA tampón salino de fosfatos, PROCRI 300 0,5%, anti-IgG humana marcada con peroxidasa de rábano (HRP). Para ANA, LKM y AMA, el cromógeno fue tetrametilbenzidina con estabilizador y la solución para detener la reacción fue ácido sulfúrico.

Para ANA se consideraron los valores <20 U como negativos, de 20-60 U como positivos moderados y >60 U como positivos fuertes. Para LKM los valores fueron <20 U, negativos, de 20,1 U a 24,9 U, indeterminados y ≥ 25 U, positivos. Para AMA se consideraron los valores <10 UI/mL como negativos y ≥ 10 UI/mL como positivos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de las variables se utilizó un análisis de concordancia con el índice *kappa* considerando como significativo un valor de $p < 0,05$. Se determinó sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). La S y la E empleadas fueron las analíticas.

ASPECTOS BIOÉTICOS

Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética, Investigación y Bioseguridad de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la UANL con la clave: HI08-004.

Resultados

Los resultados obtenidos por las técnicas de ELISA e IFI se muestran en la Tabla I. Se compararon los resultados obtenidos. En cuanto a los ANA se encontraron 54 muestras positivas (69%) y 24 (31%) negativas por IFI,

Tabla I. Comparación de resultados por ELISA y por IFI.

AAc	IFI (%)		ELISA (%)		IK	P
	+	-	+	-		
ANA (n=78)	69%	31%	78%	22%	0,378	0,001
AMA (n=84)	73%	27%	27%	73%	0,051	0,476
LKM (n=85)	1%	99%	1%	99%	1,0	<0,001

AAc: Autoanticuerpos, IFI: Inmunofluorescencia indirecta, ELISA: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima, ANA: anticuerpo antinuclear, AMA: anticuerpo antimitocondrial, LKM: anticuerpo antimicrosoma hepatorenal. IK: Índice kappa Valoración del índice kappa: <0,20: pobre; 0,21-0,40: débil; 0,41-0,60: moderada; 0,61-0,80: buena; 0,81-1,0; muy buena.

y por ELISA 61 (78%) resultaron positivas y 17 (22%) fueron negativas; en los AMA se encontraron positivas 61 (73%) y 23 (27%) negativas por IFI mientras que por ELISA se encontraron 23 (27%) positivas y 63 (73%) negativas; con respecto a los anticuerpos LKM solo 1 (1%) fue positivo y 84 (99%) fueron negativos por ambas técnicas (Tabla I). De acuerdo con el valor kappa obtenido para cada uno de los AAc se encontró que para LKM el nivel de concordancia fue muy bueno ($k=1,0$, $p<0,001$; valor de referencia $k=0,81-1,0$); para ANA el nivel de concordancia fue débil, sin embargo fue significativo ($k=0,37$, $p<0,001$; valor de referencia $k=0,21-0,40$) mientras que para AMA el nivel de concordancia fue pobre ($k=0,05$, $p<0,476$; valor de referencia $k=<0,20$).

Al evaluar ambas técnicas, 181 muestras resultaron concordantes, de los cuales 68 sueros analizados fueron positivos: ANA (48), AMA (19), LKM (1); y 113 fueron negativos: ANA (11), AMA (18), LKM (84). Los 66 sueros restantes resultaron discordantes, 48 muestras fueron positivas por IFI pero negativas por ELISA: ANA (6), AMA (42), LKM (0); y 18 muestras fueron positivas por ELISA pero negativas por IFI: ANA (13), AMA (5), LKM (0) (Tabla II).

Se observó que pacientes con títulos de AMA<1:160 por IFI, en su mayoría no fueron detectados por ELISA, mientras que los pacientes con títulos altos por IFI todos fueron positivos por ELISA (Tabla III). En cambio, en ANA por ELISA se detectaron en su mayoría a partir de títulos >1:80 analizados por IFI, observándose que a títulos más altos obtenidos por IFI (1:1280) todos fueron positivos mediante ELISA (Tabla IV).

Los ANA, mediante la técnica ELISA contaron con una S de 90%, una E de 64%, un VPP y VPN de 80%. Este mismo AAc mediante la técnica de IFI contó con una S de 78%, una E 73%, un VPP de 88% y un VPN de 56%. Los AMA mediante la técnica de ELISA tuvieron una S de 59% con una E de 82%. Se estableció que hubo un VPP de 92%. Así con un VPN de 35%. Estos AAc al compararlos mediante la técnica de IFI obtuvieron una S de 82%, una E de 58%, con un VPP de 35% y un VPN de 92%. Para LKM mediante la técnica de ELISA y mediante la técnica IFI se encontró 100% en S, E, VPP y VPN (Tabla V).

Discusión y Conclusiones

La detección de autoanticuerpos no órgano-específicos en un paciente con hepatitis ayuda a establecer la etiología autoinmune de la enfermedad hepática, según los criterios diagnósticos (8). Para este fin, la metodología usada como estándar de oro es la IFI; sin embargo, se empiezan a comercializar pruebas de ELISA para la detección de los mismos, de ahí la importancia de establecer si ambas técnicas son comparables y confiables para la determinación de cada AAc.

Una de las principales desventajas de utilizar la metodología IFI es debida a la capacidad de interpretación del resultado, siendo éste afectado por distintas variables como la especificidad de sustrato, el tipo de microscopio utilizado y principalmente la interpretación de quien lo lee, aunque sea personal altamente capa-

Tabla II. Análisis de resultados concordantes y discordantes de los AAc

ELISA	IFI									
		ANA			AMA			LKM		
		+	-	T	+	-	T	+	-	T
+	48	13	61	19	5	24	1	0	1	
-	6	11	17	42	18	60	0	84	84	
Tot	54	24	78	61	23	84	1	84	85	

AAc: Autoanticuerpos, IFI: Inmunofluorescencia indirecta, ELISA: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima, ANA: anticuerpo antinuclear, AMA: anticuerpo antimitocondrial, LKM: anticuerpo antimicrosoma hepatorenal, T: Total.

Tabla III. Comparación de resultados mediante las técnicas de ELISA e IFI de acuerdo con los títulos séricos de AMA

Título	N	AMA			
		IFI		ELISA	
		+	-	+	-
(<1:10)	23	0	23	5	18
(1:20)	13	13	0	1	12
(1:40)	11	11	0	0	11
(1:80)	20	20	0	4	16
(1:160)	8	8	0	5	3
(1:320)	6	6	0	6	0
(1:640)	3	3	0	3	0
Total	84	61	23	24	60

AAC: Autoanticuerpos, IFI: Inmunofluorescencia indirecta, ELISA: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima, ANA: anticuerpo antinuclear, AMA: anticuerpo antimitocondrial, LKM: anticuerpo microsoma hepatorenal, N: Número de muestras.

Tabla IV. Comparación de resultados mediante las técnicas de ELISA e IFI de acuerdo a los títulos séricos de ANA.

Título	N	ANA			
		IF		ELISA	
		+	-	+	-
(<1:20)	24	0	24	13	11
(1:40)	0	0	0	0	0
(1:80)	6	6	0	5	1
(1:160)	17	17	0	15	2
(1:320)	11	11	0	9	2
(1:640)	11	11	0	10	1
(1:1280)	5	5	0	5	0
(1:2560)	4	4	0	4	0
Total	78	54	24	61	17

AAC: Autoanticuerpos, IFI: Inmunofluorescencia indirecta, ELISA: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima, ANA: anticuerpo antinuclear, N: Número de muestras.

Tabla V. Índice de efectividad diagnóstica para las técnicas de ELISA e IFI.

	ANA		AMA		LKM	
	IFI	ELISA	IFI	ELISA	IFI	ELISA
S	78%	90%	82%	59%	100%	100%
E	73%	64%	58%	82%	100%	100%
VPP	88%	80%	35%	92%	100%	100%
VPN	56%	80%	92%	35%	100%	100%

AAC: Autoanticuerpos, IFI: Inmunofluorescencia indirecta, ELISA: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima, ANA: anticuerpo antinuclear, AMA: anticuerpo antimitocondrial, LKM: anticuerpo microsoma hepatorenal, S: Sensibilidad, E: Especificidad, VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo

citado. Adicionalmente, existen otras dificultades que complican su interpretación; una de ellas está en la imposibilidad de identificar el antígeno específico contra el cual está reaccionando el autoanticuerpo y para su confirmación se hace necesario el uso de otras técnicas como ELISA (14).

La técnica de ELISA tiene numerosas ventajas: su costo no es elevado, es rápida de realizar, se pueden

analizar varios sueros a la vez, su interpretación es menos subjetiva y es muy sensible pero menos específica, por lo que los resultados deben de interpretarse con cautela (15).

Se han hecho estudios para comparar la concordancia para ambas técnicas en otros autoanticuerpos (16) (17).

En este estudio se comparó la técnica ELISA con la técnica IFI para la detección de diversos autoanticuer-

por presentes en la HAI. Los resultados obtenidos por ambas técnicas no indicaron variación alguna para el LKM mostrando éste un índice de efectividad diagnóstica del 100% en todos los parámetros, siendo muy similar al encontrado por Nicolas JC *et al.* (18) así como un índice de correlación de $kappa$ de 1. Por otra parte, para el AMA se encontró una S baja de 59% para ELISA comparada con el 82% con el método de IFI, no se halló correlación entre ambas técnicas para este autoanticuerpo ($k=0,051$). Al buscar una posible causa a la diferencia se encontró que el ELISA solo da resultados comparables con la metodología IFI cuando esta última presenta títulos muy altos ($>1:320$), por lo cual para este estudio el ELISA no podría utilizarse como un método de tamizaje ya que la mayoría de los pacientes presentaban títulos menores a 1:320.

En cambio en ANA mediante la técnica ELISA se pudo apreciar una S alta (90%) comparada con IFI (78%), siendo estos resultados similares a los encontrados por Copple SS *et al.* en un estudio similar (19). En cuanto a la E no hay gran diferencia entre ambas técnicas (73% por ELISA, 64% por IFI), dando también una k con una fuerza de concordancia débil (0,378). Es importante resaltar que cuando se tiene una determinación negativa de ANA mediante IFI y el paciente tiene manifestaciones clínicas de enfermedad autoinmune, se puede pasar al segundo nivel de detección de autoanticuerpos por ELISA (20).

Se puede concluir que la técnica ELISA fue altamente eficaz para LKM y puede emplearse para ANA cuando la sospecha clínica de HAI sea altamente sugestiva, favoreciendo la disminución de costos para la determinación de estos AAC. Los LKM fueron los AAC con mayor S, E y concordancia entre ambas técnicas, seguido de ANA y se estableció que la técnica de ELISA para AMA solo fue útil en sujetos con títulos altos por IFI.

CORRESPONDENCIA

DRA. PhD. LINDA E. MUÑOZ ESPINOSA
Ave. Gonzalitos No. 235, Col. Mitras Centro,
MONTERREY N.L. - México C.P. 64460
Tel.: (52) 81 83294205
E-mail: linda_uanl@hotmail.com

Referencias bibliográficas

- Manns MP, Vergani D. Autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2009; 29: 239-40.
- Vergani D, Longhi MS, Bogdanos DP, Ma Y, Mieli-Vergani G. Autoimmune Hepatitis. *Semin Immuno Pathol* 2009; 31: 421-35.
- Dehesa M. Hepatitis Autoinmune. *Rev Gastroenterol Mex* 2008; 73: 64-6.
- Orts JA, Zúñiga A, Alarcón I. Hepatitis autoinmune. *An Med Inter J* 2004; 21: 340-54.
- Bogdanos DP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2009; 29: 241-53.
- Álvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, *et al.* International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-38.
- Morrillas RM, Bargalló A. Hepatitis Autoinmune. *Semin Fund Esp Reumatol* 2008; 9: 166-75.
- Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Pares A, Dalekos GN, Krawitt EL, *et al.* Simplified Criteria for the Diagnosis of Autoimmune Hepatitis. *Hepatology* 2008; 48: 169-76.
- Czaja A, Manns M, Reviews in basic and clinical. *Gastroenterology* 2010; 139: 58-72.
- Conrad K, Schlossler W, Hiepe F, Fritzler M. Autoantigens, Autoantibodies, Autoimmunity. En: *Autoantibodies in systemic autoimmune diseases A diagnostic reference*. 2nd.ed. Dresden: PABST Science Publishers; 2002: 10-190.
- Manns MP, Czaja A, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, *et al.* Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 2193-213.
- Hernández DF, Cabiedes J. Técnicas inmunológicas que apoyan el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. *Reumatol Clin* 2010; 6: 173-7.
- Gutierrez V, Romero MC, Felipe OJ, Santos AM, Valle R, Londoño J. Capacidad de las células Hep-2, Hep-2000® inmunofluorescencia y Hep-2000® Colorzyme, en la determinación de ANAS Y SSA/Ro en la evaluación inicial en pacientes con enfermedad del tejido conectivo no diferenciada. *Rev Colomb Reumatol* 2007; 14: 11-22.
- Benítez CP, Rincón OL, Quintero JL, Aristizábal BH. Concordancia entre la determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia e inmunoensayo lineal. *Medlab* 2011; 17: 429-43.
- Bielsa I. Significado biológico de los autoanticuerpos y técnicas para su detección. *Med Cutan Iber Lat Am* 2010; 38: 109-16.
- Santa Cruz AC, Figueroa DE, Dalence RR. Comparación de dos métodos serológicos para el diagnóstico de Toxoplasmosis. *Gac Med Bol* 2007; 30: 11-4.
- Cortes LJ, Mancera L. Concordancia entre ELISA e IFI para la determinación de anticuerpos tipo IgG contra *Toxoplasma gondii*. *Infectio* 2009; 13: 76-82.
- Nicolas JC, Grumelli YA. Método ELISA para anticuerpos antimicrosomales hígado-riñón. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2004; 38: 23-7.
- Copple SS, Sawitzke AD, Wilson AD, Tebo AE, Hill, HR. Enzyme-linked immunosorbent assay screening then indirect immunofluorescence confirmation of antinuclear antibodies. *Am J Clin Pathol* 2011; 135: 678-84.
- Cabiedes J, Nuñez C. Anticuerpos antinucleares. *Reumatol Clin* 2010; 6: 224-30.

Recibido: 21 de febrero de 2013
Aceptado: 3 de octubre de 2014