

EVALUACIÓN DEL EFECTO PROZONA EN INMUNOFLUORESCENCIA AUTOMATIZADA

López-Gaytán G, Fernandez-Terán L, Tamayo-Sánchez H

Inmunología Carpermor, CDMX

Introducción

La técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) ha sido utilizada como el estándar de oro en el diagnóstico de distintas enfermedades autoinmunes, entre sus ventajas sobre otros métodos se incluyen: su facilidad de uso y su alta sensibilidad, así mismo esta técnica destaca por su bajo índice de falsos negativos, por otro lado una de las limitaciones de la IFI tradicional es la dificultad en su estandarización y la baja concordancia entre observadores. Por esta razón, se han desarrollado plataformas automatizadas orientadas a disminuir las variaciones analíticas con sensibilidades de hasta 96.7%(1). Los pocos registros de falsos negativo se atribuyen a la aparición del efecto o fenómeno de prozona, que se da cuando una concentración excesiva de anticuerpos en el suero del paciente puede impedir la unión conjugada anticuerpo-antígeno, lo que resulta en un resultado falso negativo.

El efecto de prozona puede pasar desapercibido a menos que se realice una dilución seriada individual para la muestra en cuestión , aunque se observa raramente en la inmunofluorescencia indirecta, sabemos que este fenómeno es común en otras técnicas inmunológicas (aglutinación, hemaglutinación, ELISA) en presencia de antígenos tanto extraños como propios(2).

Objetivo

Evaluuar la presencia de efecto prozona y el acuerdo que existe entre los resultados del observador y el auto titulador en las diluciones 1:80, 1:320 y 1:1280.

Materiales y método

Se llevó a cabo un estudio prospectivo transversal para evaluar la presencia del efecto prozona en la detección de anticuerpos antiselulares (ANA) y determinar la concordancia entre diferentes métodos de evaluación.

Se analizaron un total de 69 muestras de suero. Las muestras fueron recolectadas y procesadas durante el mes de noviembre de 2024.

Determinación de Anticuerpos Antiselulares (ANA).

Los anticuerpos antiselulares (ANA) se determinaron mediante el método de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Las pruebas se realizaron utilizando el equipo automatizado Quantalyzer/Novaview (3).Para cada muestra, se realizaron tres diluciones seriadas: 1:80, 1:320 y 1:1280. Estas diluciones se establecieron específicamente para observar la posible presencia del efecto prozona, el cual se consideraría si una dilución más alta (ej., 1:320 o 1:1280) resultara positiva mientras que una dilución más baja (ej., 1:80) fuera negativa o presentara una intensidad de fluorescencia significativamente menor.

Para determinar la concordancia entre las evaluaciones del equipo automatizado y la observación por el analista, se utilizó el coeficiente kappa de Cohen (κ). Este análisis permitirá evaluar si existe un acuerdo significativo entre las dos metodologías y si realmente se presenta el efecto prozona en las muestras analizadas.

Resultados

Los resultados se encuentran descritos en figuras 1-3.

Discusión

Los resultados demostraron que ninguno de los casos inicialmente clasificados como negativos por el autotitulador cambió a una interpretación positiva al aumentar el grado de dilución de la muestra. Por lo tanto, se concluye que, bajo las condiciones de este estudio, no existe interferencia por un posible efecto prozona que pueda enmascarar la detección de casos verdaderos positivos en la prueba de ANA por IFI.

Se observó un alto grado de acuerdo entre el observador y el autotitulador en todas las diluciones evaluadas. Sin embargo, se identificó una diferencia de un título entre el autotitulador y el analista en la clasificación final de las muestras. Esta variación, aunque no comprometió la conclusión sobre la ausencia del efecto prozona, es relevante para la estandarización y control de calidad. Esta diferencia de un título puede atribuirse a factores como la interpretación subjetiva de la intensidad de la fluorescencia por parte del analista o las diferencias en el algoritmo de interpretación del software del autotitulador. A pesar de esta diferencia, la alta concordancia general refuerza la confianza en el uso del equipo automatizado para la detección de ANA, siempre y cuando se considere esta posible variación de un título en la interpretación final de los resultados.

Bibliografía:

- Andrade-Barrera J, Sáenz-Flores K, Cuervo D, Arévalo J. Anticuerpos antinucleares en pacientes con sospecha clínica de enfermedad autoinmune. Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio. 2019;66(1):6-12.
- Mathai A, Panicker S, Kannoth S, Anandakutty A. Prozone phenomenon observed in indirect immunofluorescence assay by antibodies against neuronal antigens. J Neuroimmunol. 2020 Dec 15;349:577415. doi: 10.1016/j.jneuroim.2020.577415. Epub 2020 Sep 28. PMID: 3302015.
- NOVA Lite DAPI ANA Kit. For In Vitro Diagnostic Use. CLIA Complexity: High. 2018(7).

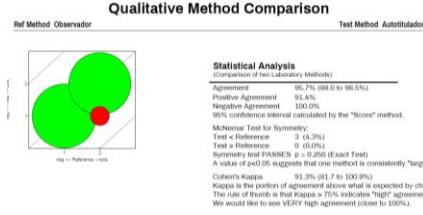


Figura 1: Se obtuvo un kappa de cohen del 91.3% en la dilución 1:80, el cual nos indica que no hay interferencia por posible efecto prozona y que hay un elevado acuerdo entre el autotitulador y el observador.

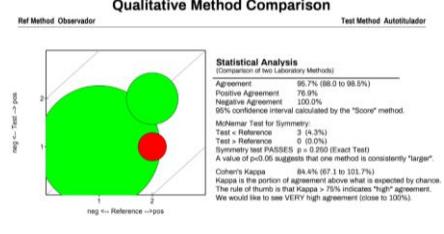


Figura 2: Se obtuvo un kappa de cohen del 84.4% en la dilución 1:320, el cual nos indica que no hay interferencia por posible efecto prozona y que hay un elevado acuerdo entre el autotitulador y el observador.

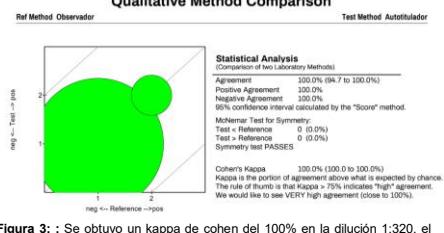


Figura 3: : Se obtuvo un kappa de cohen del 100% en la dilución 1:320, el cual nos indica que no hay interferencia por posible efecto prozona y que hay un elevado acuerdo entre el autotitulador y el observador.