

ELISA y sus aplicaciones en dermatología

ELISA and its applications in Dermatology

José Manuel Ríos Yuil,¹ Patricia Mercadillo Pérez,² Emma Yuil de Ríos,³ Manuel Ríos Castro⁴

¹ Dermatólogo, inmunólogo, parasitólogo, micólogo y jefe de residentes de dermatopatología, Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga" (SSA), y Caja de Seguro Social de Panamá, Panamá.

² Dermatóloga y dermatopatóloga. Jefa del Servicio de Dermatopatología del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga" (SSA).

³ Dermatóloga. Policlínica San Fernando Norte y Caja de Seguro Social de Panamá. Delegada de Panamá ante el Colegio Iberoamericano de Dermatología.

⁴ Dermatólogo. Policlínica San Fernando Norte y Caja de Seguro Social de Panamá.

RESUMEN

ELISA es una técnica que permite la detección de antígenos o anticuerpos específicos en una muestra de interés, mediante una combinación de principios inmunológicos y enzimáticos. Toda prueba de ELISA tiene en común los siguientes componentes: un antígeno o un anticuerpo específico marcado con una enzima, un soporte, un sustrato que será transformado por la enzima en un producto detectable y un sistema para detectarlo. Los principales tipos de ELISA son el directo, el indirecto y el de sandwich. Las aplicaciones en dermatología son abundantes, y es utilizado principalmente para el diagnóstico, con alta sensibilidad y especificidad, de dermatosis infecciosas, ampollares, vasculitis, enfermedades del tejido conectivo y para la medición de citocinas que están relacionadas con la patogénesis de múltiples enfermedades con repercusión cutánea. Esta técnica también tiene aplicaciones crecientes en la investigación dermatológica, por lo que todo dermatólogo debe conocer los principios básicos de esta prueba.

PALABRAS CLAVE: enfermedades de la piel, enfermedades infecciosas, dermatosis ampollares, ELISA, sensibilidad, especificidad.

ABSTRACT

ELISA is a technique that detects specific antigens or antibodies in a studied sample through a combination of immunological and enzymatic compounds. Every ELISA has the following components: a specific antigen or antibody conjugated with an enzyme, a support, a substrate that will be transformed into a detectable product by the enzyme and a detection system for that product. The main types are direct, indirect and sandwich ELISA. The dermatologic applications are diverse and the technique is mainly used for the highly sensitive and specific diagnosis of infectious or bullous dermatoses, vasculitis and connective tissue diseases and for the measurement of cytokines that are related with the pathogenesis of multiple diseases with cutaneous manifestations. The technique also has promising applications in dermatological research. For all these reasons, every dermatologist should know the basic principles of ELISA.

KEYWORDS: Skin diseases, infectious disease, bullous dermatoses, ELISA, sensitivity, specificity.

Introducción

Es ampliamente conocido que la dermatología es la especialidad de la medicina que tiene más diagnósticos patológicos. En la mayoría de los casos, el dermatólogo hace el diagnóstico de las enfermedades de la piel por medio de la historia clínica y el examen físico; sin embargo, en algunos casos, para llegar a un diagnóstico definitivo es necesario apoyarse en pruebas complementarias como la biopsia de piel y las pruebas de laboratorio. Entre las pruebas de laboratorio destaca el ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima (ELISA), una técni-

ca que permite la detección de antígenos o anticuerpos mediante una combinación de principios inmunológicos y enzimáticos. ELISA tiene numerosas ventajas, entre las que destacan: simplicidad, fácil lectura, rapidez, alta sensibilidad, adaptabilidad, bajo costo, seguridad, disponibilidad comercial y múltiples aplicaciones en la dermatología y en otras áreas de la ciencia.¹

A pesar de que ELISA tiene muchas aplicaciones en dermatología y que su uso en la práctica clínica es creciente, la mayoría de los artículos disponibles en la literatura tratan sobre la utilidad diagnóstica de ELISA en

CORRESPONDENCIA

Dr. José Manuel Ríos Yuil ■ jmriosyuil@hotmail.com

Dr. Balmis núm. 148, col. Doctores, CP 06726, México, DF, México. Tel. (52) (55) 5004-3845.

enfermedades dermatológicas individuales. No hemos encontrado ningún artículo de revisión que recopile las aplicaciones dermatológicas de ELISA. Por esto, el objetivo de esta revisión es describir los principios generales ELISA y sus principales aplicaciones en la dermatología.

Principios generales del ELISA

En todos los ELISA se utiliza una enzima unida covalentemente a un antígeno o a un anticuerpo. ELISA permite la detección de anticuerpos cuando la enzima está unida a un anticuerpo antiinmunoglobulina humana, y de antígenos cuando la enzima está unida a un anticuerpo contra un antígeno específico.² Si el antígeno o el anticuerpo de interés están presentes en la muestra estudiada, el anticuerpo marcado con la enzima se unirá a ellos (principio inmunológico) y la enzima convertirá un sustrato incoloro en un producto detectable (principio enzimático). De esta manera, solo se generará el producto detectable si el antígeno o el anticuerpo de interés están presentes en la muestra estudiada.^{2,3}

Toda prueba de ELISA tiene en común los siguientes componentes:

1. Un antígeno o un anticuerpo específico marcado con una enzima (conjugado). Las enzimas más utilizadas son la peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina y β -galactosidasa.
2. Un soporte para dicho antígeno o anticuerpo. Generalmente se utiliza una placa de poliestireno con 96 pocillos.
3. Un sustrato que será transformado por la enzima en un producto detectable. Los productos pueden detectarse por métodos colorimétricos, fluorescentes y luminiscentes (figura 1).



Figura 1. Producto coloreado, luego de la reacción enzimática en una placa de poliestireno de 96 pocillos.

4. Un sistema para detectar dicho producto.^{1,2}
5. Existen diversos tipos de ELISA, pero los más importantes son el directo, el indirecto y el de captura o sándwich.¹ A continuación se detallan los principios generales de estos tipos primordiales:

ELISA directo

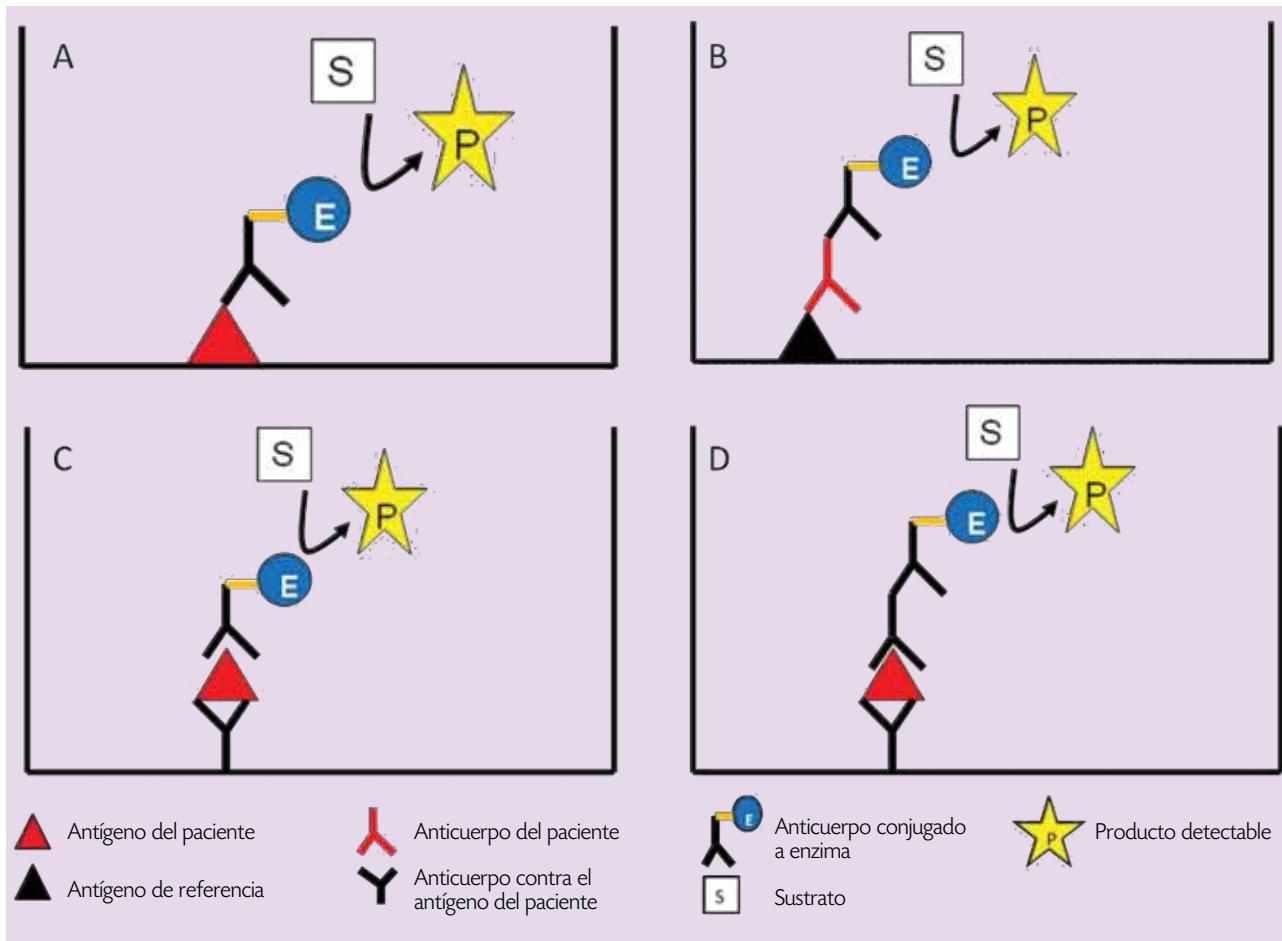
Permite la detección de antígenos específicos en una muestra. Es poco utilizado en el laboratorio clínico porque ha sido superado por ELISA de sándwich. En esta prueba se agrega la muestra del paciente directamente al soporte y permite que el antígeno buscado, si está presente en la muestra, se adsorba a dicho soporte (pocillo). Luego se hace un lavado para eliminar todo lo que no se haya unido al soporte. Posteriormente, se agrega el anticuerpo específico conjugado con la enzima, el cual se unirá al antígeno si éste se adsorbió al soporte en el paso anterior. Luego de una segunda fase de lavado, en la que se elimina todo el conjugado que no se unió, se agrega el sustrato incoloro y éste es transformado en un producto detectable, si el conjugado todavía estaba presente (figura 2A).¹

ELISA indirecto

Favorece la detección de anticuerpos. En esta prueba, el soporte tiene unido el antígeno específico contra el que va dirigido el anticuerpo que se está buscando en la muestra. En el primer paso, se agrega la muestra del paciente, y si el anticuerpo está presente, se unirá al antígeno que ya estaba adherido al soporte. Luego se hace un lavado para eliminar todo lo que no se haya unido al antígeno y, posteriormente, se agrega un anticuerpo antiinmunoglobulina humana conjugado con una enzima, el cual se unirá al anticuerpo, solo si está presente en la muestra del paciente. Luego de una segunda fase de lavado, en la que se elimina todo el conjugado que no se unió, se agrega el sustrato incoloro y éste es transformado en un producto detectable, si el conjugado todavía estaba presente (figura 2B).¹

ELISA de sándwich

Ésta es la forma más utilizada para la detección de antígenos. En esta prueba, el soporte tiene unido un anticuerpo específico contra el antígeno que se está buscando en la muestra. En el primer paso, se agrega la muestra del paciente y, si el antígeno está presente, se unirá al anticuerpo que estaba adherido al soporte. Luego se hace un lavado para eliminar todo lo que no se haya unido al anticuerpo. Posteriormente se agrega un segundo anticuerpo conjugado con una enzima, que se une específicamente al antígeno de interés, pero en un epítopo distinto al que se unió el anticuerpo que estuvo unido al soporte (primer



anticuerpo). Luego de una segunda fase de lavado, en la que se elimina todo el conjugado que no se unió, se agrega el sustrato incoloro y éste se transforma en un producto detectable si el conjugado todavía estaba presente (figura 2C).¹⁻³ A esta forma descrita también se le conoce como ELISA de sándwich directo. Existe otra variante de la técnica, conocida como ELISA de sándwich indirecto. En la variante indirecta se utilizan tres anticuerpos, debido a que el segundo anticuerpo específico contra el antígeno no está directamente conjugado a la enzima, sino que se utiliza un tercer anticuerpo antiinmunoglobulina humana, que sí está conjugado con la enzima para que se una al segundo anticuerpo. Es decir, lo que en el ELISA de sándwich directo es logrado mediante el segundo anticuerpo, en el ELISA de sándwich indirecto se logra por medio del segundo y del tercer anticuerpo (figura 2D). El ELISA de sándwich indirecto tiene la ventaja de usar un mismo conjugado (anticuerpo antiinmunoglobulina humana conjugado con una enzima) para todas las pruebas de detección en las que se aplique la metodología, debido

a que el anticuerpo con especificidad por el antígeno buscado en la prueba no es el que está unido a la enzima. De esta manera, se evita el costoso proceso de tener que conjugar a la enzima con cada anticuerpo específico, según el antígeno que se esté buscando en la prueba.¹

ELISA en las enfermedades infecciosas de la piel

ELISA tiene importantes aplicaciones en el diagnóstico de enfermedades infecciosas virales, bacterianas, fúngicas y parasitarias. En la mayoría de los casos, esta técnica tiene excelente sensibilidad y especificidad.

Enfermedades virales

a. Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

La infección por el VIH se asocia a una pléyade de manifestaciones cutáneas que pueden ser agrupadas en primarias y secundarias. Entre las primarias pueden señalarse: dermatitis seborreica, psoriasis, xerosis, dermatitis atópica, folliculitis eosinofílica, prurito y enfermedades inducidas por medicamentos. Entre

las secundarias destacan las enfermedades infecciosas (virales, bacterianas y fúngicas) y las enfermedades neoplásicas.⁴ Muchas de estas manifestaciones, principalmente las secundarias, pueden poner en peligro la vida del paciente, por lo que el diagnóstico temprano de la infección por el VIH es crucial. ELISA ha demostrado tener altísima sensibilidad y especificidad para la detección de la infección por el VIH, por lo que es la prueba diagnóstica de elección (cuadro 1).⁵

- b. *Infección por el virus del papiloma humano (VPH).* La infección por diversos serotipos del VPH se ha relacionado con el desarrollo de lesiones benignas y malignas de piel y mucosas. En la piel se asocia al desarrollo de verruga vulgar, verruga plana, verruga plantar y lesiones verrugosas en pacientes con epidermodisplasia verruciforme. En la mucosa oral se asocia con papiloma oral de células escamosas, verruga vulgar, condiloma acuminado, hiperplasia epitelial focal, leucoplaquia y carcinoma escamoso. En el área genital se relaciona con el desarrollo de condilomas acuminados, neoplasias intraepiteliales de bajo grado, neoplasias intraepiteliales de alto grado y carcinomas escamosos.⁶ ELISA ha demostrado alta sensibilidad y especificidad para la detección de IgG anti-VPH en suero (cuadro 1).⁷
- c. *Herpes simple.* El virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2) es una causa primaria de úlceras genitales y representa una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes en el nivel mundial. La sensibilidad de ELISA

para la detección de IgG anti-VHS-2 es muy elevada; sin embargo, la especificidad es menor (cuadro 1).⁸

- d. *Dengue.* Es la enfermedad viral más importante transmitida por mosquitos y causa alrededor de 50 a 100 millones de casos nuevos anualmente, incluyendo 25 mil muertes. En un estudio multicéntrico que incluyó seis países ubicados en Asia y América Latina, se determinó que los ELISA para detectar la proteína NS1 del virus del dengue tienen una sensibilidad moderada, pero una altísima especificidad (cuadro 1). Esto quiere decir que la probabilidad de que un paciente con una prueba positiva no tenga dengue, es muy remota.⁹
- e. *Sarampión.* Es una enfermedad altamente contagiosa causada por el virus del sarampión, un miembro del género *Morbillivirus* de la familia Paramyxoviridae. Las manifestaciones clínicas características son erupción maculopapular, fiebre, tos, coriza y conjuntivitis. A pesar de las intensas campañas de vacunación realizadas mundialmente, la tasa morbilidad y mortalidad por esta enfermedad todavía es considerable en algunos países, por lo que es relevante contar con una prueba de laboratorio que permita confirmar el diagnóstico.¹⁰ Los ELISA indirectos para la detección de IgM y de IgG contra el virus del sarampión han demostrado elevada sensibilidad y especificidad (cuadro 1).^{10,11}
- f. *Rubéola.* Es causada por el virus de la rubéola, un rubivirus, miembro de la familia Togaviridae. Inicia con fiebre de bajo grado, cefalea, conjuntivitis, rinitis, dolor

Cuadro 1. ELISA en las enfermedades virales y bacterianas de la piel

CATEGORÍA DE LA ENFERMEDAD	ENFERMEDAD	DETECTA	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)	REFERENCIA
Virales	VIH/sida	Anticuerpos	98.7	97.2	5
	Infección por VPH	IgG	93	98.5	7
	Herpes genital (HSV-2)	IgG	89-98	61-85	8
	Dengue	Proteína NS1	64	100	9
	Sarampión	IgM	100	92	10
	Sarampión	IgG	99.6	100	11
	Rubéola	IgG	100	98.5	11
	Varicela	IgG	100	100	14
Bacterianas	Sífilis	IgA, IgM, IgG	99.2	98.7	16
	Chancroide	IgG	53-78	71-84	17
	Linfogranuloma venéreo	IgG	57.9	97.6	18, 19
	Enfermedad de Lyme	Anticuerpos	98	98	20
	Angiomatosis bacilar y enfermedad por arañazo de gato	IgM	100	97.1	21
	Tularemia	IgG, IgM, IgA	99.0	97.1	23
	Lepra multibacilar	IgM, IgG	96-100	–	24
	Tuberculosis extrapulmonar	IgG	97.5	98.4	26
		IgG	26-100	59-100	27

de garganta, tos y linfadenopatía. Luego de uno a cinco días surge una erupción cutánea, caracterizada por máculas y pápulas eritematosas, que aparecen inicialmente en la cara y luego se disemianan en dirección caudal en un lapso de 24 horas. La erupción tiende a desaparecer por completo en dos a tres días; sin embargo, la enfermedad puede asociarse con linfadenopatía prominente, esplenomegalia, artritis, encefalitis, neuropatía periférica, trombocitopenia con manifestaciones hemorrágicas y, si afecta a embarazadas en el primer trimestre de gestación, con el síndrome de rubéola congénita.¹² El ELISA para detectar anticuerpos IgG contra el virus de la rubéola tiene excelente sensibilidad y especificidad (cuadro 1).¹¹

g. Varicela. Se caracteriza por fiebre, cefalea, malestar general y pérdida de apetito, que se asocian con una erupción cutánea que comienza con la aparición de máculas, que rápidamente evolucionan a pápulas, vesículas y costras. Las lesiones característicamente se encuentran en distintos estadios evolutivos. Puede relacionarse con complicaciones neurológicas como ataxia cerebelosa, meningitis, meningoencefalitis, vasculopatía y enfermedad cerebrovascular. En los adultos, el cuadro clínico generalmente es más severo y puede asociarse con neumonía intersticial potencialmente letal.¹³ El uso de ELISA para detectar anticuerpos IgG contra la glicoproteína de la envoltura del virus de la varicela-zoster ha demostrado tener muy buena sensibilidad y especificidad (cuadro 1).¹⁴

Enfermedades bacterianas

a. Sífilis. Es una enfermedad de transmisión sexual causada por la espiroqueta *Treponema pallidum* (*Tp*) subespecie *pallidum*. A pesar de la existencia de tratamiento antibiótico apropiado, continúa siendo un problema de salud pública en el nivel mundial con alrededor de 10.6 millones de casos nuevos cada año, la mayoría en países en vías de desarrollo.¹⁵ Un ELISA que detecta anticuerpos IgA, IgM e IgG contra los antígenos *Tp17* y *Tp41* ha demostrado tener una sensibilidad y especificidad muy elevada (cuadro 1), por lo que el ELISA parece ser una alternativa muy útil para el diagnóstico serológico de sífilis.¹⁶

b. Chancroide. Enfermedad de transmisión sexual causada por la bacteria *Haemophilus ducreyi*, que es una de las principales causas de úlceras genitales en los países en desarrollo. Se caracteriza por la aparición de una o múltiples úlceras, dolorosas, de fondo sucio, en el área genital. Tradicionalmente, la confirmación del diagnóstico de la enfermedad se ha hecho mediante el cul-

tivo; sin embargo, esta técnica tiene muy baja sensibilidad. Un ELISA para detectar anticuerpos IgG contra *H. ducreyi* ha demostrado tener moderada sensibilidad y especificidad (cuadro 1), las cuales aumentan con la duración de la infección.¹⁷

c. Linfogranuloma venéreo. Es una enfermedad de transmisión sexual causada por los serotipos L1, L2 y L3 de *Chlamydia trachomatis*, que se distingue por tener tres estadios evolutivos. El estadio primario se caracteriza por una pápula indolora que se ulcerá y que aparece en el sitio de inoculación. En el estadio secundario hay linfadenopatía regional y afección de la zona anorrectal. En el estadio terciario aparecen las secuelas tardías, como la elefantiasis de los genitales y los estrechamientos y fistulas rectales.¹⁸ El diagnóstico serológico de linfogranuloma venéreo no es fácil, porque las pruebas no han sido bien caracterizadas; sin embargo, un ELISA para detectar IgG contra el antígeno Pgp3 de *C. trachomatis* ha demostrado una sensibilidad moderada, pero una altísima especificidad (cuadro 1).¹⁹

d. Enfermedad de Lyme. Es causada por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, transmitida por la picadura de garrapatas del género *Ixodes*. Uno de los primeros signos de la infección es el eritema crónico migratorio. Posteriormente las espiroquetas se diseminan por vía hematogena y pueden causar complicaciones neurológicas, cardíacas y reumatológicas. Un ELISA para detectar anticuerpos contra el péptido C6, un análogo peptídico sintético de la región invariable 6 de la lipoproteína VlsE de *B. burgdorferi*, ha demostrado excelente sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de la infección por esta espiroqueta (cuadro 1).²⁰

e. Angiomatosis bacilar y enfermedad por arañazo de gato. *Bartonella benselae* es una bacteria gram negativa que ha sido relacionada con un espectro de enfermedades dependiendo del estado inmunitario del hospedero. La enfermedad por arañazo de gato afecta a individuos inmunocompetentes y las enfermedades angioproliferativas, como la angiomatosis bacilar, afectan a los pacientes inmunocomprometidos. El ELISA para detectar anticuerpos IgM contra el antígeno de 17 kDa de *B. benselae* permite identificar una respuesta temprana de anticuerpos frente a esta bacteria con muy alta sensibilidad y especificidad (cuadro 1).²¹

f. Tularemia. *Francisella tularensis* es el agente etiológico de la tularemia. Esta enfermedad se caracteriza por fiebre, escalofríos, cefalea, debilidad, fatiga y mialgias que pueden asociarse con tos, dolor de garganta, úlceras cutáneas, efusión pleural, neumonía, síndrome de dificultad respiratoria aguda, pericarditis, náuseas y vómitos.

Ésta es una enfermedad potencialmente mortal que se transmite con mucha facilidad, por lo cual ha sido considerada un arma biológica potencial. Por estas razones, su diagnóstico preciso es muy importante.²² Varios ELISA para detectar anticuerpos contra esta bacteria han sido estudiados con buenos resultados (cuadro 1).^{23,24}

- g. *Lepra*. Enfermedad infecciosa crónica causada por *Mycobacterium leprae*, que conduce al daño progresivo de los nervios periféricos, deformidades y múltiples alteraciones cutáneas. Las manifestaciones clínicas y la cantidad de bacilos en las lesiones (multibacilar vs paucibacilar) dependen del estado inmunitario del hospedero. En un estudio se compararon dos ELISA para detectar anticuerpos contra *M. leprae*. El primero utilizaba como antígeno a la proteína mayor de membrana II (MMP-II), y el segundo utilizaba el glicolípido fenólico I (PGL-I). El porcentaje de positividad en pacientes multibacilares fue 85.1% con el MMP-II y 57.0% con el PGL-I. Estos porcentajes fueron menores en los casos paucibacilares.²⁵ En otro estudio se determinó que el ELISA que utiliza MMP-II tenía buena sensibilidad y especificidad para detectar IgG contra *M. leprae* (cuadro 1).²⁶
- b. *Tuberculosis extrapulmonar*. La tuberculosis generalmente afecta a los pulmones, pero cualquier órgano o tejido,

incluida la piel, puede ser afectado. En Estados Unidos de América, en 2005, 20% de los casos de tuberculosis afectaban exclusivamente localizaciones extrapulmonares, y un 9% adicional afectaba tanto los pulmones como localizaciones extrapulmonares. Las pruebas de laboratorio convencionales tienen importantes limitaciones para el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar. El ELISA para detectar IgG ha demostrado buena sensibilidad y especificidad, aunque los resultados son muy variables entre los diferentes estudios (cuadro 1).²⁷

Enfermedades fúngicas

- a. *Cromblastomicosis*. Es una infección subcutánea crónica causada por hongos dematiáceos. *Fonsecaea pedrosoi* y *Cladophialophora carrionii* son los agentes más frecuentes. El estándar de oro para el diagnóstico de cromblastomicosis es el cultivo; sin embargo, su sensibilidad es baja.^{28,29} El ELISA para detectar anticuerpos contra el antígeno somático de *C. carrionii* ha demostrado tener excelente sensibilidad y especificidad.²⁸ En el caso de ELISA para detectar anticuerpos IgG contra el antígeno somático de *F. pedrosoi*, la sensibilidad fue menor; pero aun así fue superior a la del cultivo (cuadro 2).²⁹

Cuadro 2. ELISA en enfermedades fúngicas y parásitarias de la piel

CATEGORÍA DE LA ENFERMEDAD	ENFERMEDAD	DETECTA	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)	REFERENCIA
Fúngicas	Cromblastomicosis (<i>C. carrionii</i>) (<i>F. pedrosoi</i>)	IgG	100	98.9	28
	Esporotricosis	IgG	78	83	29
		IgG	97	89	30
		IgA	95.1	91.5	31
		IgG	85.4	87.2	31
		IgM	85.4	77.7	31
	Cryptococcosis	Antígeno	100	95.5-97.9	33
		Anticuerpos	64.3-100	-	34
	Paracoccidioidomicosis	IgG	98.4-100	100	36
	Histoplasmosis	Ag en orina	81	95	38
Parasitarias	Coccidioidomicosis	IgG	92	96	39
		IgG, IgM	94.8	98.5	41
	Leishmaniasis cutánea (<i>L. major</i>) (<i>L. amazonensis</i>)	IgG	70	85	45
		IgG	90	90	45
	Amibirosis cutánea	IgG	95.1	-	43
Parasitarias		IgG	92.5-97.9	91.3-97	47
		IgG	93.3	97.1	48
	Oncocercosis	Antígeno en heces	71-100	93-100	47
		IgG e IgG4	71-86	92-100	50

- b. *Esporotricosis*. Es una infección subcutánea causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, que ocasionalmente produce una infección diseminada. Tiene una distribución mundial y se adquiere por inoculación traumática del hongo en el tejido celular subcutáneo. Para detectar anticuerpos IgG contra exoantígenos de la fase micelial de *S. schenckii*, el ELISA ha demostrado excelente sensibilidad y especificidad.³⁰ Otro ELISA para detectar anticuerpos IgG, IgM e IgA contra exoantígenos de *S. schenckii* también tuvo excelentes resultados (cuadro 2).³¹
- c. *Cryptococosis*. Es causada por *Cryptococcus neoformans* y se asocia con importante morbilidad y mortalidad en pacientes inmunocomprometidos. El SIDA es el factor predisponente en alrededor de 90% de los casos de criptococosis. Las lesiones cutáneas ocurren en alrededor de 5 a 10% de los pacientes con criptococosis diseminada, son muy polimorfas, y pueden incluir pápulas, pústulas, nódulos, abscesos, ampollas, úlceras, celulitis, entre otras.³² Un ELISA para detectar el antígeno de *C. neoformans* en suero y líquido cefalorraquídeo reveló excelente sensibilidad y especificidad.³³ Otro ELISA para detectar anticuerpos contra la fosfolipasa B de *C. neoformans* ha demostrado excelente sensibilidad en pacientes inmunocompetentes; sin embargo, ésta es considerablemente menor en pacientes inmunocomprometidos (cuadro 2).³⁴
- d. *Paracoccidioidomicosis*. Es una micosis profunda, endémica en grandes zonas de América Central y del Sur. Es causada por el hongo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*, que produce una infección granulomatosa de la piel, membranas mucosas, ganglios linfáticos y órganos internos.³⁵ El ELISA ha demostrado elevada sensibilidad y especificidad para detectar anticuerpos IgG contra *P. brasiliensis* (cuadro 2).³⁶ En otro estudio, el ELISA encontró anticuerpos IgG en 95% de los pacientes VIH positivos con paracoccidioidomicosis y en 100% de los pacientes VIH negativos con la enfermedad.³⁷
- e. *Histoplasmosis*. Es causada por el hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum*, que puede encontrarse mundialmente; pero es endémico en América Central y en el medio oeste de los Estados Unidos. En pacientes inmunosuprimidos produce una enfermedad diseminada con elevada morbi-mortalidad. El cultivo es el estándar de oro para el diagnóstico; sin embargo, su sensibilidad es baja y el resultado no está disponible rápidamente. Un ELISA para detectar el antígeno de la fase levaduriforme de *H. capsulatum* en orina ha demostrado buena sensibilidad y especificidad.³⁸ Un ELISA para detectar anticuerpos IgG contra la histoplasmina desglicosilada

también demostró tener muy buena sensibilidad y especificidad (cuadro 2).³⁹

- f. *Coccidioidomicosis*. Es una infección fúngica endémica, causada por el hongo dimórfico *Coccidioides immitis*, cuya distribución está limitada al hemisferio occidental, desde California hasta Argentina. La infección es asintomática en alrededor de 60% de las personas, y la mayoría del resto suele tener una afección pulmonar autolimitada; sin embargo, incluso en personas inmunocompetentes, puede producir enfermedad diseminada potencialmente mortal.^{40,41} Un ELISA para detectar anticuerpos IgM e IgG contra la precipitina tubular de *C. immitis* mostró excelente sensibilidad y especificidad (cuadro 2).⁴¹

Enfermedades parasitarias

- a. *Leishmaniasis*. Es producida por parásitos del género *Leishmania* y afecta a alrededor de 12 millones de personas en 88 países.^{42,43} Existen dos formas principales de la enfermedad: la cutánea (localizada, difusa y mucocutánea) y la visceral.⁴² Los métodos serológicos se utilizan con mayor frecuencia para diagnosticar leishmaniasis visceral, debido a que en la leishmaniasis cutánea los títulos de anticuerpos suelen ser más bajos.⁴⁴ Un ELISA para detectar anticuerpos IgG contra *Leishmania* presentó excelente sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de leishmaniasis cutánea por *L. amazonensis* y resultados moderados cuando el cuadro era causado por *L. major*.⁴⁵ En un estudio en el que se probó la sensibilidad de ELISA para detectar anticuerpos IgG anti *Leishmania*, tanto en pacientes con leishmaniasis cutánea como visceral, se encontró una elevada sensibilidad (cuadro 2).⁴³
- b. *Amibirosis cutánea*. La amibirosis cutánea ocurre cuando la *Entamoeba histolytica* escapa del colon y se adhiere a la piel adyacente, usualmente del área perianal y perigenital. Allí causa lisis de la piel y del tejido celular subcutáneo. Esto lleva a la formación de úlceras con bordes engrosados y socavados, con descarga seropurulenta y restos necróticos.⁴⁶ Se han desarrollado pruebas de ELISA para detectar tanto antígenos como anticuerpos contra *E. histolytica*. Las pruebas para detectar antígenos en heces utilizan anticuerpos específicos contra la lectina específica Gal/GalNAc o contra el antígeno rico en serina de *E. histolytica* y han demostrado muy buenos resultados. Las pruebas para detectar anticuerpos son útiles en aquellos pacientes que presentan enfermedad extraintestinal y que no están eliminando organismos por las heces. Estas pruebas también han tenido excelentes resultados.⁴⁷ Otro estudio en el que

se utilizó ELISA para detectar anticuerpos IgG contra el antígeno de *E. histolytica*, también tuvo excelente sensibilidad y especificidad (cuadro 2).⁴⁸

- c. *Oncocercosis*. También conocida como la “ceguera de los ríos”, es causada por la filaria *Onchocerca volvulus*, un miembro de la clase Nematoda. Se transmite por la picadura de *Simulium* spp. La enfermedad afecta principalmente los ojos y la piel. En los ojos produce múltiples cambios que llevan a la ceguera o a considerable limitación de la visión. En la piel produce una dermatitis papular aguda y crónica que se asocia con excoriaciones, áreas de liquenificación y cambios pigmentarios que se conocen como “piel de leopardo”.⁴⁹ En un ELISA para detectar anticuerpos IgG totales y su fracción IgG4, se utilizó el extracto crudo del gusano adulto como antígeno, obteniendo moderada sensibilidad y excelente especificidad (cuadro 2).⁵⁰

ELISA en las dermatosis ampollares

Las pruebas serológicas, entre las que destaca ELISA, cada vez son más utilizadas como herramientas de apoyo para el diagnóstico de las enfermedades ampollares.

- i. *Pénfigo vulgar*. Se caracteriza por la formación de ampollas flácidas, de pared delgada, que se rompen fácilmente dejando exulceraciones dolorosas que sanan con facilidad. Las lesiones aparecen en cualquier parte de la superficie cutánea y también en las mucosas. Cuando el pénfigo vulgar no es diagnosticado y tratado oportunamente, puede ser fatal debido a las alteraciones en la barrera cutánea y a las infecciones secundarias.⁵¹ Las pruebas de ELISA para medir anticuerpos IgG contra antígenos antidesmogleína 3 y antidesmogleína 1 han demostrado excelentes resultados (cuadro 3).^{52,53}

2. *Penfigoide ampollar*. Enfermedad ampollosa subepidérmica que usualmente afecta a personas mayores y que se caracteriza por la formación de ampollas tensas con

hallazgos inmunopatológicos de depósitos lineales de C3 e IgG en la unión dermoepidérmica.⁵⁴ Los ELISA para detectar anticuerpos contra el antígeno BP180 han tenido buenos resultados (cuadro 3).^{54,55}

3. *Penfigoide gestacional*. Dermatosis ampollosa autoinmune que afecta a una de cada 50 mil embarazadas durante el segundo o el tercer trimestre de gestación. El prurito intenso es seguido por la aparición de pápulas urticarianas y placas que progresan a ampollas tensas. Las lesiones generalmente inician en la región periumbilical y se extienden centrífugamente. La mayoría de las pacientes sana con el parto; pero la enfermedad usualmente recurre en embarazos subsecuentes.^{56,57} La prueba de ELISA para detectar anticuerpos IgG anti-NC16A-BP180 ha demostrado elevada sensibilidad y especificidad (cuadro 3).⁵⁸
4. *Dermatitis herpetiforme*. Dermatosis crónica autoinmune que se caracteriza por una erupción pápulo-vesicular pruriginosa, de predominio en superficies de extensión y que histológicamente muestra microabscesos papilares de neutrófilos.⁵⁹ Un ELISA para detectar anticuerpos IgA antitransglutaminasa tisular tuvo excelentes resultados (cuadro 3).⁶⁰
5. *Epidermolisis bulosa adquirida*. Enfermedad ampollosa subepidérmica, severa, crónica, que afecta piel y mucosas y que se caracteriza por fragilidad cutánea, ampollas en sitios de trauma, cicatrización con formación de millium y distrofia ungueal.⁶¹ Un ELISA para detectar anticuerpos contra los dominios NC1 y NC2 del colágeno tipo VII ha demostrado elevada sensibilidad y especificidad (cuadro 3).⁶²

ELISA en las vasculitis y las enfermedades del tejido conectivo

- i. *Vasculitis por anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA)*. Los ANCA son anticuerpos dirigidos contra antígenos del citoplasma de neutrófilos y monocitos. Su detec-

Cuadro 3. ELISA en las dermatosis ampollares

ENFERMEDAD	DETECTA	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)	REFERENCIA
Pénfigo vulgar	IgG anti desmogleína 3 IgG anti desmogleína 1 y 3	85-95 98.14	96-100 90.5	52 53
Penfigoide ampollar	IgG IgA	96 83.3	— 100	54 55
Penfigoide gestacional	IgG	93	96	58
Dermatitis herpetiforme	IgA	98.6	92.5	60
Epidermolisis bulosa adquirida	IgG	93.8	98.1	62

ción es importante para el diagnóstico temprano de vasculitis sistémicas de pequeños vasos. Alrededor de 70 a 90% de los pacientes con granulomatosis de Wegener generalizada activa tienen ANCA citoplásmicos (c-ANCA), que van dirigidos contra la proteinasa 3, y entre 60 y 80% de los pacientes con poliangitis microscópica activa tienen ANCA perinucleares (p-ANCA) dirigidos contra la mieloperoxidasa. En un estudio se evaluaron 12 pruebas de ELISA para c-ANCA y 12 pruebas para p-ANCA. Los ELISA para c-ANCA tuvieron una sensibilidad de 85 a 95% y una especificidad de 88 a 96% en pacientes con granulomatosis de Wegener activa. Los ELISA para p-ANCA tuvieron una sensibilidad de 81 a 85% y una especificidad de 86 a 99% en pacientes con poliangitis microscópica activa.⁶³ En otro estudio de pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de granulomatosis de Wegener, un ELISA de sándwich para c-ANCA fue positivo en 72 a 76% de los casos.⁶⁴

2. *Lupus eritematoso sistémico.* Si se sospecha de lupus eritematoso sistémico, tres autoanticuerpos son los más específicos para apoyar el diagnóstico y pueden determinarse mediante ELISA: anti ADN de doble cadena (anti-dsDNA), antifosfolípidos y anti Smith (anti-Sm).⁶⁵
3. *Esclerosis sistémica.* La esclerosis sistémica es un trastorno del tejido conectivo, caracterizado por anomalías vasculares y fibrosis de la piel y de los órganos internos. La enfermedad se divide en dos variantes clínicas: la limitada y la difusa.⁶⁶ De 15 a 25% de los pacientes con esclerosis sistémica tienen positividad para anticuerpos antitopoisomerasa I (Scl-70) y de 20 a 25% tienen positividad para anticuerpos anti ARN polimerasa III. Estos anticuerpos son altamente específicos de esclerosis sistémica. Los anticuerpos Scl-70, anti ARN polimerasa III y anti U₃ ribonucleoproteína (anti U₃RNP) se asocian a esclerosis sistémica difusa y los anticuerpos anticentrómero se asocian con esclerosis sistémica limitada y con el síndrome CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasias).⁶⁵ Dos ELISA se probaron para detectar anticuerpos anticentrómero con alta sensibilidad (91-100%) y moderada especificidad (40-50%).⁶⁶
4. *Dermatomiositis.* El anticuerpo anti Jo-1 es positivo en alrededor de 20% de los pacientes con polimiositis/dermatomiositis. El anticuerpo anti Jo-1 está dirigido contra diferentes epítitos de la histidil-tARN sintetasa (Jo-1). Este anticuerpo está asociado a un subgrupo de enfermedades con características propias conocido como síndrome antisintetasa. Los pacientes con este

síndrome presentan miositis, enfermedad pulmonar intersticial, artritis, fenómeno de Raynaud y mano de mecánico. Los ELISA para detectar anticuerpos anti Jo-1 han demostrado buenos resultados.^{65,67,68}

5. *Artritis reumatoide.* El factor reumatoideo y los anticuerpos antipéptidos citrulinados cíclicos (anti CCP) están presentes en alrededor de 70% de los pacientes con artritis reumatoide; sin embargo, los anticuerpos anti CCP son más específicos para artritis que el factor reumatoideo. Los anti CCP pueden ser detectados mediante ELISA con buenos resultados.⁶⁵

ELISA y la medición de citocinas y otras moléculas

El angioedema hereditario es una enfermedad rara, de herencia autosómica dominante, producida por una deficiencia cuantitativa (tipo I) o cualitativa (tipo II) en el inhibidor de la esterasa de C1 (C1inh). Esto lleva a una activación descontrolada de la cascada del complemento, que provoca episodios recurrentes de edema subcutáneo y/o submucoso. Para confirmar su diagnóstico, es importante medir la función de C1inh en el suero del paciente y esto puede lograrse con muy buenos resultados mediante ELISA.⁶⁹

Es ampliamente conocido que la psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica mediada inmunológicamente. En la psoriasis la concentración de múltiples citocinas, principalmente del factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α), está aumentada. Por esta razón es que esta enfermedad ha sido relacionada con aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular.⁷⁰⁻⁷¹ En un estudio en el que se midieron mediante ELISA las concentraciones de múltiples citocinas en pacientes con psoriasis, se encontraron concentraciones elevadas de FNT- α , interferón gamma, interleucina (IL)-6, IL-8, IL-12 e IL-18.⁷²

ELISA es una de las pruebas más utilizadas para medir las concentraciones de citocinas y tiene muy buena sensibilidad y especificidad. Como cada día se descubre mayor influencia del sistema inmunológico en las enfermedades dermatológicas, el ELISA se ha convertido en una herramienta de importancia crucial en la investigación de la fisiopatología de las enfermedades de la piel.

Conclusión

Los principios básicos de ELISA deben ser comprendidos por todos los médicos y, en este caso, especialmente por los dermatólogos debido a que se trata de una herramienta de incalculable valor para el diagnóstico de dermatosis infecciosas, ampollares, vasculitis, enfermedades del tejido conectivo y para la medición de citocinas que están relacionadas con la patogénesis de múltiples enfermedades

con repercusión cutánea. Debido a lo anterior, además de las numerosas aplicaciones que tiene ELISA en la práctica clínica, también tiene múltiples aplicaciones potenciales en la investigación dermatológica y éstas crecen exponencialmente.

REFERENCIAS

1. Crowther JR. "Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)". En: R Rapley, JM Walker (comps). *Molecular Biomedicine Handbook*. Totowa, Nueva Jersey, 1998: 595-617.
2. Cruse JM, Lewis RE. *Atlas of Immunology*. 3^a ed; Boca Raton: CRC Press, 2010: 841.
3. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Inmunología celular y molecular*. 6a ed; Barcelona: Elsevier, 2008: 525-527.
4. Cedeno-Laurent F, Gómez-Flores M, Méndez N, Añcer-Rodríguez J, Bryant JL, Gaspari AA et al. "New insights into HIV-1-primary skin disorders". *J Int AIDS Soc*. 2011; 14: 5.
5. Indratni AR, Van Crevel R, Parwati I, Tjandrawati A, Noormartany, Kurmalawati J. "Screening and diagnosis of HIV-infection in Indonesia: One, two or three tests? *Acta Med Indones*. Julio, 2009; 41 Suppl 1: 28-32.
6. Ríos JM, Ríos M. "El virus del papiloma humano y su relación con el cáncer cutáneo no melanoma". *Rev Méd Cient*. 2010; 23(2): 10-21.
7. Karem KL, Poon AC, Bierl C, Nisenbaum R, Unger E. "Optimization of a human papillomavirus-specific enzyme-linked immunosorbent assay". *Clin Diagn Lab Immunol*. Mayo, 2002; 9(3): 577-582.
8. Delany-Moretlwe S, Jentsch U, Weiss H, Moyes J, Ashley-Morrow R, Stevens W et al. "Comparison of focus Herpes Select and Kalon HSV-2 gG2 ELISA serological assays to detect herpes simplex virus type 2 antibodies in a South African population". *Sex Transm Infect*. Febrero, 2010; 86(1): 46-50.
9. Guzmán MG, Jaenisch T, Gaczkowski R, Ty Hang VT, Sekaran SD, Kroeger A et al. "Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis". *PLoS Negl Trop Dis*. Agosto 31, 2010; 4(8). pii: e811.
10. Roodbari F, Rousta MH, Mostafaie A, Soleimanjahi H, Foroshani RS, Sabahi F. "Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M antibodies against measles virus". *Clin Diagn Lab Immunol*. Mayo, 2003; 10(3): 439-442.
11. Mossong J, Putz L, Schneider F. "Seroprevalence of measles, mumps and rubella antibodies in Luxembourg: Results from a national cross-sectional study". *Epidemiol Infect*. Enero, 2004; 132(1): 11-18.
12. Scott LA, Stone MS. "Viral exanthems". *Dermatol Online J*. Agosto, 2003; 9(3): 4.
13. Mueller NH, Gilden DH, Cohrs RJ, Mahalingam R, Nagel MA. "Varicella zoster virus infection: Clinical features, molecular pathogenesis of disease, and latency". *Neurol Clin*. Agosto, 2008; 26(3): 675-697, viii.
14. Sauerbrei A, Wutzler P. "Serological detection of varicella-zoster virus-specific immunoglobulin G by an enzyme-linked immunosorbent assay using glycoprotein antigen". *J Clin Microbiol*. Septiembre, 2006 ; 44(9): 3094-3097.
15. Cruz AR, Pillay A, Zuluaga AV, Ramírez LG, Duque JE, Aristizabal GE et al. "Secondary syphilis in cali, Colombia: New concepts in disease pathogenesis". *PLoS Negl Trop Dis*. Mayo 18, 2010; 4(5): 690.
16. Shimanskaya I, Zhuravskaya L, Pankratov O, Unemo M, Ballard RC, Domeika M. "Evaluation of three serological tests manufactured in Belarus for the diagnosis of syphilis". *Acta Derm Venereol*. 2011; 91: 299-302.
17. Chen CY, Mertz KJ, Spinola SM, Morse SA. "Comparison of enzyme immunoassays for antibodies to *Haemophilus ducreyi* in a community outbreak of chancroid in the United States". *J Infect Dis*. Enero, 1997; 175(6): 1390-1395.
18. Mabey D, Peeling RW. "Lymphogranuloma venereum". *Sex Transm Infect*. Abril, 2002; 78(2): 90-92.
19. Wills GS, Horner PJ, Reynolds R, Johnson AM, Muir DA, Brown DW et al. "Pgp3 antibody enzyme-linked immunosorbent assay, a sensitive and specific assay for seroepidemiological analysis of *Chlamydia trachomatis* infection". *Clin Vaccine Immunol*. Enero, 2009; 16(6): 835-843.
20. Burbelo PD, Issa AT, Ching KH, Cohen JI, Iadarola MJ, Marques A et al. "Rapid, simple, quantitative, and highly sensitive antibody detection for lyme disease". *Clin Vaccine Immunol*. Enero, 2010; 17(6): 904-909.
21. Hoey JG, Valois-Cruz F, Goldenberg H, Voskoboinik Y, Pfiffner J, Tilton RC et al. "Development of an immunoglobulin M capture-based enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of acute infections with *Bartonella henselae*". *Clin Vaccine Immunol*. Febrero, 2009; 16(2): 282-284.
22. Bratton RL, Corey R. "Tick-borne disease". *Am Fam Physician*. Enero 15, 2005; 71(12): 2323-2330.
23. Schmitt P, Splettstösser W, Porsch-Ozcurumez M, Finke EJ, Grunow R et al. "A novel screening ELISA and a confirmatory Western blot useful for diagnosis and epidemiological studies of tularemia". *Epidemiol Infect*. Agosto, 2005; 133(4): 759-766.
24. Eliasson H, Olcén P, Sjöstedt A, Jurstrand M, Bäck E, Andersson S. "Kinetics of the immune response associated with tularemia: Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay, a tube agglutination test, and a novel whole-blood lymphocyte stimulation test". *Clin Vaccine Immunol*. Agosto, 2008; 15(8): 1238-1243.
25. Kai M, Nguyen Phuc NH, Hoang Thi TH, Nguyen AH, Fukutomi Y, Maeda Y. "Serological diagnosis of leprosy in patients in Vietnam by enzyme-linked immunosorbent assay with *Mycobacterium leprae*-derived major membrane protein II". *Clin Vaccine Immunol*. Diciembre, 2008; 15(12): 1755-1759.
26. Hatta M, Makino M, Ratnawati, Mashudi, Yadi, Sabir M et al. "Detection of serum antibodies to *M. leprae* major membrane protein-II in leprosy patients from Indonesia". *Lepr Rev*. Diciembre, 2009; 80(4): 402-409.
27. Steingart KR, Henry M, Laal S, Hopewell PC, Ramsay A, Menzies D et al. "A systematic review of commercial serological antibody detection tests for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis". *Thorax*. Octubre, 2007; 62(10): 911-918.
28. Oberto-Perdigón L, Romero H, Pérez-Blanco M, Apitz-Castro R et al. "An ELISA test for the study of the therapeutic evolution of chromoblastomycosis by *Cladophialophora carrionii* in the endemic area of Falcon State, Venezuela". *Rev Iberoam Micol*. 2005; 22: 39-43.
29. Vidal MS, De Castro LG, Cavaleate SC, Lacaz Cda S et al. "Immuno-precipitation techniques and Elisa in the detection of anti-Fonsecaea pedrosoi antibodies in chromoblastomycosis". *Rev Inst Med Trop São Paulo*. Noviembre-diciembre, 2003; 45(6): 315-318.
30. Almeida-Paes R, Pimenta MA, Pizzini CV, Monteiro PC, Peralta JM, Nosanchuk JD et al. "Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection". *Clin Vaccine Immunol*. Marzo, 2007; 14(3): 244-249.
31. Almeida-Paes R, Pimenta MA, Monteiro PC, Nosanchuk JD, Zancopé-Oliveira RM. "Immunoglobulins G, M, and A against *Sporothrix schenckii* exoantigens in patients with sporotrichosis before and during treatment with itraconazole". *Clin Vaccine Immunol*. Septiembre, 2007; 14(9): 1149-1157.
32. Müller CS, Schmaltz R, Vogt T. "Secondary cutaneous cryptococcosis mimicking a malignant ulcerated tumor of the facial skin in an immunosuppressed patient". *Eur J Dermatol*. Septiembre-octubre, 2010; 20(5): 657-658.
33. Illnait MT, Vilaseca JC, Fernández CM, Martínez GF et al. "Enzyme-linked immunosorbent assay for detection and quantification of *Cryptococcus neoformans* antigen". *Mem Inst Oswaldo Cruz*. Febrero, 2001; 96(2): 241-245.
34. Santangelo RT, Chen SC, Sorrell TC, Wright LC. "Detection of antibodies to phospholipase B in patients infected with *Cryptococcus*

- neoformans by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)". *Med Mycol.* Enero, 2005; 43(4): 335-341.
35. Albuquerque CF, Da Silva SH, Camargo ZP. "Improvement of the specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of paracoccidioidomycosis". *J Clin Microbiol.* Abril, 2005; 43(4): 1944-1946.
36. Da Silva SH, Grossó D de M, Lopes JD, Colombo AL, Blotta MH, Queiroz-Telles F et al. "Detection of *Paracoccidioides brasiliensis* gp70 circulating antigen and follow-up of patients undergoing antimycotic therapy". *J Clin Microbiol.* Octubre, 2004; 42(10): 4480-4486.
37. Bellissimo-Rodrigues F, Vitali LH, Martinez R. "Serological diagnosis of paracoccidioidomycosis in HIV-coinfected patients". *Mem Inst Oswaldo Cruz Noviembre*, 2010; 105(7): 904-907.
38. Scheel CM, Samayoa B, Herrera A, Lindsley MD, Benjamin L, Reed Y et al. "Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect *Histoplasma capsulatum* antigenuria in immunocompromised patients". *Clin Vaccine Immunol.* Enero, 2009; 16(6): 852-858.
39. Guimaraes AJ, Pizzini CV, De Matos Guedes HL, Albuquerque PC, Peralta JM, Hamilton AJ et al. "ELISA for early diagnosis of histoplasmosis". *J Med Microbiol.* Enero, 2004; 53(Pt 6): 509-514.
40. Blair JE, Coakley B, Santelli AC, Hentz JG, Wengenack NL. "Serological testing for symptomatic coccidioidomycosis in immunocompetent and immunosuppressed hosts". *Mycopathologia.* Noviembre, 2006; 162(5): 317-324.
41. Martins TB, Jaskowski TD, Mouritsen CL, Hill HR et al. "Comparison of commercially available enzyme immunoassay with traditional serological tests for detection of antibodies to *Coccidioides immitis*". *J Clin Microbiol.* Abril, 1995; 33(4): 940-943.
42. Ríos JM, Sousa O. "Inmunología en la infección por *Leishmania*: conceptos actuales". *Rev Méd Cient.* 2010; 23: 11-23.
43. Ryan JR, Smithyman AM, Rajasekariah GH, Hochberg L, Stiteler JM, Martin SK. "Enzyme-linked immunosorbent assay based on soluble promastigote antigen detects immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies in sera from cases of visceral and cutaneous leishmaniasis". *J Clin Microbiol.* Marzo, 2002; 40(3): 1037-1043.
44. Ríos JM, Yuil de Ríos E. "Métodos diagnósticos parasitológicos, inmunológicos, histopatológicos y moleculares de leishmaniasis cutánea". *Rev Méd Cient.* 2010; 23(2): 22-37.
45. Silvestre R, Santarém N, Teixeira L, Cunha J, Schallig H, Cordeiro-da-Silva A. "Evaluation of Leishmania species reactivity in human serologic diagnosis of leishmaniasis". *Am J Trop Med Hyg.* Agosto, 2009; 81(2): 202-208.
46. Bumb RA, Mehta RD. "Amoebiasis cutis in HIV positive patient". *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* Mayo-junio, 2006; 72(3): 224-226.
47. Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J et al. "Laboratory diagnostic techniques for Entamoeba species". *Clin Microbiol Rev.* Julio, 2007; 20(3): 511-532.
48. Van Doorn HR, Hofwegen H, Koelewijn R, Gilis H, Peek R, Wetsteyn JC et al. "Use of rapid dipstick and latex agglutination tests and enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of amebic liver abscess, amebic colitis, and *Entamoeba histolytica* cyst passage". *J Clin Microbiol.* Septiembre, 2005; 43(9): 4801-4806.
49. Babalola OE. "Ocular onchocerciasis: Current management and future prospects". *Clin Ophthalmol.* 2011; 5: 1479-1491.
50. Gómez-Priego A, Mendoza R, De la Rosa JL. "Prevalence of antibodies to *Onchocerca volvulus* in residents of Oaxaca, Mexico, treated for 10 years with ivermectin". *Clin Diagn Lab Immunol.* Enero, 2005; 12(1): 40-43.
51. Amagai M. "Autoimmune and infectious skin diseases that target desmogleins". *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2010; 86(5): 524-537.
52. Wiwanikit V. "A systematic metanalysis on diagnostic value of Dsg3 ELISA for pemphigus vulgaris". *Indian J Dermatol.* 2009; 54(2): 192.
53. Khandpur S, Sharma VK, Sharma A, Pathria G, Satyam A. "Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay test with immunoblot assay in the diagnosis of pemphigus in Indian patients". *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* Enero-febrero, 2010; 76(1): 27-32.
54. Khandpur S, Verma P. "Bullous pemphigoid". *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2011; 77: 450-455.
55. Csorba K, Schmidt S, Florea F, Ishii N, Hashimoto T, Hertl M et al. "Development of an ELISA for sensitive and specific detection of IgA autoantibodies against BP180 in pemphigoid diseases". *Orphanet J Rare Dis.* Mayo, 2011; 6: 31.
56. Lu PD, Ralston J, Kamino H, Stein JA. "Pemphigoid gestationis". *Dermatol Online J.* Noviembre 15, 2010; 16(11): 10.
57. Di Zenzo G, Calabresi V, Grossó F, Caproni M, Ruffelli M, Zambruno G. "The intracellular and extracellular domains of BP180 antigen comprise novel epitopes targeted by pemphigoid gestationis autoantibodies". *J Invest Dermatol.* Abril, 2007; 127(4): 864-873.
58. Barnadas MA, Rubiales MV, González MJ, Puig L, García P, Baselga E et al. "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect immunofluorescence testing in a bullous pemphigoid and pemphigoid gestationis". *Int J Dermatol.* Diciembre, 2008; 47(12): 1245-1249.
59. Herrero-González JE. "Guía clínica de diagnóstico y tratamiento de la dermatitis herpetiforme". *Actas Dermosifiliogr.* 2010; 101(10): 820-826.
60. Sárdy M, Kárpáti S, Péterfy F, Ráska K, Tomsits E, Zágoni T et al. "Comparison of a tissue transglutaminase ELISA with the endomysium antibody test in the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy". *Z Gastroenterol.* Mayo, 2000; 38(5): 357-364.
61. Chen M, Doostan A, Bandyopadhyay P, Remington J, Wang X, Hou Y et al. "The cartilage matrix protein subdomain of type VII collagen is pathogenic for epidermolysis bullosa acquisita". *Am J Pathol.* Enero, 2007; 170(6): 2009-2018.
62. Saleh MA, Ishii K, Kim YJ, Murakami A, Ishii N, Hashimoto T et al. "Development of NC1 and NC2 domains of type VII collagen ELISA for the diagnosis and analysis of the time course of epidermolysis bullosa acquisita patients". *J Dermatol Sci.* Enero, 2011; 62(3): 169-175.
63. Trevisin M, Pollock W, Dimech W, Melny J, Pasparalis B, Gillis D et al. "Antigen-specific ANCA ELISAs have different sensitivities for active and treated vasculitis and for nonvasculitic disease". *Am J Clin Pathol.* Enero, 2008; 129(1): 42-53.
64. Čsernok E, Holle J, Hellmich B, Willem J, Tervaert C, Kallenberg CG et al. "Evaluation of capture ELISA for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against proteinase 3 in Wegener's granulomatosis: First results from a multicentre study". *Rheumatology.* Febrero, 2004; 43(2): 174-180.
65. Satoh M, Vázquez-del Mercado M, Chan EK et al. "Clinical interpretation of antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases". *Mod Rheumatol.* 2009; 19(3): 219-228.
66. Akbarali Y, Matousek-Ronck J, Hunt L, Staudt L, Reichlin M, Guthridge JM et al. "Fine specificity mapping of autoantigens targeted by anti-centromere autoantibodies". *J Autoimmun.* 2006; 27(4): 272-280.
67. Richards TJ, Eggebeen A, Gibson K, Yousem S, Fuhrman C, Gochuico BR et al. "Characterization and peripheral blood biomarker assessment of Jo-1 antibody-positive interstitial lung disease". *Arthritis Rheum.* Julio, 2009; 60(7): 2183-2192.
68. Stone KB, Oddis CV, Fertig N, Katsumata Y, Lucas M, Vogt M et al. "Anti-Jo-1 antibody levels correlate with disease activity in idiopathic inflammatory myopathy". *Arthritis Rheum.* Septiembre, 2007; 56(9): 3125-3131.
69. Tarzi MD, Hickey A, Förster T, Mohammadi M, Longhurst HJ et al. "An evaluation of tests used for the diagnosis and monitoring of C1 inhibitor deficiency: Normal serum C4 does not exclude hereditary angio-oedema". *Clin Exp Immunol.* Septiembre, 2007; 149(3): 513-516.
70. Ríos JM, Ríos M. "Inmunogenética de la psoriasis y de la artritis psoriásica". *Rev Méd Cient.* 2010; 23(1): 32-40.
71. Ríos JM, Adames M, Yuil de Ríos E, Guevara Y. "Correlación entre seriedad clínica, TNF- α y resistencia a la insulina en la psoriasis". *Dermatología CMQ.* 2011; 9(4): 255-262.
72. Arican O, Aral M, Sasmaz S, Ciragil P et al. "Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity". *Mediators Inflamm.* Octubre 24, 2005; 2005(5): 273-279.