

## Banco de Sangre: Evaluación de kits diagnósticos

Gabriela C. Jaffré, Silvina M., Juan A. Rossi - Laboratorio Central Htal. Escuela "Eva Perón", Sec. Inmunoematología y Serología de Banco de Sangre

### Introducción

Existe una importante variedad de métodos para la detección de enfermedades transmisibles por vía sanguínea.

Debe garantizarse excelencia en la selección de donantes, y con ello la máxima seguridad transfusional, con la elección de aquellas técnicas que otorguen, entre otras no menos importantes características, la mayor sensibilidad sin desmedro significativo de su especificidad.

En nuestro país, al igual que en la mayor parte de América Central y Sudamérica, no es inmediatamente factible la aplicación de técnicas "directas" basadas en metodologías de biología molecular, por lo cual continúa siendo necesario la aplicación de las pruebas de screening con los test ELISA para aquellas patologías transmisibles de origen viral o parasitario y las pruebas de floculación y aglutinación para las de causa bacteriana. Por ello resulta indispensable el empleo de técnicas de nueva generación que, manteniendo las ventajas de las anteriores, continúen aportando otras como, por ejemplo, reducción en el período ventana, mayor practicidad, sencillez y reproducibilidad, capacidad de adaptación a sistemas automatizados, etc.

### Objetivos

Evaluar los equipos producidos por la Empresa Wiener lab. para la ejecución de las técnicas de screening destinadas a la detección de: Antígeno de Superficie del VHB (HBsAg), anticuerpos anti-HIV y anti-HCV en la población mencionada, especialmente su adaptación al tamizaje de muestras procedentes de donantes de sangre.

### Materiales y métodos

Los reactivos en estudio, se describen brevemente en la tabla. Todas las reacciones se realizaron en forma automatizada con el analizador BRIO (Radim S.P.A.) tal como se ejecutan en la rutina diaria del laboratorio.

Población analizada: a) donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Escuela Eva Perón (HEEP) y otros Servicios derivantes y pacientes de Consultorio Externo e Internación del HEEP; b) muestras positivas de seroteca.

### HBsAg

**Sensibilidad:** se analizaron 25 muestras positivas por ELISA. Tres de ellas presentaban relación de positividad (RP) intermedia y 2 de ellas RP baja. Definiéndose a RP como el cociente entre

la Absorbancia de la muestra positiva ( $Abs_{m(+)}$ ) y el Cut off (CO):

$$RP = Abs_{m(+)} / CO$$

**Sensibilidad (S):** razón entre los verdaderos positivos (vp) y la suma de los verdaderos positivos y falsos negativos (fn):

$$S = vp / vp + fn$$

Resultados: S = 100 %

**Especificidad:** se analizaron 160 muestras negativas, provenientes de donantes, procesadas previamente por la técnica de ELISA habitual.

**Especificidad (E):** cociente entre el nº de verdaderos negativos (vn) y la suma de verdaderos negativos y falsos positivos (fp):

$$E = vn / vn + fp$$

Resultados: las absorbancias de 159 muestras analizadas fueron inferiores al CO y una asumió una absorbancia ligeramente superior al valor de corte (0.248).

E = 99,4 %

### Prevalencia:

$$P = vp + fn / n$$

n = total de muestras analizadas.

Población analizada: 13,5 %

Población real acumulada: 0,37 %

### Valor predictivo positivo (VPP):

$$VPP = vp / vp + fp$$

VPP = 0.96 (96 %)

### Valor predictivo negativo (VPN):

$$VPN = vn / vn + fn$$

VPN = 1 (100 %)

El alto VPP obedece a la elevada prevalencia en la población analizada (25 muestras positivas de seroteca).

Considerando la prevalencia de nuestra población de Banco asumiría el valor de 37,2 %.

**Reproducibilidad:** se realizaron 4 ensayos diferentes, cada uno por cuatri-

plicado, de un control interno positivo de Absorbancia ligeramente superior al CO (muestra "border line" - RP baja):

Resultados:

**Coef. de variación porcentual interensayo** = CV% IrE = 6,1 %

**Coef. de variación porcentual intraensayo** = CV% IaE = 4,2 %

CV = DS x 100 / Abs promedio;

DS = desvío estándar.

## HCV

**Sensibilidad:** se analizaron 50 muestras positivas por ELISA. Su positividad también se comprobó por Aglutinación de partículas (AP; SERODIA). Cinco de ellas presentaban relación de positividad intermedia (RP) y 2 de ellas RP baja.  
S = 100 %

**Especificidad:** se analizaron 130 muestras negativas, provenientes de donantes, procesadas previamente por la técnica habitual de ELISA.  
E = 99,2 %

(CO = 0,235; 1 muestra con Abs 0.875)

### Prevalencia:

Población analizada: 27,8 %

Población de Banco: 0,43 %

### Valor predictivo positivo:

VPP = 0,98 (98 % - prevalencia alta)

VPP = 0,35 (35 % - baja prevalencia)

### Valor predictivo negativo:

VPN = 1 (100 %)

### Reproducibilidad:

CV% IrE = 7,0 %

CV% IaE = 3,2 %

## HIV

**Sensibilidad:** se analizaron 50 muestras positivas por ELISA, todas ellas confirmadas por Western blot. Tres de ellas presentaban RP intermedia y una de ellas RP baja.  
S = 100 %

**Especificidad:** se analizaron 110 muestras negativas, provenientes de donantes, procesadas previamente por la técnica habitual de ELISA.  
E = 98.2 %

(CO = 0.248; 2 muestras con Abs 0.795 y 0.885 respectivamente)

### Prevalencia:

Población estudiada: 31,25 %

Población de Banco: 0,06 %

### Valor predictivo positivo:

VPP = 0.96 (96 % - alta prevalencia).

VPP = 0.033 (3.33 % - baja prevalencia).

### Valor predictivo negativo:

VPN = 1 (100 %)

### Reproducibilidad:

CV% IrE = 5,9 %

CV% IaE = 3,0 %

## Resultados finales, conclusiones y discusión

El análisis de los resultados anteriores arroja como firme conclusión que los equipos de ELISA para HBsAg, HCV y HIV de marca Wiener lab. son totalmente aptos para su utilización en el screening de Banco de Sangre ya que presentan sensibilidad óptima y especificidad adecuada.

Adicionalmente se indagó la reproducibilidad de resultados de cada kit analizando reiteradamente varias muestras, tanto positivas como negativas, no obteniéndose resultados discrepantes en ningún caso. De igual modo la correspondencia y concordancia de resultados con los métodos con que nuestro laboratorio actualmente procesa la Serología de Banco fueron excelentes.

La adaptación al autoanalizador utilizado fue óptima tanto comparada con los equipos habituales en el instrumental como con el procesamiento manual.

## Bibliografía

- Margni, R. - Inmunología e Inmunológica, 5ª Edición, Editorial Panamericana 1996.
- OPS; Manual de Procedimientos de control de calidad para los Laboratorios de Serología de los Bancos de Sangre, 1994.

Kit	Hepatitis B (anti-HBsAg) ELISA	Hepatitis C (anti-HCV) ELISA	HIV test ELISA
<b>Método</b>	Ensayo inmunoenzimático ELISA 3ª generación	Ensayo inmunoenzimático ELISA 3ª generación	Ensayo inmunoenzimático ELISA para la detección de anticuerpos contra los virus de la inmunodeficiencia humana HIV-1 y HIV-2
<b>Soporte</b>	Pocillos sensibilizados con anticuerpos monoclonales anti-HBs	Pocillos sensibilizados con una mezcla de antígenos sintéticos y recombinantes de secuencias estructurales (core) y no estructurales (NS3, NS4, NS5) del HCV	Pocillos sensibilizados con una mezcla de antígenos sintéticos representativos de ambos tipos virales
<b>Conjugado</b>	Anticuerpos monoclonales anti-HBsAg-peroxidasa	Anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas en cabra-peroxidasa	Anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas en cabra-peroxidasa
<b>Revelador</b>	Peróxido de hidrógeno / tetrametilbencidina (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - TMB)	Peróxido de hidrógeno / tetrametilbencidina (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - TMB)	Peróxido de hidrógeno / tetrametilbencidina (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - TMB)
<b>Muestra</b>	100 ul suero o plasma sin dilución	10 ul suero o plasma Se procesa en una dilución 1/20 al igual que los correspondientes controles	10 ul suero o plasma Se procesa en una dilución 1/20 al igual que los correspondientes controles
<b>Temperatura</b>	37°C y temperatura ambiente	37°C y temperatura ambiente	37°C y temperatura ambiente
<b>Tiempo total de reacción</b>	2 horas 30 minutos	1 hora 30 minutos	1 hora 30 minutos

# Colesterol y lipoproteínas: actualización

## Parte II

*Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults*

### Prevención primaria

La prevención primaria ofrece la posibilidad de reducir la incidencia de la enfermedad coronaria. Este tipo de prevención está basado en cambios en el estilo de vida: 1) disminución en la ingesta de grasas saturadas y colesterol, 2) aumento de la actividad física y 3) control de peso, todo ello, a fin de disminuir los niveles de colesterol de la población.

Una meta para la prevención primaria es la reducción de los riesgos en el largo plazo (> 10 años) así como en el corto plazo (≤ a 10 años).

Los cambios de vida de efecto terapéutico son la base de la prevención clínica primaria, aunque si los factores de riesgo son significativos se hace necesaria una terapia con drogas.

Antes del comienzo de una terapia con drogas hipolipemiantes, el paciente con LDL colesterol elevado o cualquier otra forma de hiperlipidemia debe someterse a estudios clínicos y de laboratorio a fin de descartar dislipidemias secundarias. Las causas de dislipidemias secundarias incluyen:

- diabetes
- hipotiroidismo
- obstrucción hepática
- enfermedad renal crónica
- drogas que inducen el aumento de LDL colesterol y la disminución de HDL colesterol como son los progestágenos, anabólicos esteroides y corticosteroides.

Una vez que las causas secundarias fue-

ron descartadas o bien tratadas si correspondiera, se pueden establecer los objetivos de la terapia de disminución de LDL colesterol de acuerdo a los factores de riesgo propios de cada individuo.

### Prevención secundaria

#### Terapia de disminución de LDL colesterol

Los recientes estudios clínicos demuestran que la terapia para disminución de LDL colesterol reduce la mortalidad, eventos coronarios mayores y ataque cardíaco en personas con enfermedad coronaria establecida. Como se mostró en la tabla 2 (NotiWiener 115 - pág 3) el nivel óptimo de LDL colesterol es de 100 mg/dl, por lo cual, el Panel de Expertos recomienda este valor como objetivo de una terapia secundaria de prevención.

Este objetivo está respaldado por estudios epidemiológicos prospectivos, con datos clínicos y angiográficos. Cuando un individuo es hospitalizado por síndrome coronario agudo debe efectuarse una determinación de lípidos en el momento de la admisión o dentro de las 24 horas.

Estos datos servirán como guía al profesional para indicar el inicio de una terapia de reducción de LDL colesterol antes del alta. Se necesitará un ajuste de esta terapia 12 semanas más tarde.

#### Terapia de disminución de LDL colesterol en las 3 categorías de riesgo

El tipo de terapia a implementar varía según la condición del paciente, es decir de los factores de riesgo que interviengan en su estado.

*ECC o condiciones de riesgo equivalente:*

Para personas con enfermedad cardíaca coronaria o con múltiples factores de riesgo, la terapia de disminución del LDL colesterol reduce el riesgo de eventos agudos o ataques cardíacos.

Si el LDL colesterol de base es mayor o igual a 130 mg/dl, debe iniciarse activamente la prevención por medio de

un cambio en los hábitos de vida. Pero además, para la mayoría de los pacientes deberán agregarse drogas hipolipemiantes.

Si el LDL colesterol se encuentra entre 100 y 129 mg/dl, podrán combinarse los dos tipos de terapia dependiendo de los factores de riesgo involucrados. Cuando el LDL colesterol se encuentra por debajo de los 100 mg/dl no se necesita implementar terapia alguna, aunque conviene aconsejar acerca de la conveniencia de una dieta sana para mantener óptimos los niveles de LDL colesterol.

*Más de dos factores de riesgo y riesgo a largo plazo menor o igual a 20%:*

Para individuos en estas condiciones, la intensificación de la terapia se ajustará de acuerdo a lo siguiente:

- Múltiples (2 o más) factores de riesgo y riesgo a largo plazo entre 10 y 20 %: el objetivo en esta categoría es un LDL colesterol menor de 130 mg/dl. Si inicialmente esta concentración supera los 130 mg/dl, se hace necesario implementar una terapia primaria durante tres meses, en principio sin drogas y si la situación no cambia se considerará la administración de hipolipemiantes.
- Si se trata de dos factores de riesgo pero el factor de riesgo a largo plazo es menor del 10% se considerará la terapia con hipolipemiantes sólo cuando el LDL colesterol supere los 160 mg/dl.

*Factores de riesgo 0-1:*

La mayoría de las personas con factores de riesgo 0-1 tienen riesgo a largo plazo menores al 10%. Por lo tanto el valor deseable de LDL colesterol es menor de 160 mg/dl.

Cuando el LDL colesterol se encuentre entre 160 y 189 mg/dl se considerará una terapia con drogas cuando exista un único factor de riesgo de gran severidad (fumadores intensos, HDL colesterol sumamente bajo, historia familiar de enfermedad coronaria).

Si en esta categoría el LDL es mayor o igual a 190 mg/dl, debe iniciarse una terapia con drogas con el propósito de evitar el desarrollo de aterosclerosis coronaria, disminuyendo el riesgo a largo plazo.

Clase de droga	Efecto sobre lípido / lipoproteínas	Efectos colaterales	Contraindicaciones	Resultados clínicos
Inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas)	LDL ↓ 18 - 55% HDL ↑ 5 - 15% TG ↓ 7 - 30%	Miopatías ↑ Enzimas hepáticas	<b>Absoluta:</b> enfermedad hepática activa o crónica <b>Relativa:</b> uso concomitante de otras drogas como ciclosporina y algunos antibióticos antifúngicos	Reducción de eventos coronarios mayores, ataque cardíaco y mortalidad
Secuestrantes de ácidos biliares	LDL ↓ 15 - 30% HDL ↑ 3 - 5% TG sin cambio	Distress gastrointestinal, disminución en la absorción de otros medicamentos	<b>Absoluta:</b> disbetalipoproteinemia TG > 400 mg/dl <b>Relativa:</b> TG > 200 mg/dl	Reducción de eventos coronarios mayores y muerte por enfermedad cardíaca coronaria
Acido nicotínico	LDL ↓ 5 - 25% HDL ↑ 15 - 35% TG ↓ 20 - 50%	Hiperglicemia Hiperuricemia Distress gastrointestinal Hepatotoxicidad	<b>Absoluta:</b> enfermedad crónica hepática <b>Relativa:</b> diabetes, hiperuricemia, úlcera péptica	Reducción de eventos coronarios mayores y posiblemente mortalidad total
Acidos fíbricos (gemfibrozil, fenofibrate, clorofibrate)	LDL ↓ 5 - 25% HDL ↑ 15 - 35% TG ↓ 20 - 50%	Dispepsia cálculos biliares miopatías	<b>Absoluta:</b> enfermedades hepática y renal severas	Reducción de eventos coronarios mayores

## Drogas hipolipemiantes

La porción de la población que a corto o largo plazo muestra riesgos de contraer enfermedad cardíaca coronaria, como ya se dijo necesitará suplementar la terapia preventiva con medicamentos hipolipemiantes. Si bien algu-

nos pocos son de venta libre, la mayoría de ellos se venden sólo bajo receta y requieren un seguimiento de diversos parámetros bioquímicos a fin de monitorear los efectos colaterales de los mismos.

Las drogas de este tipo actualmente accesibles se muestran en la tabla. Tam-

bién pueden observarse en la misma, los efectos colaterales que caracterizan a cada una de ellas.

## Referencias

- JAMA - 285/19:2486-2497, 2001



## Agenda de Congresos

### ✓ AACC Anual Meeting 2002

Se llevará a cabo en Orlando, Florida, USA, entre el 28 de Julio y el 1° de Agosto de 2002.

El encuentro estará organizado conjuntamente con la American Society for Clinical Laboratory Science, American Society for Clinical Pathology y la International Association of Medical Laboratory Technologists.

Lo invitamos cordialmente a visitar nuestro stand.

Informes: <http://www.aacc.org>

### ✓ MEDICA 2002

Se llevará a cabo en Düsseldorf, Alemania, entre el 20 y el 23 de Noviembre de 2002, la Feria Internacional y Congreso MEDICA en la que se expondrán los avances en tecnología hospitalaria.

Organizan

. Deutsche Gesellschaft zur Förderung der medizinischen Diagnostik e.V.

. Gessellschaft Deutscher Krankenhaustag mbH (GDK)

Informes: [www.medica.de](http://www.medica.de)