

El presente estudio tiene por objetivo evaluar el desempeño del kit Chagatest ELISA recombinante v.3.0 (Wiener lab.), frente a paneles de sueros y muestras provenientes de la rutina de selección serológica de un servicio de hemoterapia.

Se realizó un análisis de reproducibilidad del kit con controles negativos y positivos. Con los resultados encontrados fue posible evaluar sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo.

Sáez-Alquézar A., Marques W., Botini M.B. - PANEL, Assessoria e Controle de qualidade, Laboratório Hemo-Life

## Materiales

### Producto en ensayo

**C**hagatest ELISA recombinante v.3.0 es un ensayo inmunoenzimático basado en el principio "sandwich" para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* en suero o plasma humano.

### Equipamiento y procedimientos utilizados

Para la realización de las pruebas fue utilizado el siguiente equipamiento:

Incubadora: Commander

Incubadora 5000: Organon Teknika

Lavadora: Tecan

Lavadora Washer 430: Microwell System

Lectora: Spectra mod Classic (Tecan)

Lectora/Reader 230 S: Microwell System

Plataforma para agitación

Se utilizó el procedimiento indicado en el manual de instrucciones del kit.

### Determinación de Reproducibilidad

Se ensayaron los sueros controles ne-

gativo y positivo del kit y los sueros controles internos negativo y positivo producidos por Panel.

### Sueros controles del kit

Se realizaron 10 determinaciones del suero control negativo y 10 determinaciones del suero control positivo del kit, cálculo de la Media (M), Desvío Standard (D.S.) y Coeficiente de Variación (C.V.), de la relación densidad óptica/cut off (DO/CO) según Tabla 1.

### Sueros controles internos

Se realizaron 10 determinaciones de un suero control interno negativo y 10 determinaciones de un suero control positivo, cálculo de la Media (M), Desvío Standard (D.S.) y Coeficiente de Variación (C.V.), de DO/CO, según Tabla 1.

### Paneles de sueros

Se utilizaron 112 muestras de sueros previamente caracterizados respecto a

## EVALUACION DE UN KIT ELISA PARA DETECCION DE ENFERMEDAD DE CHAGAS

su reactividad hacia las pruebas obligatorias en la selección serológica de donantes de sangre, divididas en 3 paneles de sueros con muestras negativas, heterólogas y positivas.

### a) Panel de sueros negativos para anti-*T. cruzi*:

Se analizaron 30 muestras de sueros negativos para todos los parámetros de uso obligatorio en la selección serológicas de donantes de sangre.

Con el kit Chagatest ELISA recombinante v.3.0 (Wiener lab.), todas las muestras presentaron resultados no reactivos (relación DO/CO < 1,0).

### b) Panel de sueros heterólogos para anti-*T. cruzi*:

Se analizaron 45 muestras de sueros negativos para anti-*T. cruzi* y positivas para algunos de los demás parámetros de uso obligatorio en la selección de donantes de sangre (anti-HIV, anti-HTLV, HBsAg, anti-HBc, anti-HCV, sífilis y leishmania).

**Tabla 1:** estudio de reproducibilidad en sueros control

	Controles del kit en ensayo		Controles internos	
	Positivo (DO/CO)	Negativo (DO/CO)	Positivo (DO/CO)	Negativo (DO/CO)
Media	10,6	0,012	5,1	0,007
Desviación Standard	0,9309	0,0063	0,4150	0,0038
Coefficiente de Variación	8,8	51,0	8,2	57,7

Distribución de las muestras en el panel de sueros heterólogos para anti-*T. cruzi*:

6 muestras positivas para sífilis, 6 muestras positivas para HIV, 6 muestras positivas para HTLV, 6 muestras positivas para anti-HCV, 4 muestras positivas para HBsAg y anti-HBc, 4 muestras positivas para anti-HBc, 3 muestras positivas para leishmania.

Con el kit en ensayo, todas las muestras presentaron resultados no reactivos (relación DO/CO < 1,0).

La distribución de los valores de la relación DO/CO en el panel de sueros negativos y heterólogos se observan en el Gráfico I.

c) Panel de sueros positivos para anti-*T. cruzi*:

Se analizaron 47 muestras de sueros positivos para anti-*T. cruzi*.

Con el kit Chagatest ELISA recombinante v.3.0 (Wiener lab.) todas las muestras presentaron resultados reactivos (relación DO/CO > 1,0).

### Determinación de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo

El kit en ensayo se evaluó en paralelo con un kit comercial de metodología similar tomado como referencia al que se denominó "Kit A".

Para el análisis se utilizaron muestras de una rutina de selección serológica de donantes de sangre. Las pruebas se realizaron a lo largo de 18 días.

Todas las muestras que presentaron

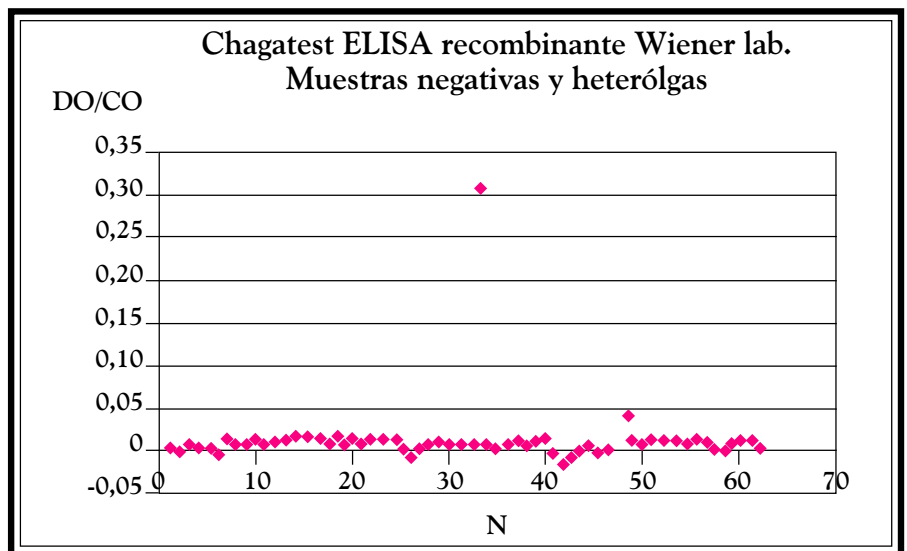
do 5 con el kit "A" y 13 con el kit en ensayo.

Estas 14 muestras repetidamente reactivas fueron sometidas a un ensayo complementario de Western blot, dando como resultado, 4 muestras positivas.

De las 2302 muestras analizadas con el kit en ensayo se observaron 19 (0,83%) resultados inicialmente reactivos (RIR).

En la repetición de estas muestras, 13 (0,56%) fueron repetidamente reactivas con el kit en ensayo.

**Gráfico I**



reactividad para cualquiera de los dos kits anti-*T. cruzi* empleados, se repitieron por duplicado.

Todas las muestras repetidamente reactivas para cada uno de los kits anti-*T. cruzi* empleados, se sometieron a pruebas complementarias de Western blot. El total de muestras ensayadas por ambos métodos fue de 2302.

### Análisis de resultados

Durante la evaluación en paralelo en la rutina de selección serológica de donantes de sangre, se observaron 19 resultados reactivos en el kit en ensayo.

Todas las muestras que presentaron reactividad para cada uno de los kits utilizados, fueron repetidas, observándose 14 con resultados repetidamente reactivos (RRR) para ambos kits, sien-

### Conclusiones

De acuerdo con la evaluación del kit Chagatest ELISA recombinante v.3.0 (Wiener lab.):

El coeficiente de variación (C.V.) en 10 determinaciones sucesivas y dos controles del kit (negativo y positivo) fueron, respectivamente 51,0% y 8,8%.

El coeficiente de variación (C.V.) en 10 determinaciones sucesivas y dos sueros controles internos MASTER (negativo y positivo) fueron, respectivamente 57,7% y 8,2%.

Los coeficientes de variación observados para los sueros controles positivos muestran un bajo índice de dispersión. Los coeficientes de variación observados para los sueros controles negativos, también muestran un bajo índice de

**Tabla 2:** determinación de sensibilidad y especificidad de Chagatest ELISA recombinante v.3.0

		Wiener lab		
		positivo	negativo	total
Kit «A»	positivo	4	0	4
	negativo	9	2289	2298
	total	13	2289	2302

dispersión, considerándose aceptables dadas las muy bajas absorbancias obtenidas.

Todos los resultados obtenidos con paneles de muestras negativas y heterólogas fueron no reactivos, con relación DO/CO < 1 (Tabla 1 - Gráfico I).

Los resultados obtenidos con los paneles de muestras positivas mostraron 100% de sensibilidad, con relación DO/CO > 1 (Tabla 1).

En la utilización de Chagatest ELISA recombinante 3.0 (Wiener lab.) en un total de 2302 muestras en paralelo, en una rutina serológica podemos verificar la presencia de 0,83% de RIR y de 0,56% de RRR.

Del total de muestras RRR (13), 4 fueron confirmadas como positivas para anti-T. cruzi por el método TESA Cruzi (Western blot).

De esta forma podemos considerar que 9 muestras corresponden a resultados falsos positivos (0,39%).

La Tabla 2 muestra el total de muestras verdaderamente positivas (4), verdaderamente negativas (2289) y el número de resultados falsos positivos observados (9) por el método de Wiener lab.

Con los datos obtenidos, se realizó el cálculo para determinar la sensibilidad y la especificidad de la prueba, indicadas en la Tabla 3.

**Tabla 3:**

Kit	Sensibilidad	Especificidad
Chagatest ELISA recombinante v.3.0	100%	99,61%



### Agenda de Congresos

✓ **II Jornadas Internacionales de Medicina Transfusional**

Se llevará a cabo en el Hotel Cesar Carman (ACA), Av. Sabatini s/n, Córdoba, del 7 al 9 de Octubre de 2004

Organiza  
Asociación de Medicina Transfusional de la Provincia de Córdoba

Informes  
0351-451-9887  
medtransfusionalcba@arnet.com.ar

✓ **XV Jornadas Bioquímicas del NOA**

Se llevará a cabo en Taquí del Valle, Tucumán, del 7 al 9 de Octubre de 2004

Organiza  
Colegio Bioquímico de Tucumán

Informes  
TE: 0381-4330805  
colbioquimicos@arnet.com.ar

✓ **66° Congreso Argentino de Bioquímica «Endocrinología, Diabetes y Fertilidad»  
XXVIII Jornadas de la Enseñanza y del Ejercicio de la Bioquímica**

Se llevará a cabo en Buenos Aires, del 12 al 15 de Octubre de 2004

Organiza  
Asociación Bioquímica Argentina

Informes  
info@aba-online.org.ar



## Evaluación de un test ELISA para el diagnóstico de Sífilis

Roselli G., Martínez D., Musto A., Bajcar S., Desimone I., Cimalandro L.  
Servicio de Laboratorio del Hospital Interzonal General de Agudos Evita.  
Lanús. Buenos Aires. Argentina.

La sífilis es una enfermedad infecciosa aguda o crónica cuyo agente causal es el *Treponema pallidum*. Es un microorganismo móvil, que dada sus dimensiones, se encuentra en el límite de resolución óptica de los microscopios convencionales; por lo que no es posible visualizarlo mediante tinciones normales. Por ello el diagnóstico indirecto mediante pruebas serológicas cobra importancia. Las pruebas serológicas pueden clasificarse en no treponémicas y treponémicas dependiendo del antígeno que se utilice. Dado que las primeras no son pruebas específicas, debemos confirmar las mismas con las pruebas treponémicas. Dentro de estas últimas se incluyen la FTA-Abs (Inmunofluorescencia con suero previamente absorbido) y TP-PA (aglutinación de partículas), que son las utilizadas más frecuentemente.

### Objetivo

Evaluar si el enzimoimmunoensayo (ELISA) para *Treponema pallidum* puede reemplazar a la TP-PA en la detección de anticuerpos anti-treponémicos. Calcular la sensibilidad y especificidad del método ELISA empleando como método de referencia la TP-PA.

### Materiales y Métodos

Se estudiaron 38 sueros provenientes de pacientes de los servicios de der-

El diagnóstico de sífilis en estos últimos tiempos, ha cobrado mayor importancia debido a que ha aumentado la incidencia a nivel mundial. La sífilis produce 40% de mortalidad en el período fetal y perinatal, la prevalencia en la mujer embarazada puede considerarse una aproximación de lo que ocurre en la población general.

Aplicando la prueba de Mc Nemar se obtuvo una significancia de 0.625.

### Conclusiones

Con los datos obtenidos para sensibilidad, especificidad y los resultados de la prueba de significancia de Mc Nemar se concluye que se puede utilizar la técnica ELISA en reemplazo de la TP-PA. Esto nos brinda la ventaja de tener una prueba confirmatoria de sencilla implementación.

### Bibliografía

- Guidelines for the Prevention and Control of Congenital Syphilis - MMWR 37(S-1);1-13, 1988.
- Castro R, Prieto E, Santo I, Azevedo J, Exposto F. - Guidelines for evaluation and acceptance of new syphilis serology test for routine use. MMWR, 1977.
- Luger A, Smidt BL, Steyreer K, Wider G. - Screening for syphilis with the AMHA-TP test. - Eur J Sex Trans Dis 1982; 1:25-27.
- Larsen SA. - A manual of test for syphilis. American Public Health Association. Washington DC, 1990.
- Larsen S, Steiner B, Rudolf A. - Laboratory diagnosis and test for syphilis. Clin Microbiol Rev 1995; 8:1-21.

matología y maternidad, todos ellos con prueba de TP-PA positiva. Como controles se utilizaron 87 sueros de pacientes de maternidad y de donantes de hemoterapia, todos ellos con TP-PA y USR no reactiva. Como prueba treponémica confirmatoria se utilizó la TP-PA (Serodia). El enzimoimmunoensayo a utilizar es de tipo recombinante (Wiener lab.).

### Resultados

Se compararon las dos técnicas, TP-PA como referencia y el ELISA (Tabla), encontrándose una sensibilidad del 97% y una especificidad del 98%.

		TP-PA		
		positivo	negativo	total
ELISA	positivo	37	1	38
	negativo	1	86	87
	total	38	87	125